الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Réf :……

Centre Universitaire de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie **Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Biologie
Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement

Thème :

Étude de l'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus* isolé à l'Hôpital de Mila

Préparé par :
Yamina BOUNAMOUS
Nardjiss BOUSBAA
Wafa OMAROUAYACHE

Soutenue devant le jury :

Président:	Said SIDANI	M.A.A
Examinateur:	Sawsen HADEF	M.A.B
Promoteur:	Abdelhafid BOUBENDIR	M.C.B

Année universitaire : 2013/2014

Dédicaces

A Maman, à Papa

Pour tout l'amour que vous m'avez donné

Vous restez à jamais dans mon cœur.

Vous m'avez donné les moyens d'en arriver là

Mais vous êtes partis avant d'en récolter le fruit

Je souhaite que le résultat vous plaise

A mes frères et sœur : Hossam, Kadiro, abed assatar, yasmina

A toute ma famille.

A tous mes amis.

A Monsieur Abdelhafid BOUBENDIR pour avoir accepté de m'encadrer et me diriger. Je le remercie également pour ces précieux conseils, son grand sens d'humanisme, sa grande générosité et sa grande volonté à me suivre le long de ce travail.

A Mlle Sawsen HADEF pour leur contribution à une réelle coopérationet tout les enseignants du Centre Universitaire de Mila.

WAFA

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

A la mémoire de mon père et ma mère pour l'éducation qu'elle nous a donnée et ses encouragements.

A mes frères et soeurs: Amira, Aida, Ramdan, Saida, Kamel et Ibtissam.

A toute ma famille et ma belle famille

A tous mes amis.

Dédicace Spéciale :

A môns Maîtres, MARMOUL Mouhamed Elsaleh et Docteur, BOUBENDIR Abdelhafid et Maitre Assistant, HADEF Sawsen.

Je dis à tous :

«Le difficile est ce qui peut être fait tous de suite, l'impossible est se qui demande un peu plus de temps»

Yamina

Dédicaces

Je dédie ce travail à:

A mon père, ma mère et mon marie.

A ma grand-mère et mon grand-père.

A mes frères et sœurs

A mes filles : Ilyes, Kanza, Amira, Amina, Maysa, Afaf, Imane, Sayf

A toute ma famille.

A tous mes amis.

Je dis à tous:

«Le difficile est ce qui peut être fait tous de suite, l'impossible est se qui demande un peu plus de temps»

Nardjis

Remerciements

Je remercie, en premier lieu, le grand Dieu pour m'avoir donné la force et la résolution pour réaliser ce travail.

Je remercie vivement :

***Monsieur BOUBENDIR Abdelhafid Docteur Microbiologiste au Département des Sciences de la Nature et de la Vie au Centre Universitaire de Mila, pour avoir accepté de nous encadrer et nous diriger. Nous le remercie également pour ces précieux conseils, son grand sens d'humanisme, sa grande générosité et sa grande volonté à nous suivre le long de ce travail.**

*** Monsieur Said SIDANI** Maitre Assistant, enseignant au Département des Sciences de la Nature et de la Vie au Centre Universitaire de Mila. Pour avoir accepté de présider le jury et pour avoir beaucoup consacré de son précieux temps.

*Mlle Sawsen HADEF Maitre Assistante, enseignante au Département des Sciences de la Nature et de la Vie au Centre Universitaire de Mila. Pour avoir accepté d'Examiner ce travail.

Liste des Figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	Aspect morphologique de la souche de *Staphylococcus aureus*	6
Figure 2	Facteurs de virulence exprimés à la surface ou excrétés par *S. aureus* en fonction de la densité bactérienne	12
Figure 3	Implication de *S. aureus* en pathologie humaine	14
Figure 4	Introduction, utilisation des antibiotiques et acquisition des résistances *par S. aureus*	20
Figure 5	Mécanismes de la synthèse de β-lactamase staphylococcique en présence de l'antibiotique β-lactamine	20
Figure 6	SCC*mec* de SARM	23
Figure 7	Protocole de recherche de *Staphylococcus spp.* dans les produits pathologiques utilisés dans l'Hôpital de Mila.	33
Figure 8	Aspect des colonies de *S. aureus* sur les milieux de culture.	36
Figure 9	Application des disques d'antibiotiques	41
Figure 10	Incidence des prélèvements selon les résultats des cultures bactériennes	45
Figure 11	Incidence d'isolement de *S. aureus* par rapport aux *Staphylococcus spp.* à coagulase négative	46
Figure 12	Incidence de *S. aureus* selon l'âge	48
Figure 13	Incidence de *S. aureus* selon le sexe dans l'Hôpital de Mila.	49
Figure 14	Incidence de *S. aureus* selon la nature du prélèvement dans l'hôpital de Mila	50
Figure 15	Incidence de SARM selon la nature du prélèvement dans l'hôpital de Mila	52
Figure 16	Incidence de *S. aureus* selon les services hospitaliers à l'hôpital de Mila	53
Figure 17	Incidence de SARM selon les services hospitaliers	54
Figure 18	Pourcentage de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* à l'hôpital de Mila	55
Figure 19	Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de SARM par ACP à l'hôpital de Mila (Algérie).	62

Liste des Tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Classification phylogénique des *S. aureus.*	4
Tableau 2	Présentation des espèces qui constituent le genre *Staphylococcus.*	5
Tableau 3	Les caractères bactériologiques de *Staphylococcus aureus.*	6
Tableau 4	Caractères enzymatiques et biochimiques distinctifs de *S. aureus*	8
Tableau 5	Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus.*	10
Tableau 6	Classes et molécules anti-staphylococciques.	17
Tableau 7	Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux Aminosides.	24
Tableau 8	Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux Macrolides et apparentés de *S. aureus.*	26
Tableau 9	Mécanismes de la résistance de *S. aureus* aux antibiotiques.	28
Tableau 10	Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques.	29
Tableau 11	Les matériels et réactifs utilisée dans le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Mila.	30
Tableau 12	les caractéristiques macroscopiques des colonies de *S. aureus* dans les milieux de culture.	35
Tableau 13	Identification de *S. aureus* résistant à la Méthicilline	41
Tableau 14	Résultats des cultures bactériennes.	44
Tableau 15	Incidence totale de *Staphylococcus spp.* isolée dans l'hôpital de Mila.	46
Tableau 16	Incidence d'isolement de *S. aureus.*	47
Tableau 17	Incidence de *S. aureus* selon l'âge.	47
Tableau 18	Incidence de *S. aureus* selon la nature du prélèvement dans l'hôpital de Mila.	50
Tableau 19	Incidence de SARM et SASM selon la nature du prélèvement dans l'hôpital de Mila.	51
Tableau 20	Incidence de *S. aureus* selon les services hospitaliers.	52
Tableau 21	Incidence de SARM selon les services hospitaliers.	54
Tableau 22	Incidence de résistance des SARM dans l'hôpital de Mila.	56
Tableau 23	Matrice des corrélations, Pearson (n)	60
Tableau 24	Les valeurs propres et variation (%) exprimées par les composantes principales.	61
Tableau 25	Corrélation des souches avec les axes 1 et 2	62

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

Van : gène de résistance à la vancomycine

(-): négative

(+): positive

ACP : Analyse en Composantes Principales

***Agr** : accessory gene regulator*

C: chromosome

***CLSI: Clinical** Laboratory Standard institute*

COAG: Coagulase

DNase : désoxyribonucléase

E: Erythromycine

Eap: protéine d'adhésion extracellulaire

Efb: protéine de liaison au fibrinogène extracellulaire

EM : Ecoulement Mammaire

Emp: protéine de liaison à la matrice extracellulaire

ETA: *exfoliative toxin A*

ETB: *exfoliative toxin B*

FOS : Fosfomycine

G : Gorge

GISA : sensibilité diminuée aux Glycopeptides

Gm: Gentamicine

GN : Gélose Nutritive

I : Intermédiaire

Ig : immunoglobulines

LCR : Liquide Céphalo-rachidien

LPV : La Toxine de Panton et Valentine

MLS : Macrolides, Lincosamides et Streptogramines

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standard

OX: Oxacilline

P : Pus

PA : Ponction d'Ascite

bla Z : gène de résistance aux ß-lactamines.

PL : ponction lombaire

Pl : plasmide

PLP : protéines liant la pénicilline

QRDR : quinolone région de la résistance à déterminer

R : Résistant

S : Sensible

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SARM: *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SASM: *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline

SCC*mec* : Staphylococcal Chromosomal Cassette méthicilline

SCN : Staphylocoques a coagulase négative

Tn: transposon

TSST-1: *toxic shock syndrome toxin-1*

VA: Vancomycine

B-lactamases : bêta-lactamines

Sommaire

Partie I: Etude bibliographique

Introduction…….……..…….. 1

1. Généralités sur le genre *Staphylococcus*……..……. 3

1.1. Historique ……. 3

1.2. Habitat ……..... 4

1.3. Taxonomie ……... 4

2. L'espèce *Staphylococcus aureus* …… 5

2.1. Caractères bactériologiques…….. 5

2.2. Caractères culturaux ……. 7

2.3. Caractères biochimiques ……. 7

2.4. Facteurs de risque des infections à *S. aureus*……...…… 8

2.5. Pouvoir pathogène……..…….. 9

2.5.1. Facteurs de virulence de *S. aureus*……...…… 9

2.5.1.1. La capsule et la paroi des staphylocoques……..... 11

2.5.1.2. Les protéines d'adhésion exprimées par *S. aureus*……... 11

2.5.1.3. Invasion intracellulaire des cellules de l'hôte…….…..... 11

2.5.1.4. Lyse cellulaire et envahissement tissulaire……..…..… 12

2.5.1.5. Dissémination dans l'organisme……...…. 13

2.5.1.6. Les exotoxines super-antigéniques staphylococciques……..….. 13

2.5.2. Infections staphylococciques…… 14

2.5.2.1. Infections suppuratives superficielles et profondes……...…... 15

2.5.2.2. Infections toxiques……. 16

2.5.2.3. Infections nosocomiales…… 16

2.6. Traitement des infections à *S. aureus*……. 16

3. Notions et mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques de l'espèce *S. aureus*…… 18

3.1. Génome……. 18

3.2. Support génétique de la virulence……..….. 18

3.3. Support génétique de la résistance aux antibiotiques de *S. aureus* ……..... 19

3.3.1. Résistance au bêta-lactamines……..……...…….. 20

3.3.1.1. Résistance à la pénicilline……...…. 21

3.3.1.2. Résistance à la méthicilline…..... 21

3.3.2. Résistances aux glycopeptides……. 23
3.3.3. Résistance aux Aminoglycosides…….. 23
3.3.4. Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS)…… 24
3.3.5. Résistance aux Fluoroquinolones..... 26
3.3.6. Autres antibiotiques……..…….. 27
3.4. Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques……..…... 29

Partie II: Etude Expérimentale

1. Matériel et Méthodes…….. 30
1.1. Matériel …… 30
1.1.1. Matériels biologiques……. 30
1.2. Méthodes……... 31
1.2.1. Isolement et purification de cultures……... 34
1.2.1.1. Milieux d'isolement …….. 34
1.2.1.2. Milieux d enrichissement …….. 34
1.2.1.3. Isolement ……..... 35
1.2.2. Caractéristiques des colonies ……... 35
1.2.2.1. Aspect macroscopique……..……. 35
1.2.2.2. Aspect microscopique……..…….. 36
1.2.3. Purification et conservation des souches isolées …….. 37
1.2.4. Identification…….. 37
1.2.4.1. Pré-identification …… 38
1.2.4.2. Confirmation des souches de *Staphylococcus aureus*……... 38
1.2.5. L'antibiogramme ……..... 39
1.2.5.1. Les antibiotiques testés……..……. 40
1.2.5.2. Application des disques d'antibiotiques …….……. 40
1.2.6. Identification de *S. aureus* résistant à la Méthicilline…..…… 41
1.2.7. Recherche de la β- lactamase ……..…… 43
2. Résultats et Discussion…… 44
2.1. Prélèvements…..……. 44
2.2. Résultats des cultures bactériennes……..…… 44
2.3. Incidence totale de *Staphylococcus spp*..... 45

2.4. Identification de l'espèce *S. aureus*……..……..……. 46
2.5. Incidence de *S. aureus* selon l'âge, le sexe, la nature de prélèvement et les services…..…….. 47
2.5.1. Incidence de *S. aureus* selon l'âge..…….. 47
2.5.2. Incidence de *S. aureus* selon le sexe…… 48
2.5.3. Incidence de *S. aureus* selon la nature du prélèvement ……... 49
2.5.3.1. Incidence de SARM selon la nature du prélèvement…….…… 50
2.5.4. Incidence de *S. aureus* selon les services……..…….….. 52
2.5.4.1. Incidence de SARM selon les services…….. 53
2.6. Résistance aux antibiotiques de *S. aureus*……...……..……... 54
2.6.1. La résistance aux β-lactamines……...……..……... 57
2.6.2. La résistance aux Aminosides ……..…… 58
2.6.3. La résistance aux Macrolides……..……. 58
2.7. Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de *S. aureus*……..... 60
Conclusion et perspectives…… 63
Référence…… 64
Annexes

Introduction

Staphylococcus aureus est un agent majeur des infections hospitalières et communautaires et l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines (Belabbès et al., 2001). Ces infections sont souvent la résultante d'un certain nombre de facteurs tels que les pratiques de soins, la flore liée au patient ou encore l'environnement. Son pouvoir pathogène, son caractère ubiquiste et l'absence d'exigences nutritionnelles font de cette bactérie un exemple d'adaptation et de dissémination surtout lors des ruptures de la barrière cutanée, ou l'immaturité du système immunitaire (Rebiahi et al., 2011).

Cette situation semble se compliquer par l'émergence et la progression du phénomène de résistance aux antibiotiques qui place les cliniciens dans une impasse, face à des germes réfractaires à tous types de traitement limitant à la fois les schémas thérapeutiques aggravant le pronostic des malades et prolongeant leur durée de séjour. Ces résistances aux antibiotiques apparaissent plus ou moins rapidement selon la plasticité génétique de la bactérie et la nature chimique de ces molécules (Rebiahi et al., 2011). Cette adaptation a touché également l'aptitude de résister à plusieurs molécules d'antibiotiques telles que la méthicilline, et qui s'étend à la résistance envers la majorité des β-lactamines pour atteindre plusieurs classes majeures d'antibiotiques (Pate et al., 2013).

L'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière, permet à ces infections une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies. Ce phénomène décrit comme une valse mondiale, ne semble pas épargner l'Algérie qui enregistre une fréquence grandissante de SARM qui est le premier agent pathogène responsable d'infections nosocomiales (Carle., 2010). Il est devenu endémique dans certains secteurs de l'hôpital, comme les services de long séjour et les services de réanimation. Ce qui engendre un taux de mortalité élevé et un surcoût tout aussi important (Rebiahi et al., 2011) .

De ce fait, *S. aureus* est considérablement étudié de nos jours et dans tous les domaines scientifiques. Cependant, en raison de son expansion continuelle, en particulier dans les milieux hospitaliers, chaque étude d'épidémiologie analysant une situation particulière permet non seulement de suivre et de comprendre son évolution, mais également de définir des stratégies de lutte au niveau d'un hôpital ou d'un pays.

En Algérie peut de travaux ont été conduits sur la résistance aux antibiotiques de *S. aureus*, parmi ces travaux : Rebiahi, (2012). Pour cela, nous nous somme intéresser à étudier l'incidence de *S. aureus* et sa résistance aux antibiotiques dans l'hôpital de Mila. Cette étude a été réalisée durant notre stage de mémoire de Licence (2012) et notre stage de mémoire de Master (2014). Les résultats obtenus nos séjours ont été renforcé par les résultats enregistrés dans l'archive de l'hôpital.

L'objectif de notre travail est tous d'abord d'isoler et caractériser *S. aureus*, ensuite étudier sa résistance aux antibiotiques. Enfin, une Analyse en Composantes Principales a été réaliser afin de voire la possibilité qu'il y'es d'éventuelles relation dans la résistance aux différents antibiotiques de *S. aureus*.

1. Généralités sur le genre *Staphylococcus*

1.1. Historique

Les premières descriptions des staphylocoques (bactéries en forme de coques) isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Luis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (Fasquelle, 1974).

Ces germes, disposés en grappes de raisin à l'examen microscopique, ont été décrits par Robert Koch en 1878 (Spicer, 2003).

Ces isolats observés et identifiés en 1879 dans des pus de furoncle et d'ostéomyélite par Pasteur comme étant "un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple, rarement par quatre, mais très fréquemment associés en petits amas". Ainsi, il les a cultivés en 1880 et disait que "l'ostéomyélite est le furoncle de la moelle épinière" (Breche et al., 1988 ; Le Loir et Gautier, 2010).

Plus tard ; en 1883, Ogston crée le nom de "staphylocoque" pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* (Breche, 1988).

Koch, Pasteur et Ogston ont réussi à reproduire des abcès chez l'animal par inoculation des prélèvements de pus (Gillespie et Hawkey, 2006).

En 1884, en Allemagne Rosenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en obtenant des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide. Il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon la coloration des pigments produits par les colonies (blanches ou dorées) (Betsy et Keogh, 2005 ; Gillespie et Hawkey, 2006).

En 1885, Zopf a placé les staphylocoques et les micrococques dans le genre *Micrococcus*, séparés par la suite par Flugge, Evans, Bradford et Niven (1955) qui classent les cocci anaérobies facultatifs et aérobies dans le genre *Staphylococcus* et *Micrococcus*, respectivement. Cette classification est basée sur leur action vis-à-vis de la gélatine et le test d'oxydation-fermentation du glucose. Une nette distinction basée sur la composition de l'ADN entre les deux genres a été proposée par Silvestri et Hillen (1965). Le pourcentage en bases G+C de l'ADN des micrococques est de 63-73%, comparé a ce lui des

staphylocoques 30-39%, indiquant qu'il n'existe pas de relation entre les deux genres (Gillespie et Hawkey, 2006).

1.2. Habitat

Ce sont des bactéries résistantes aux conditions hostiles de l'environnement (chaleur, sécheresse, salinité). Ce sont des bactéries ubiquitaires et saprophytes qui peuvent occasionnellement coloniser la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud (Elazhari et al., 2010). En fait, 50% des sujets normaux sont porteurs de différentes espèces de staphylocoques (nez, gorge, mains, périnée, selles). *S. aureus* est une des causes majeures d'infections observées. En milieu hospitalier, 10 à 20% des septicémies sont dues à *S. aureus* (Berche et al., 2002; Danielle et Maryse, 2009).

1.3. Taxonomie

Selon la 9ème édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, dans le phylum des firmicutes (Tableau 1) (Garrity et al., 2002).

Tableau 1 : Classification phylogénique des *S. aureus* (Prescott et al., 2003).

Domaine :	Bactérie ou Eubactérie
Phylum XIII :	*Firmicutes*
Classe :	*Bacilli*
Ordre :	*Bacillales*
Famille :	*Staphylococcaceae*
Genre :	*Staphylococcus*
Espèce :	*Staphylococcus aureus*

Sur la base d'analyses des séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S, le genre *Staphylococcus* est classé dans la famille des *Staphylococcaceae* (Yeh et al., 2011). Le genre *Staphylococcus* est proche des genres *Listeria* et *Bacillus* . Il comprend 45 espèces et sous espèces dont dix-sept ont été retrouvées chez l'homme (Tableau 2) (Grosjeau et al., 2011).

Tableau 2: Présentation des espèces du genre *Staphylococcus* (Garrity et al., 2002; Prescott et al., 2010).

S. arlettae *S. aureus* subspecies *aureus** *S. aureus* subspecies *anerobius* *S. auricularis** *S. capitis* subspecies *capitis** *S. capitis* subspecies *urelyticus* *S. caprae** *S. carnosus* subspecies *carnosus* *S. carnosus* subspecies *utilis* *S. chromogenes* *S. cohnii* subspecies *cohnii** *S. cohnii* subspecies *urealyticus* *S. condimenti* *S. delphini* *S. epidermidis** *S. equorum* *S. felis* *S. fleurettii* *S. gallinarum* *S. haemolyticus** *S. hominis* subspecies *hominis** *S. hominis* subspecies *novobiosepticus* *S. hyicus* subspecies *hyicus*	*S. intermedius** *S. kloosii* *S. lentus* *S. lugdunensis** *S. lutrae* *S. muscae* *S. pasteuri** *S. piscifermentans* *S. pulvereri* *S. saccharolyticus** *S. saprophyticus* subspecies *saphrophyticus** *S. saprophyticus* subspecies *bovis* *S. schleiferi*.subspecies *schleiferi** *S. schleiferi* subspecies *coagulans* *S. sciuri* subspecies *sciuri* *S. sciuri* subspecies *carnaticus* *S. sciuri* subspecies *rodentium* *S. simulans** *S. succinus* *S. vitulinus* *S. xylosus** *S. warneri**
*espèces retrouvées chez l'homme	

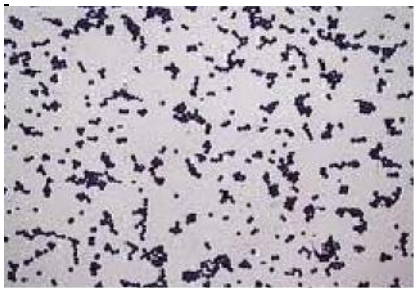
2. L'espèce *Staphylococcus aureus*

Selon Le loir et al. (2010), parmi les nombreuses espèces et sous-espèces de staphylocoques, seules dix-sept espèces ont été retrouves chez l'homme dont certaines sont associées à des infections. La majorité n'est retrouvée que chez l'animal.

2.1. Les caractères bactériologiques

Le terme staphylocoque est dérive du grec "Staphyle", qui signifie grappe. La morphologie des *Staphylococcus aureus* après une coloration de Gram, ils se révèlent être des cocci Gram positif, le plus souvent regroupes, par deux (diplocoques), par quatre (tétrades caractéristiques à l'examen direct), ou en petits amas (grappes) irréguliers (Figure 1). Ils sont immobiles, non sporulés. La majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture (Larpant, 2000 ; Singleton, 2004; Betsy et Keogh**,** 2005; Guy et Vierlino, 2007; Aitabdelouahab, 2008).

Microscopie Optique



Microscopie Electronique

Figure 1 : Aspect morphologique de *Staphylococcus aureus* (Gras, 2006; Rebiahi, 2012).

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives. Qui peuvent croître dans un milieu contenant de 10 à 15% de NaCl et à des températures variant entre 10 et 45°C. Après 18 à 24 heures d'incubation, les colonies sont opaques, lisses; la pigmentation jaune à jaune-orangée n'est pas toujours apparente. Se cultivant facilement en 24 heures sur milieu ordinaire (gélose trypticase-soja supplémentée ou non en sang) (Tableau 3) (Hart et Shears, 1996 ; Frany-Xavier et al., 2010; Karp, 2010).

Tableau 3: Les caractères bactériologiques de *Staphylococcus aureus* (Delarras, 1998; Sitti, 2001; Schaechter et Lederberg, 2004; Berthet, 2006; Delarras et al., 2010**)**.

Morphologie	Regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers, Gram positif, Immobile, non sporulé
Dimension (µm)	0,5-1,5
Teneur en GC (mol%)	33%
Taille du génome (Mb)	2,8 - 2,9
Type respiratoire	Aéro-anaérobie facultatif
Métabolisme	Fermentaire et /ou respiratoire
Type trophique	Chimio-organotrophe
Aspects des colonies	Pigment doré
Autres caractères	Catalase positive – oxydase négative Halophile – mésophile (37°C) et psychrophile (6-12°C) Neutrophile pH opt=7; a_w : basse, jusqu'à 0,83

2.2. Caractères culturaux

Comme tous les germes très répandus dans la nature, *S. aureus* cultive facilement sur les milieux usuels simples, de même que sur la plupart des milieux qui favorisent la croissance des bactéries à Gram positif. Certains facteurs de croissance sont indispensables (Vitamine B1, acide nicotinique) mais ils n'exigent pas de biotine ni de tryptophane, ils poussent en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et un de quatorze acides aminés dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique. La température optimale de croissance est de 37°C et le pH optimal est de 7.5, mais de grandes variations sont tolérées (Le loir et Gautier, 2010).

Il est même capable de pousser dans des conditions hostiles, par exemple en présence de 7.5 % de NaCl (qui inhibe pour cette raison, la plupart des autres germes). Ce caractère est mis à profit dans le milieu de culture sélectif hypersalé de CHAPMAN pour isoler le staphylocoque d'un prélèvement polymicrobien (Le loir et Gautier, 2010).

- En bouillon, *S. aureus* donne un trouble uniforme en quelques heures (Hart et Shears, 1996).

- Sur gélose ordinaire, les colonies sont lisses, rondes, bombées, brillantes, opaques, de 1 mm de diamètre. Elles se pigmentent habituellement en jaune doré (*aureus*), parfois en jaune citron, et parfois sont non pigmentées (Prescott et al., 2003; Bouguessa et al, 2010).

- En gélose profonde, *S. aureus* pousse dans la zone d'aérobiose et dans la zone d'anaérobiose. C'est donc une bactérie aérobie-anaérobie facultative, capable de se multiplier à la surface de la peau, en aérobiose et dans les tissus mal oxygénés, plaie profonde par exemple (Hart et Shears, 1996).

2.3. Caractères biochimiques

Toutes les souches de staphylocoques produisent une catalase mais pas d'oxydase. Ainsi, les souches de *S. aureus* sont: indole -, acétone +, uréase +, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine. De plus, la plupart des souches de *S. aureus* contrairement aux autres espèces produisent de l'hémolyse bêta, caractéristique utile lorsqu'on cherche à identifier un staphylocoque

(Couture, 1990). *S. aureus* possède également un équipement enzymatique (Tableau 4) (Danielle et Maryse, 2009).

Tableau 4: Caractères enzymatiques et biochimiques distinctifs de *S. aureus* (Larpent, 2000; Grojeau et al., 2011).

Furanes	COAC libre	DNASE	COAC liée	Polymyxine	MAN	PYRA	VP	Termonucléase
S	+	+	+	R	+	-	+	+

COAG: Coagulase, **DNase** : désoxyribonucléase, **MAN** : mannose, **PYRA**: pyrrolidonyl arylamidase, **VP**: réaction de vogues prosateur, **R**: Résistant, **S**: Sensible, **(+)**: positive, **(-)**: négative.

S. aureus est capable de transformer de nombreux substrats notamment les sucres ce qui n'a guère d'intérêt pratique sauf ce qui concerne le mannitol que *S. aureus* peut fermenter contrairement à la plus part des SCN (Prescott et al., 2003; Delarras et al., 2010).

S. aureus est identifié par l'aspect pigmenté des colonies, la positivité des tests de : Coagulase, thermonucléase et de l'agglutination dans le Tableau 4. Cependant, certaines souches de *S. aureus* peuvent ne pas produire de coagulase libre en raison d'une mutation. Ainsi, une DNase thermostable permet de déterminer si le germe isolé est un *S. aureus* (Dellaras et al., 2010).

2.4. Facteurs de risque des infections à *S. aureus*

Selon le centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'interrégion (Anonyme, 2012). De nombreux facteurs contribuent à augmenter les risques d'acquérir les infections à *S. aureus*, dont ceux lies au patient (âge avance, immunodépression, diabète, obésité et dénutrition), ceux lies aux soins et aux interventions (sondage urinaire, gastrique ou trachéal, cathéter veineux, intervention chirurgicale, endoscopie) et ceux lies a l'agent infectieux (virulence et résistance aux antibiotiques).

2.5. Pouvoir pathogène

La pathogénie de *S .aureus* est un phénomène complexe, faisant intervenir une multitude de facteurs de virulence. C'est l'action combinée de l'ensemble de ces facteurs qui explique le fort pouvoir pathogène de cette bactérie et la multitude de maladies humaines qu'elle provoque (Hiron, 2007).

2.5.1. Facteurs de virulence de *S. aureus*

Les rapports de *S. aureus* avec l'hôte font intervenir à l'état commensal comme pathogène divers facteurs de virulence (Tableau 5). Chaque isolat est constitué d'une paroi recouverte d'une capsule et exprime à sa surface des protéines capables d'initier la colonisation de l'hôte. *S. aureus*, beaucoup plus pathogène que les SCN, peut également produire dans le milieu extérieur des exotoxines, dont certaines sont super-antigéniques, et des enzymes, facilitant sa dissémination dans l'organisme (Lowy, 1998; Ferry et al., 2005; Boulanger et al., 2006).

Tableau 5 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Novick, 2003; Madigon et Martinko, 2007).

	Facteurs	**Gènes**	**fonctions**
Constituants de la paroi cellulaire	Clumping factor A	***clfA***	Adhésion au fibrinogène
	Clumping factor B	***clfB***	Adhésion au fibrinogène
	Coagulase	***coa***	Liaison au fibrinogène
	Protéine Fib A	***fibA***	Liaison au fibrinogène
	Fibronéctine liée à la protéine A	***fnbA***	Attachement à la fibronéctine
	Fibronéctine liée à la protéine B	***fnbB***	Attachement à la fibronéctine
	Collagène lié à la protéine	***cna***	Adhésion au collagène
	Elastine liée à la protèine	***ebps***	Liaison à l'élastine
	Protéine analogue MHC	***map ou eap***	Liaison à la protéine de la matrice extracellulaire (incluant fibronéctine, fibrinogène vitronectine, sialoproteine osseuse et thrombospondine)
	Adhésine intracellulaire Polysaccharidique	***pia***	adhésion intracellulaire et formation de biofilm
	Protéine A	***spa***	invasion possible des défenses de l'hôte
	Polysaccharides capsulaires (types 1, 5et 8)	***cap***	Molécule Anti-phagocytose
	Entérotoxines A-E, H	***sea-e, h***	Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes, responsables des diarrhées associées à la nourriture
	Syndrome du choc Toxique toxine-1	***tst***	Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes responsables de TSS
Toxines et enzymes extracellulaires	Toxine exfoliative A, B	***eta, etb***	Invasion des défenses de l'hôte, agents responsables du syndrome de la peau ébouillantée
	Lipase	***geh***	Invasion des défenses de l'hôte
	Protease V8	***Sas P ou ssp***	Invasion des tissus et modification des protéines de surface
	Leucocidine de Panton-Valentine	***lukF, lukS***	Invasion des défenses de l'hôte, lyse des phagocytes de l'hôte
	Staphylokinase	***sak***	Invasion des défenses de l'hôte
	Hemolysine -a	***hla***	Invasion des Tissus, à partir des pores dans les membranes des cellules de l'hôte
	ß-hemolysine	***hlb***	Tissue invasion, sphingomyelinase
	δ-hemolysine	***hld***	Potentialisation de la ß-hemolysine
	γ-hemolysine	***Hla A, B, C***	Potentialisation de la lyse des cellules de l'hôte
	Phospholipase C	***plc***	Lyse cellulaire
	Elastase	***sepA***	Invasion des tissus
	Hyaluronidase	***hysA***	Invasion des tissus

2.5.1.1. La capsule et la paroi des staphylocoques

Les polysaccharides capsulaires, présents chez 90 % des isolats cliniques de *S. aureus*, permettent de mieux résister à la phagocytose (Lowy, 1998; Durand et al., 2006). Associés aux polysaccharides produits dans le milieu extérieur, dénommés PIA (pour *polysaccharide intercellular adhesin*), les polysaccharides capsulaires majorent les propriétés d'adhésion de *S. aureus* (Foster et Hook, 1998; ORiordan et Lee, 2004; Durand et al., 2006). Comme pour les autres cocci à gram positif, la paroi des staphylocoques est constituée d'acides lipoteichoïques et de peptidoglycane. Les acides lipoteichoïques interviennent dans l'adhérence grâce à leur domaine hydrophobe et servent de molécule d'ancrage à certaines adhésines par des liaisons électrostatiques, alors que le peptidoglycane lie de manière covalente la plupart des protéines d'adhésion (Xia et al., 2010).

2.5.1.2. Les protéines d'adhésion exprimées par *S. aureus*

Il existe une grande homologie dans la capacité de produire des protéines d'adhésion au sein de toutes les espèces du genre *Staphylococcus* (Baba-Moussa et al., 2010). Nous allons développer uniquement celles produites par *S. aureus*. *S. aureus* exprime à sa surface de très nombreuses protéines d'adhésion qui interagissent avec différentes molécules du plasma ou de la matrice extracellulaire de l'hôte (Figure 2) (Chavakis et al., 2005; Boulanger et al., 2006; Durand et al., 2006). La protéine A lie le facteur de Willebrand, et a aussi des propriétés antiopsonisantes en fixant le fragment Fc des immunoglobulines. D'autres protéines, des adhésines, appartiennent à la famille des MSCRAMMs (pour *microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules*). Les MSCRAMMs ont un rôle majeur dans l'adhésion de *S. aureus* aux diverses cellules et tissus de l'hôte (Foster et Hook, 1998). Récemment, des adhésines produites dans le milieu extérieur ont été décrites (famille des SERAMs – pour *secretable expanded repertoire adhesive molecules*) (Figure 2) (Chavakis et al., 2005).

2.5.1.3. Invasion intracellulaire des cellules de l'hôte

Après avoir adhéré, les staphylocoques ont la capacité de pénétrer à l'intérieur des cellules non phagocytaires de l'hôte, via l'interaction entre les adhésines et les intégrines α5β1 présentes à la surface des cellules de l'hôte (Corvaglia et al., 2013). À l'intérieur de la cellule hôte, les staphylocoques se logent dans l'endosome ou se retrouvent à l'état libre

dans le cytoplasme. À ce stade, les staphylocoques peuvent persister ou se multiplier et entraîner l'apoptose ou la nécrose de la cellule hôte (Boulanger et al., 2006).

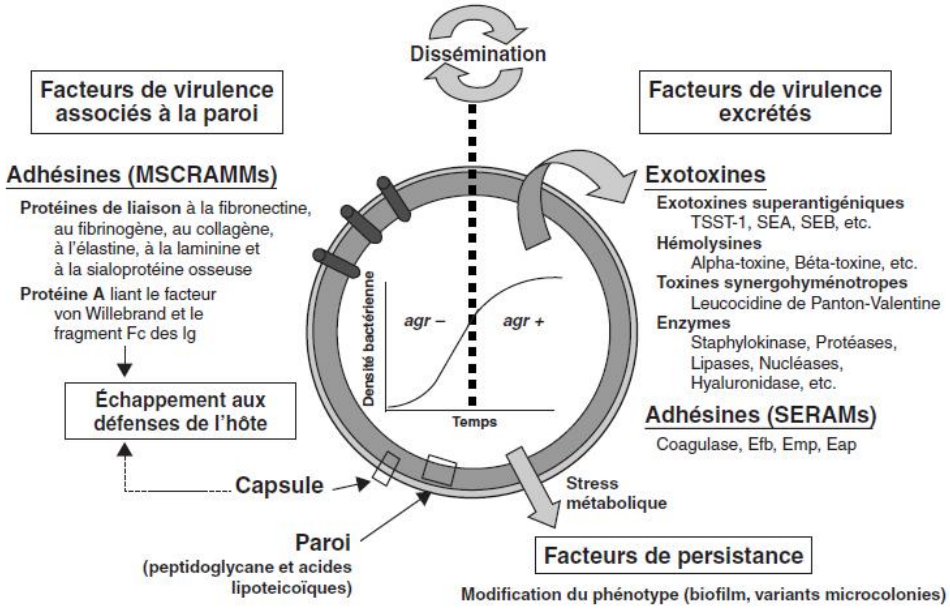


Figure 2: Facteurs de virulence exprimés à la surface ou excrétés par *S. aureus* en fonction de la densité bactérienne (Allen et al., 2002; Ferry et al., 2008; Ferry et al., 2012).

MSCRAMMs: *microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules;* **Ig**: immunoglobulines; **TSST-1**: *toxic-shock-syndrome-toxin-1*; **SEA:** *staphylococcal enterotoxin A,* **SERAMs**: *secretable expanded repertoire adhesive molecules;* **Efb**: protéine de liaison au fibrinogène extracellulaire; **Emp**: protéine de liaison à la matrice extracellulaire; **Eap**: protéine d'adhésion extracellulaire.

À faible densité bactérienne et au début de la phase exponentielle de croissance, le système *agr* est réprimé et *S. aureus* exprime les facteurs d'adhésion alors qu'à la phase post-exponentielle de croissance, le système *agr* est activé et *S. aureus* produit les toxines et enzymes qui favorisent la destruction tissulaire et la dissémination de l'infection.

2.5.1.4. Lyse cellulaire et envahissement tissulaire

S. aureus, à la différence des SCN, a une grande capacité à lyser les cellules et les tissus de l'hôte grâce à la mise en jeu d'un grand nombre de toxines et d'enzymes (Prevost, 2005). Certaines exotoxines ont une action de lyse membranaire spécifique de certaines cellules de l'hôte. L'α-toxine (ou hémolysine-α), la β-toxine, la δ-toxine et la γ-toxine sont des hémolysines qui forment des pores dans la membrane cellulaire (Prevost et al., 1995; Dinges et al., 2000; Boulanger et al., 2006). La γ-toxine, au même titre que la leucocidine

de Panton Valentine (PVL) uniquement produite par certaines souches de *S. aureus*, fait partie de la famille des toxines synergohyménotropes (Baggett et al., 2004; Baba-Moussa et al., 2011). Ces dernières sont formées de deux composants qui agissent de façon synergique pour former des pores dans la membrane cellulaire des polynucléaires neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Ceci conduit, à faible concentration de toxine, à l'apoptose de la cellule cible **(**Genestier et al., 2005) ou, à plus forte concentration, à la lyse cellulaire favorisant la nécrose tissulaire (Baggett et al., 2004; Carre et al., 2011) . Un dernier groupe de toxine concerne les toxines épidermolytiques ETA (pour *exfoliative toxin A*) et ETB dont la cible est la desmogléine 1 qui est impliquée dans les jonctions intercellulaires de la couche cornée de l'épiderme (Ladhani, 2001).

2.5.1.5. Dissémination dans l'organisme

S. aureus est le staphylocoque le mieux armé pour disséminer dans l'organisme. La dissémination hématogène de *S. aureus* est liée à l'expression coordonnée des différents facteurs de virulence en fonction de la densité bactérienne (Figure 3). Plusieurs régulateurs, dont *agr* (pour *accessory gene regulator*) est le principal, interviennent dans ce programme séquentiel. Au cours d'une dissémination hématogène, *S. aureus* favorise la formation de microthrombi et de métastases septiques. Il produit la coagulase qui induit la formation de microthrombi en activant la prothrombine dans le sang circulant, puis la staphylokinase (enzyme fibrinolytique) qui fragmente le caillot (Lowy, 1998; Boulanger et al., 2006; Durand et al., 2006). Enfin, *S. aureus* est capable de persister des années après dissémination hématogène, notamment dans les os ou au contact de matériel (Lowy, 1998). En effet, sous l'influence d'un stress métabolique et dans certaines conditions environnementales, *S. aureus*, comme les SCN, est l'objet de modifications phénotypiques qui sont associées à la persistance chez l'hôte. La production d'un glycocalix (biofilm adhérent entourant les bactéries) leur permettant d'infecter les biomatériaux et de résister aux antibiotiques) et/ou de variants microcolonies sont les deux principales voies d'adaptation (Mah et O'took, 2001; Steward et Costerston, 2001; Donlan et Costerton, 2002 ; Yarwood et al., 2004).

2.5.1.6. Les exotoxines super-antigéniques staphylococciques

S. aureus peut sécréter des exotoxines super-antigéniques comme la *toxic shock syndrome toxin-1* (TSST-1 codée par le gène *tst*) et des entérotoxines, dont il existe 7 sérotypes différents (A, B, C1, C2, C3, D, E). Toutes sont de puissants mitogènes, car contrairement

à un antigène classique, elles ne sont ni internalisées, ni dégradées par la cellule présentatrice de l'antigène. Elles se fixent de manière conjointe, en dehors du site de présentation de l'antigène, sur la partie invariable du complexe majeur d'histocompatibilité de type II de la cellule présentatrice de l'antigène et sur la partie variable Vβ du récepteur T des lymphocytes T. Alors qu'un antigène conventionnel active de manière spécifique 0,01 % des lymphocytes T, quelques picogrammes d'un superantigène peuvent activer jusqu'à 40 % d'entre eux. L'activation lymphocytaire entraîne une production excessive de cytokines proinflammatoires de type T *helper-1* (Th-1) (Dinges et al., 2000; Liassine et al., 2004; Seiberling et al., 2005).

2.5.2. Infections staphylococciques

S. aureus est responsable d'infections suppuratives superficielles et profondes qui dépendent de la prolifération du germe ainsi que de syndromes liés à l'action de toxines (Figure 3) (Ryan et Ray, 2004).

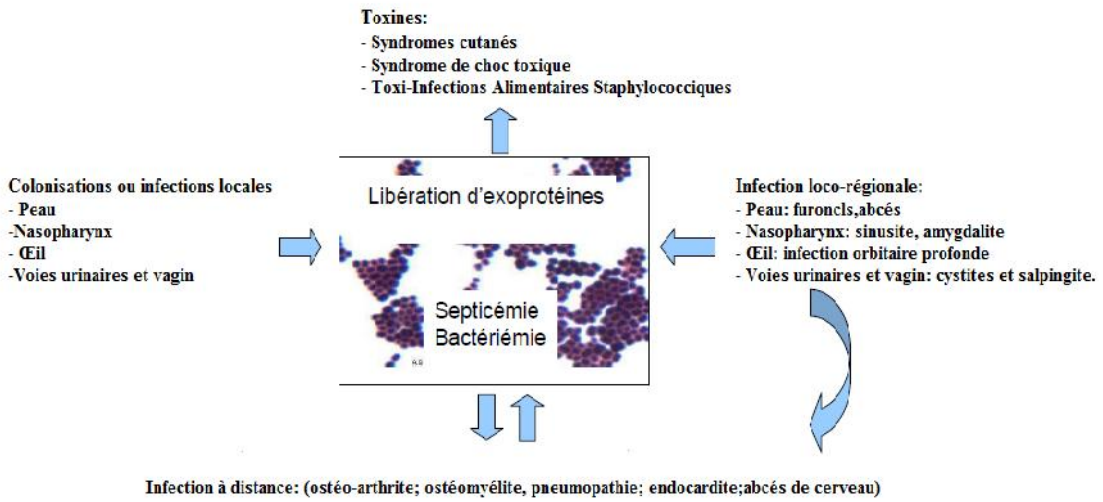


Figure 3: Implication de *S. aureus* en pathologie humaine (Corne, 2004).

2.5.2.1. Infections suppuratives superficielles et profondes

Les infections suppuratives impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion puis la destruction des tissus de l'hôte, la réponse inflammatoire locale et systémique. *S. aureus* est principalement responsable d'infections suppuratives loco-régionales (Lowy, 1998). (Figure 3).

Les infections à *S. aureus* les plus fréquentes sont les infections cutanéo-muqueuses telles que les folliculites, impétigo, furoncles, anthrax, panaris, cellulites ou les sinusites et les otites (Gordon et lowy, 2008 ; Del Giudice et al., 2011). Il s'agit le plus souvent d'auto-infestations. Ces infections se compliquent parfois par extension loco-régionale de l'infection, ou par diffusion hématogène de la bactérie. *S. aureus* peut alors être responsable de septicémies, d'endocardites, de pneumopathie, d'ostéomyélites, d'arthrites de ou d'infection urinaire Figure 3) (Baba-Moussa et al., 2008).

-La gravité des septicémies à *S. aureus* tient tant au risque de survenue de choc staphylococcique qu'à la localisation de métastases septiques (Allen et al., 2002).

-Une des complications des septicémies à *S. aureus* est la survenue d'endocardite infectieuse.

-Les septicémies des toxicomanes utilisant la voie intraveineuse peuvent être à l'origine d'endocardite du cœur droit.

Les pneumopathies staphylococciques sont rares mais graves en raison du risque de complications à type d'abcès, de nécrose pulmonaire extensive ou d'évolution vers des pleurésies enkystées. (Pereyre, 2011). *Staphylococcus aureus* Pouvoir pathogène, caractéristiques bactériologiques et résistance CHU Université Bordeaux Segalen Les ostéomyélites aiguës touchent le plus souvent les os longs chez les enfants et les vertèbres chez les adultes. De même, contrairement à ce que l'on observe chez les adultes, les arthrites septiques chez les enfants peuvent être associées à une ostéomyélite adjacente du fait de la présence de vaisseaux sanguins au niveau de l'épiphyse. *S. aureus* tient également une place dominante dans les infections ostéo-articulaires post-chirurgicales, d'inoculation ou après traumatismes (Pereyre, 2011).

S. aureus peut aussi être responsable d'infections urinaires. La contamination se fait soit par voie ascendante sur sonde à demeure soit par voie hématogène.

2.5.2.2. Infections toxiques

Les infections toxiques staphylococciques regroupent le choc toxique staphylococcique, la maladie exfoliante généralisée, les toxi-infections alimentaires, la pneumonie nécrosante (Brun et Bes, 2000; Dinges et al., 2000). La particularité des toxines produites lors du choc toxique staphylococcique est d'être des superantigènes qui vont entraîner une activation polyclonale non spécifique des lymphocytes T. Ces derniers vont libérer brutalement et massivement des cytokines pro-inflammatoires responsables des signes de choc. On retrouve la toxine TSST-1 dans 20% des souches de *S. aureus*. La toxine de Panton et Valentine individualisée dans la pneumonie nécrosante n'est pas un superantigène mais détruit les polynucléaires et entraîne une nécrose du tissu pulmonaire et des muqueuses de voies aériennes (Gillet et al., 2002; Liassine et al., 2004). En France, 2 à 5% des souches de *S. aureus* produisent la toxine LPV **(**Dumitrescu, 2012).

2.5.2.3. Infections nosocomiales

S. aureus est fréquemment responsable d'infections nosocomiales en rapport avec le nombre croissant d'immunodéprimés et avec la multiplication des procédures invasives qui lèsent la barrière cutanéo-muqueuse (interventions chirurgicales notamment en chirurgie cardiothoracique et orthopédique, pose de cathéters ou de sondes, implantation de prothèses, etc.) (Saadatian-Elahi et al., 2008). De telles procédures favorisent la pénétration dans l'organisme de souches véhiculées par les patients ou par les membres de l'équipe soignante (transmission manu-portée). Des infections aigues ou chroniques des os, des articulations et du matériel prothétique sont fréquemment dues aux staphylocoques. Les formes chroniques avec formation d'un biofilm posent des problèmes thérapeutiques particuliers d'échec de l'antibiothérapie (Moreillon et al., 2005).

2.6. Traitement des infections à *S. aureus*

La prise en charge des infections à *S. aureus* comprend le traitement de la porte d'entrée (drainage d'un abcès, ablation d'une voie veineuse infectée), une antibiothérapie adaptée et le traitement symptomatique des défaillances viscérales (Domart, 2002). Le choix du traitement antibiotique dépend de la gravité clinique de l'infection et de la sensibilité de la souche *in vitro*.

L'antibiothérapie des infections à SASM repose sur les Pénicillines M associées ou non à un aminoside. Par voie orale, les pénicillines M ont une mauvaise biodisponibilité et une

demi-vie trop courte. Un traitement par Amoxicilline associé à un inhibiteur des β−lactamases sera alors préféré. En cas d'allergie aux pénicillines, les alternatives sont les Fluoroquinolones, les Synergistines et les Lincosamides. Les échecs de traitement sont liés à la virulence du germe, aux co-morbidités, à la présence de matériel étranger, à des foyers secondaires profonds ou à des posologies insuffisantes (Wolff, 2002).

Le traitement de référence des infections à SARM repose sur les Glycopeptides (Vancomycine, Téicoplanine) associés ou non à un autre antistaphylococcique actif sur les SARM (Tableau 6). L'émergence de souches GISA pourrait expliquer certains échecs thérapeutiques ou une réponse tardive aux Glycopeptides. L'antibiothérapie d'une infection grave à GISA n'est pas codifiée. Elle nécessite des posologies élevées de Glycopeptides associées à la Rifampicine ou le recours à de nouvelles molécules comme le Linézolide ou la quinupristine/dalfopristin (Cosgrove et al., 2004).

Tableau 6: Classes et molécules anti-staphylococciques (Corne, 2004).

Classes	**Molécules**
Majeures	
β-lactamines antistaphylococciques	
Pénicilline M	Oxacillines, Cloxacillines
Céphalosporines	Céfazoline, Céfamandole
Glycopeptides	Vancomycine*, Téicoplanine*
Mineures	
Aminosides	Gentamycines*, Tobramycine, Nétilmicine
Rifampicine	Rifampicine
Fluoroquinolones	Ofloxacine, Ciprofloxacine
Acide fucidique	Acide fucidique*
Fosfomycine	Fosfomycine
Lincosamides	Clindamycine*
Synergistines	Pristinamycine*
Sulfamides	Triméthoprime-sulfaméthoxazole*

*actif sur les SARM selon antibiogramme

3. Notions et mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques de l'espèce *S. aureus*

3.1. Génome

Le génome de *S. aureus* a été séquencé pour 6 souches de *S. aureus* (Kuroda et al., 2001; Baba et al., 2002; Holden et al., 2004). Il s'agit d'un chromosome circulaire qui comprend 2.82 x 10^6 à 2.9 x 10^6 paires de bases (pb). Le contenu en GC est de 33%. 84% du génome est codant et entre 2592 et 2748 gènes ont été identifiés. *S. aureus* contient en général un plasmide de 20 000 à 25 000 pb contenant une trentaine de gènes (Kuroda et al., 2001). Le génome de *S. aureus* se caractérise par sa complexité et sa plasticité. La comparaison des génomes séquencés et l'analyse par la technique des micropuces à ADN d'un échantillon représentatif des différentes lignées de *S. aureus* montrent qu'environ 75% du génome est hautement conservé (Holden et al., 2004; Lindsay et Holden, 2004). La majorité des gènes de ces régions conservées sont impliqués dans la réplication de l'ADN, la synthèse protéique, les fonctions métaboliques.

Un quart du génome est caractérisé par une variabilité génétique importante et les gènes de ces régions sont dévolus à des fonctions non essentielles à la croissance et à la survie. Ces régions variables sont composées d'éléments génétiques mobiles acquis par transferts horizontaux à partir d'autres souches de *S. aureus* et d'autres espèces bactériennes plus ou moins éloignées (Fitzgerald et al., 2001). Ces éléments génétiques mobiles comprennent des génomes prophages, des transposons, des séquences d'insertion, des plasmides, des cassettes chromosomiques, des îlots de pathogénicité, des îlots génomiques. La plupart de ces éléments génétiques mobiles transportent des gènes de virulence ou des gènes de résistances aux antibiotiques (Lindsay et Holden, 2004).

3.2. Support génétique de la virulence

Il existe un très grand nombre de gènes liés à la virulence : au moins 40 gènes codant pour des toxines, 20 codant pour des facteurs d'adhésion et 44 régulant la transcription de produits associés à la virulence. Les gènes codant pour les toxines sont regroupés dans des îlots de pathogénicité qui sont des éléments génétiques mobiles (Kuroda et al., 2001). Près de 75% des souches cliniques de *S. aureus* ont des gènes codant pour des toxines (Becker et al., 2003).

La synthèse des facteurs de virulence est biphasique, à la phase initiale de la croissance bactérienne, ce sont surtout les gènes codant pour des adhésines qui sont activés. Secondairement, les gènes des toxines prennent le relais. Cette activation séquentielle est sous la dépendance du système de régulation de la virulence appelé *agr* (accessory gene regulator) (Dufour et al., 2002; Bronner et al., 2004). Le système *agr* met en jeu un mécanisme de déclenchement par un seuil (quorum sensing) : il code pour un peptide (peptide auto-inducteur) qui est sécrété dans l'espace extracellulaire et son accumulation agit comme un signal sur la densité cellulaire conduisant à l'activation du système *agr* (Allen et al., 2002).

Le système *agr* possède un polymorphisme génétique avec quatre groupes alléliques identifiés (Ji et al., 1997; Jarraud et al., 2000). Ce polymorphisme pourrait expliquer la diversité des infections entraînées par *S. aureus*. Par exemple, le système *agr* type IV est retrouvé dans les souches productrices d'exfoliatines alors que les souches produisant TSST-1 ont un système *agr* de type III (Jarraud et al., 2000).

3.3. Support génétique de la résistance aux antibiotiques de *S. aureus*

S. aureus a développé des résistances à quasiment tous les antibiotiques mis sur le marché dont les deux classes d'antistaphylococciques majeurs (Figure 4). Les mécanismes impliqués comprennent la synthèse d'enzymes inactivatrices, la modification de la cible des antibiotiques, des systèmes d'efflux qui diminuent la concentration de l'antibiotique dans la bactérie (Hardy et al., 2004).

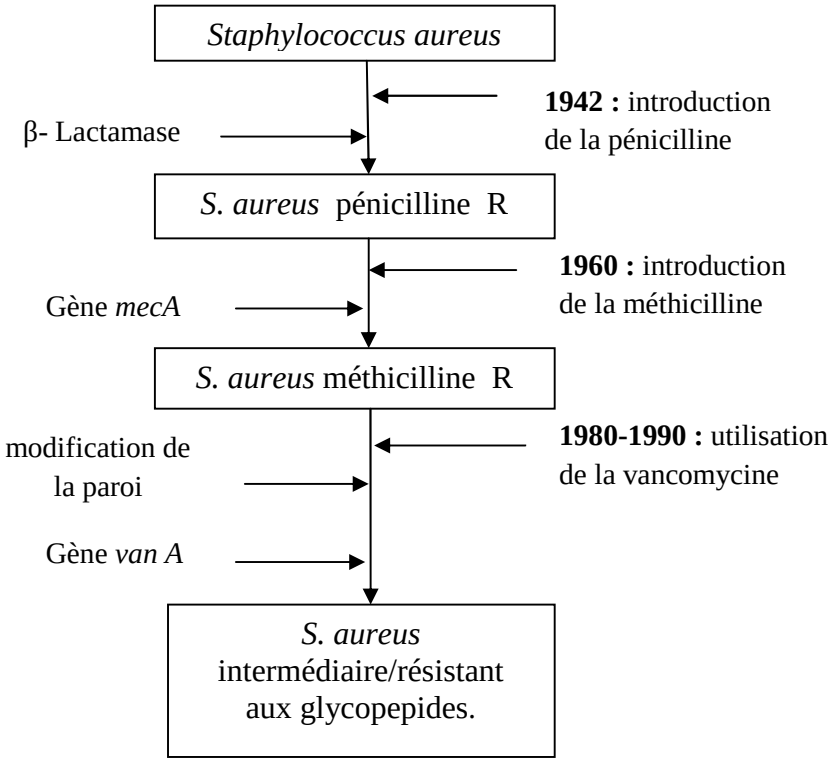


Figure 4: Introduction, utilisation des antibiotiques et acquisition des résistances par *S. aureus* (Hardy et al., 2004).

3.3.1. Résistance aux bêta-lactamines

La résistance au bêta-lactamines est représentée dans la Figure 5.

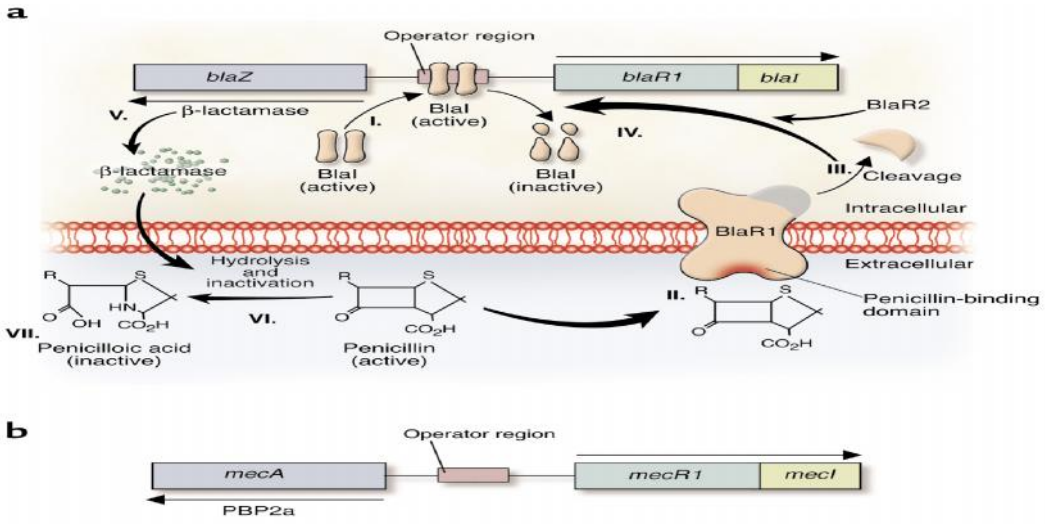


Figure 5: Mécanisme de la synthèse de β-lactamase staphylococcique en présence de l'antibiotique β-lactamine (Lowy, 2003).

3.3.1.1. Résistance à la pénicilline

Le mécanisme de résistance à la Pénicilline repose sur la synthèse par la bactérie d'une enzyme appelée β-lactamase ou pénicillinase qui hydrolyse le cycle β-lactame des Pénicillines et les rend inactives. Le gène *blaZ* (Figure 5) (Tableau 9) qui code pour cette enzyme est porté par un plasmide ou un transposon. Le gène *blaZ* est sous le contrôle d'un système répresseur/antirépresseur (*blaR1*/*blaI*). La production de β-lactamase est le plus souvent inductible (Lowy, 2003; Gillespie et al., 2006).

3.3.1.2. Résistance à la méthicilline

La résistance à la Méthicilline (ou résistance à l'Oxacilline) introduits dans les débuts des années 1960 (Otter et French, 2010) pour le traitement des infections causées par les *S. aureus* résistants a la Pénicilline**.** Les β-lactamines ont pour cible les transpeptidases appelées aussi protéines liant la pénicilline (PLP) (Figure 5) (Tableau 9). Les PLP interviennent dans la synthèse de la paroi bactérienne en catalysant la formation de ponts peptidiques entre les chaînes glycaniques (Ghuysen, 1994; Lindsay, 2008; Morand et al., 2012). Les β-lactamines vont bloquer la polymérisation de la paroi bactérienne la rendant instable et fragile et provoquant secondairement la lyse de la bactérie. *S. aureus* produit naturellement 4 PLP (Labischinski, 1992). Le principal mécanisme de résistance à la Méthicilline est lié à la modification de la cible des β-lactamines.

Les SARM synthétisent une 5ème PLP, la PLP2a (ou 2'), qui a une faible affinité pour les β−lactamines (Hartman et Tomasz, 1984; Oliveira et al., 2002; Ito et al., 2004). Contrairement aux autres PLP, la PLP2a est capable de réaliser à elle seule la polymérisation de la paroi bactérienne. Cependant, la paroi bactérienne synthétisée par la PLP2a comporte des altérations morphologiques (diminution du degré de réticulation, prédominance de monomères ou dimères) qui ne sont pas favorables à la bonne croissance de la bactérie (Labischinski, 1992). La résistance peut être homogène (exprimée par toutes les souches) ou hétérogènes (exprimée par une proportion de colonies filles issues d'une colonie mère exprimant la résistance) (Tomasz et al., 1991).

Le gène qui code pour la PLP2a est le gène *mecA* (Chambers, 1997 ; Katayama et al.,1999; Hiramatsu, 2001; Okuma et al., 2002). Il est transporté dans un élément génétique appelé Staphylococcal Chromosomal Cassette (SCC*mec*) (Katayama et al., 2000; Sfeir et al., 2013). SCC*mec* est un fragment de 21-67 kb qui s'intègre dans un site unique proche

de l'origine de réplication du chromosome de *S. aureus*. Il ne contient pas de gènes liés aux phages ni de transposons. Il véhicule des copies des plasmides intégrés responsables de la résistance à des antibiotiques autres que les β−lactamines (Michel-Briand, 2009). Par analogie avec les îlots de pathogénicité décrits dans les Entérobactéries, il peut être considéré comme un îlot de résistance aux antibiotiques. Pour se déplacer, SCC*mec* contient 2 gènes spécifiques qui codent pour des recombinases (*ccrA* et *ccrB*) (Sfeir et al., 2013).

Le complexe génétique *mec* comprend le gène de résistance proprement dit et un système complexe de régulation avec deux systèmes répresseurs/anti-répresseurs de la transcription, *mecI/mecR1* et *blaI*/*blaR1* (Archer et Bosilevac, 2001; Rosato et al., 2003). Le système *mecI/mecR1* exerce une inhibition plus forte que *blaI*/*blaR1*. Si le système *mecI/mecR1* est fonctionnel, la transcription du gène *mecA* est très fortement inhibée et la souche apparaît sensible avec les techniques usuelles d'antibiogramme. Toutefois, grâce au système *blaI*/*blaR1*, la Méthicilline sera lentement inductrice de la résistance. En pratique clinique, la majorité des souches actuelles ont un système *mecI/mecR1* non fonctionnel et la transcription du gène *mecA* est sous la dépendance de *blaI*/*blaR1* : dans ce cas la résistance est rapidement inductible par les β−lactamines. Des gènes auxiliaires appelés *femA*, *femB*, *femC*, *femD* sont également impliqués dans l'expression de la résistance à haut niveau chez les souches présentant une résistance hétérogène à la Méthicilline (Batard et al., 2005).

Quatre types de SCC*mec* ont été décrits (type I à IV) sur la base des différents complexes *ccr* (ccrAB, ccrA, ccrB) et des classes du complexe *mec* (A et B) (Figure 6) (Hiramatsu, 2001). Le type I a été retrouvé dans les premières souches de SARM dans les années 60. Les types II et III caractérisent les souches de SARM isolées actuellement et disséminées dans le monde. Le type IV a été décrit récemment dans les nouvelles souches émergentes de SARM dites communautaires) (Sfeir et al., 2013).

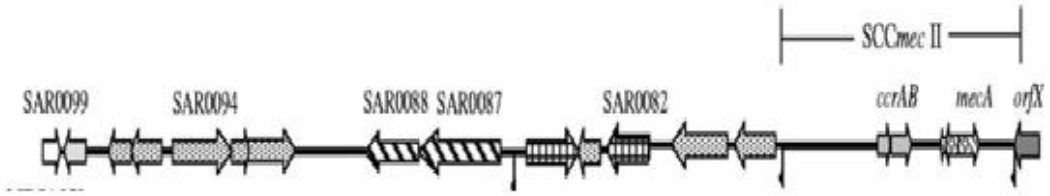


Figure 6: SCC*mec* de SARM (Decristophoris, 2009).

3.3.2. Résistances aux glycopeptides

Les deux antibiotiques présents dans la famille des Glycopeptides sont la Vancomycine et la Téicoplanine, sont utilisés en alternative aux béta-lactamines dans le traitement à *Staphylococcus* dorés méthicillino-résistants (Utsui et Yokota, 1985; Heym et al., 2002; Mastouri et al., 2004). Ces antibiotiques ont un effet antibactérien lent. Ils agissent sur la synthése de la paroi bactérienne à un stade plus précoce que les béta-lactamines, en ciblant le D-anayl-D-alanine de peptidoglycane pour se fixer (Tankovic et al., 1997).

Le mécanisme de résistance à la Vancomycine est lié à un épaississement de la paroi bactérienne qui piège les Glycopeptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique où le peptidoglycane est synthétisé (Walsh et Howe, 2002; Chang et al., 2003). Cette résistance est due à des mutations de *S. aureus*, obtenues chez les entérocoques résistants aux Glycopeptides (Lowry, 2003).

3.3.3. Résistance aux Aminoglycosides

Les résistances à l'Aminoside agissent sur la traduction des acides ribonucléiques messagers (ARNm) et la synthèse des protéines (Archambaud, 2009). Après avoir pénétré de façon passive dans la bactérie, elles sont transportées vers les ribosomes et interfèrent ainsi avec la sous-unité 30S des ribosomes qui joue un rôle dans la synthèse peptidique en lisant l'ARNm (Michel-Briand, 2009). On obtient ainsi des protéines dites « non-sens » qui entraînent la mort bactérienne. Les Aminosides sont des antibiotiques bactéricides rapides et puissants et présentent un effet post-antibiotique (c'est-à-dire que la durée d'activité est beaucoup plus importante que le temps d'exposition) (Crossley et al., 2009).

Le principal mécanisme de résistance aux aminosides (Kanamycine, Amikacine, Tobramycine, Gentamicine) est lié à des modifications de la cible ribosomale par des enzymes codées par des gènes plasmidiques ou transposables. On distingue trois phénotypes de résistance (Tableau 7) (Quincampoix et Mainardi, 2001 ; Michel-Briand, 2009):

- Une résistance de haut niveau à la Kanamycine et l'Amikacine (phénotype K); la résistance à la Kanamycine traduit la présence d'une enzyme inactivatrice: Aminoglycoside phosphotransférase (3')-III, qui fait perdre la synergie aussi avec l'Amikacine.
- Une résistance de haut niveau à la Kanamycine, à l'Amikacine et à la Tobramycine (phénotype KT); la résistance à la Kanamycine et à la Tobramycine due à la production d'une Aminoglycoside nucléotidyltransférase (4'-4'') fait perdre la synergie avec ces Aminosides et avec l'Amikacine.
- Une résistance de haut niveau à la Kanamycine, à l'Amikacine, à la Tobramycine et à la Gentamicine (phénotype KTG); la résistance à la Gentamicine est due à la synthèse d'une enzyme bifonctionnelle, Aminoglycoside acétyltransférase (6')-phosphotransférase (2'') fait perdre la synergie entre les inhibiteurs de synthèse de paroi à tous les Aminosides (sauf la Streptomycine et la néomycine qu'il faut tester séparément).

Tableau 7 : Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux Aminosides (Quincampoix et Mainardi, 2001).

Enzymes	Support	Phénotypes	K	An	Tm	Gm	Net
aph3'	aph3'a	K	R	R	S	S	S
ant4'	aph4'a	KT	R	R	R	S	S
aph2''-aac6'	apha2' aac6'	KTG	R	R	R	R	R

K: Kanamycine; **An**: Amikacine; **Tm**: Tobramycine; **Gm**: Gentamicine; **Net**: Nétilmicine; **S**: Sensible; **R**: Résistant.

3.3.4. Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS)

Ces molécules, différentes par leur nature chimique, sont regroupées du fait de modes d'action proches caractérisés par une inhibition de la synthèse protéique par fixation au ribosome (Mayers et al., 2009). Les Macrolides et les Lincomycine ont une activité bactériostatique, alors que les Streptogramines ont, en l'absence de résistance aux

Streptogramines B, une activité bactéricide. Plusieurs gènes de résistance aux MLS ont été décrits chez *Staphylococcus aureus* (Tableau 8) (Leclercq, 2002).

Le mode le plus fréquent des résistances aux Macrolides et aux Lincosamides résulte de la production d'une enzyme d'origine plasmidique qui modifie la cible ribosomale par méthylation. La résistance est croisée entre les Macrolides, les Lincosamides et les Streptogramines B (Pristinamycine I et Quinupristine), d'où son nom de MLSB, car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs. La résistance MLSB est dite inductible quand la méthylase est produite seulement en présence de Macrolide inducteur (comme l'Erythromycine), ou constitutive, lorsque la production est permanente, et indépendante de l'antibiotique (Leclercq, 2002).

La production de méthylase inductible n'entraîne de résistance qu'aux antibiotiques inducteurs, qui sont les Macrolides à noyau de 14 et 15 atomes (Erythromycine, Roxithromycine, Clarithromycine, Dirithromycine, Azithromycine) alors que les Macrolides à noyau de 16 atomes (Josamycine et Spiramycine), les Lincosamides (Clindamycine et Lincomycine) et les Streptogramines B (Pristinamycine I et Quinupristine) restent actifs car non inducteurs. L'utilisation de la Clindamycine ou d'un Macrolide à noyau de 16 atomes est néanmoins déconseillée en raison d'un risque élevé de sélection de mutants constitutifs en présence de ces antibiotiques (Dowzicky et al., 2000).

La production constitutive de méthylase induit une résistance croisée à tous les antibiotiques de la famille, à l'exception des Streptogramines. En effet, pour ces dernières, l'effet synergique des composants A et B permet le maintien de l'activité *in vitro*. Le marqueur de la résistance de type constitutif est la résistance à la clindamycine. La plupart des SARM présentent une résistance MLSB constitutive **(**Leclercq, 2002**)**.

Les Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS) inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosomes et l'ARN de transfert (Decousser et al., 2003**)**

Les mécanismes de résistances aux macrolides (Erythromycine, Spiramycine), Lincosamides (Clindamycine) et Streptogramines (Pristinamycine, Quinupristine-dalfopristine) comprennent la modification de la cible, des systèmes d'efflux et des enzymes inactivatrices (Tableau 8) (Leclercq, 2002).

Le mécanisme le plus fréquemment en cause est la modification de la cible: le phénotype associant la résistance aux Macrolides, aux Lincosamides et au composé B des Streptogramines (phénotype MLSB constitutif) prédomine chez les SARM et est lié au gène *ermA* de nature transposable ; la résistance isolée aux Macrolides à 14 ou 15 atomes de carbone (phénotype MLSB inductible) se retrouve plus souvent chez les SARM et est liée au gène *ermC* d'origine plasmidique (Tableau 8) (Batard et al., 2005**).**

Tableau 8. Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux Macrolides et apparentés de *S. aureus* (Quincampoix et Mainardi, 2001).

Mécanismes	**Support génétique**	**Rôle**	**C14 /C15**	**C16**	**lin**	**SgB**	**SgA**	**syn**
Modification de cible	*ErmC* (ind.)	méthylase	R	S	S	S	S	S
	ermA (const.)	méthylase	R	R	R	R	S	S/I
Inactivation	*linA*	acétylase	S	S	R	S	S	S
	vat	acétylase	S	S	S	S	R	I/R
	vgb	hydrolase	S	S	S	R	S	R
Efflux		pompe	S	S	S	S	R	I/R
	mef	pompe	R	S	S	S	S	S
	msr	*pompe*	R	*S*	*S*	R	*S*	*S/I*

C14 / C15 : macrolides à 14 ou 15 atomes de C (Erythromycine, Azithromycine) ; **C16 :** Macrolides à 16 atomes de C (Spiramycine) ; **lin :** lincosamides (Clindamycine) ; **SgB :** Streptogramine B ; **SgA :** Streptogramine A ; **syn :** synergistines (Pristinamycine, quinupristine-dalfopristine) ; **S :** Sensible ; **I :** Intermédiaire ; **R :** Résistant ; **ind:** inductible ; **const:** constitutif.

3.3.5. Résistance aux Fluoroquinolones

Les Fluoroquinolones présentent l'avantage d'une bonne activité bactéricide, d'une bonne diffusion tissulaire et d'une excellente biodisponibilité permettant leur utilisation par l'os. Malheureusement, leur forte capacité à sélectionner des mutants résistants a fait apparaître en quelques années des taux de résistance très élevés chez le staphylocoque **(**Batard et al., 2005).

La résistance aux Fluoroquinolones est due à une modification de la cible (Danielle et Maryse, 2009), soit la topo-isomérase IV par mutation des gènes chromosomiques *grlA* ou *grlB*, soit les sous- unités de la gyrase, impliquées dans la synthèse de l'ADN bactérien, par une mutation au sein des gènes *gyrA* ou *gyrB*, ou à un système d'efflux grâce à une protéine transmembranaire codée par le gène chromosomique *norA* (Tableau 9) (Mayers et al., 2009)**.**

En France, la sensibilité de *Staphylococcus spp.* aux Fluoroquinolones concerne actuellement environ 60 à 70 % des souches, et principalement les souches résistantes à la Méthicilline (Decousser et al., 2003; Leclercq et al., 2003).

3.3.6. Autres antibiotiques

Le Linézolide, première molécule de la classe des Oxazolidinones, est un antibiotique bactériostatique commercialisé en France depuis 2001. Il n'a pas été décrit de résistance transférable au Linézolide, mais de rares cas de résistance par mutation sélectionnée en cours de traitement ont été rapportés (Woodford, 2005).

Actuellement, 80 à 90 % des souches de staphylocoque sont sensibles en France à la Rifampicine. Cet antibiotique fait l'objet d'une résistance par mutation chromosomique contre-indiquant son utilisation en monothérapie. La Rifampicine se révèle particulièrement active en association aux Glycopeptides ou aux Fluoroquinolones dans les modèles *in vitro* et *in vivo* de biofilm staphylococcique (Bertrand et al., 2004).

Comme les Fluoroquinolones et la Rifampicine, l'Acide-Fusidique et la Fosfomycine ne peuvent pas être utilisés en monothérapie du fait de l'émergence rapide de mutants résistants. Actuellement, environ 90 % des SARM sont sensibles en France à ces deux antibiotiques (Leclercq et al., 2003).

Le Tableau 9 résume les mécanismes de résistance de *S .aureus* aux antibiotiques.

Tableau 9 : Mécanismes de la résistance de *S. aureus* aux antibiotique (Lowy, 2003).

Antibiotiques	Gène de résistance (s)	Produit de géne (s)	Mécanismes (s) de résistance	Lieu (s)
β-lactamines	1) *blaZ*	β-lactamase	1) L'hydrolyse enzymatique de β-lactame	PI: Tn
	2) *mecA*	PLP2a	2) une affinité réduite pour PLP	C:SCC*mec*
Glycopeptides	1) Inconnu (VISA)	peptidoglycane modifié	1) Le piégeage de la vancomycine dans la paroi de la cellule	C
	2)	D-Ala-D-Lac	2) Synthèse du dipeptide avec affinité réduite pour la vancomycine	PI: Tn
Quinolones	1) *parC*	Composant	1,2) Des mutations dans la région QRDR, réduisant l'affinité de l'enzyme ADN-complexe de quinolones	C
	2) *gyrA* or *gyrB*	GyrA ou GyrB composants de gyrase		C
Aminoglycosides (par exemple, la gentamicine)	Des enzymes de modification des aminosides- (par exemple, *aac*, *aph*)	Acetyltransferase, phosphotransférase	Acétylation et / ou de phosphorylation des enzymes modifient aminoglycosides	PI, PI: Tn
Triméthoprime-sulfaméthoxazole (TMP-SMZ)	1) Sulfonamide: *sulA*	synthèse dihydroptéroate	1) La surproduction d'acide p-aminobenzoïque par enzyme	C
	2) TMP : *dfrB*	La dihydrofolate reductase (DHFR)	2) Affinité réduite pour DHFR	C
Oxazolidinones	*Rrn*	ARNr 23S	Affinité réduite pour DHFR mutations dans le domaine V de composant ARNr 23S du ribosome 50S des. Interfère avec la liaison ribosomique	C
Quinupristin-dalfopristin (Q-D)	1) Q : *ermA*, *ermB*, *ermC*	méthylases ribosomique	1) Réduire la liaison à la sous-unité ribosomale 23S	PI, C
	2) D: *vat*, *vatB*	Acetyltransferases	2) modification enzymatique de dalfopristin	PI

Pl, plasmide; **C**, le chromosome; **Tn**, transposon; **QRDR**, quinolone région de la résistance à déterminer.

3.4. Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques

Le Tableau 10 résume les Facteurs qui contribuent à la résistance aux antibiotiques.

Tableau 10 : Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques (Carle, 2010).

Facteurs	**Exemples**
Émergence de la résistance	-Usage abusif d'antibiotiques ; -Gravite accrue de l'état des malades hospitalises ; -Manque de fidélité au traitement ; -Durée trop courte ou dose sous-thérapeutique ; -Diagnostic non confirme d'infection bactérienne ; -Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement.
Propagation des souches résistantes	-Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux ; -Non-respect des directives de lutte contre les infections; -Promiscuité des patients hospitalises ; -Réduction du personnel infirmier et de soutien ; -Déplacements accrus des patients (transferts de patients colonises ou infectes entre hôpitaux et milieu communautaire) ; -Voyages internationaux.
Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire	-Animaux destines a la consommation ; -Agriculture et aquaculture
Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants	-Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc.

1. Matériel et Méthodes

Durant nos stages de Licence (2012) et de Master (2014) dans le laboratoire de Mila nous nous somme intéresser à isoler et identifier *Staphylococcus spp.* et a tester son antibiorésitance. Les résultats obtenus durant nos séjours sont renforcés par les résultats des analyses microbiologiques gardés dans l'archive du laboratoire de 28/01/2007 à07/04/2014.

1.1. Matériel

Le Tableau 11 résume tous les matériel et les réactifs utilisés au niveau de l'hôpital de Mila.

Tableau 11: Le Matériel et les réactifs utilisés dans le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Mila.

Matériel	**Réactifs**
➢ Matériel de prélèvement : aiguille, seringue et écouvillon ➢ Etuves d'incubation ➢ Autoclave ➢ Milieux de culture : Gélose au Sang Cuit, Gélose Nutritive, Gélose Chapman, Gélose Muller Hinton ➢ Verrerie. ➢ Bec Bunsen, Microscope (OPTIKA)	➢ Le violet de Gentiane ➢ Liquide de lugol (mordant) ➢ Alcool 96° ➢ Solution de fuchsine ou de safranine ➢ Plasma de lapin

1.1.1. Matériel biologiques

4372 prélèvements ont été analysés dans notre étude provenant de sujets hospitalisés dans différents services de l'Hôpital des frères Maghlawa de Mila ayant présentés des infections de sujets hospitalisés et non hospitalisés venus en consultation externe.

1.2. Méthodes

Selon l'origine du prélèvement il y'a plusieurs techniques de culture de *Staphylococcus spp.* utilisées dans l'Hôpital de Mila (Figure 7).

- **Hémoculture**

Les hémocultures sont le plus souvent utilisées pour mettre en évidence une septicémie à staphylocoque ou à germe dit anaérobie (c'est-à-dire n'utilisant pas l'oxygène pour se développer) et donc de mettre en évidence les antibiotiques actifs contre ces germes. Pour cela, les microbes sont mis dans un milieu de culture adapté à leur croissance. Les hémocultures doivent êtres prélevées avec certaines précautions. Il faut ainsi effectuer une détersion de la peau au savon suivie d'une antisepsie rigoureuse (alcool 70 %, puis polyvidone iodée- Bétadine®). Chez l'adulte un volume minimum de 10 ml par flacon est à prélever (Figure 7). Chez le nourrisson un flacon et un volume de 1 à 2 ml sont suffisants (flacon pédiatrique).

-Un étiquetage correct est indispensable. Il est utile de préciser le nom, le prénom du patient, le service ainsi que la température au moment du prélèvement, les signes cliniques, le diagnostic présomptif, l'éventuelle prise d'antibiotiques.

-Les hémocultures sont acheminées immédiatement au laboratoire et mises en incubation à 37°C pendant 7 à 10 jours.

-Elles sont repiquées dès qu'un trouble ou une hémolyse apparaît (témoignant d'une croissance visible) (Grosjeau et al., 2011).

- **Liquide Céphalo-rachidien "LCR"**

Le LCR est un liquide stérile. Ainsi une présence d'un micro-organisme est anormale quelque soit la bactérie. Le LCR doit parvenir au laboratoire le plus rapidement possible en raison de la fragilité de certains germes et de la gravité potentielle du diagnostic, à l'aide d'une aiguille à ponction lombaire (PL) et recueilli dans des tubes stériles accompagnés d'un minimum de renseignements cliniques (en particulier l'âge, le diagnostic présomptif, les traitements antibiotiques antérieurement reçus par le malade). La quantité moyenne collectée par écoulement en goutte du LCR suffisante pour la majorité des examens à réaliser est de 3 ml (Grosjeau et al., 2011).

- **Pus et sérosités**

Le prélèvement de pus est effectué par écouvillonnage pour les infections superficielles et par ponction à l'aide d'une seringue pour les infections profondes, il doit porter exclusivement sur le pus et éviter toute contamination. Ce produit pathologique étant souvent polymicrobien et est lui-même un excellent milieu de culture (Grosjeau et al., 2011).

- **Liquides de ponction**

Les liquides de ponction (liquide pleural, ponction d'ascite, liquide péritonéal, liquide péricardique, articulaire) sont stériles. Ainsi tous les micro-organismes retrouvés dans ces liquides doivent êtres identifiés. Toutes les bactéries de ces échantillons sont potentiellement pathogènes. Toutefois certaines sont plus fréquemment retrouvées. Il faut privilégier le transport dans un flacon hermétique sans bulle d'air à l'aide d'une seringue, et le transport au laboratoire doit être le plus rapide possible (Guiraud, 2012).

- **Urine**

L'urine est liquide biologique normalement stérile. Toute présence confirmée de bactéries dans l'urine intravésicale est pathologique. Il peut contenir des germes commensaux qui peuvent être emmenés par le flux urines. Le plus souvent une seule espèce est isolée. L'isolement de plusieurs espèces est en faveur d'une contamination lors du prélèvement, néanmoins de rares infections plurimicrobiennes existent. Les espèces pathogènes différentes suivent les terrains (Grosjeau et al., 2011).

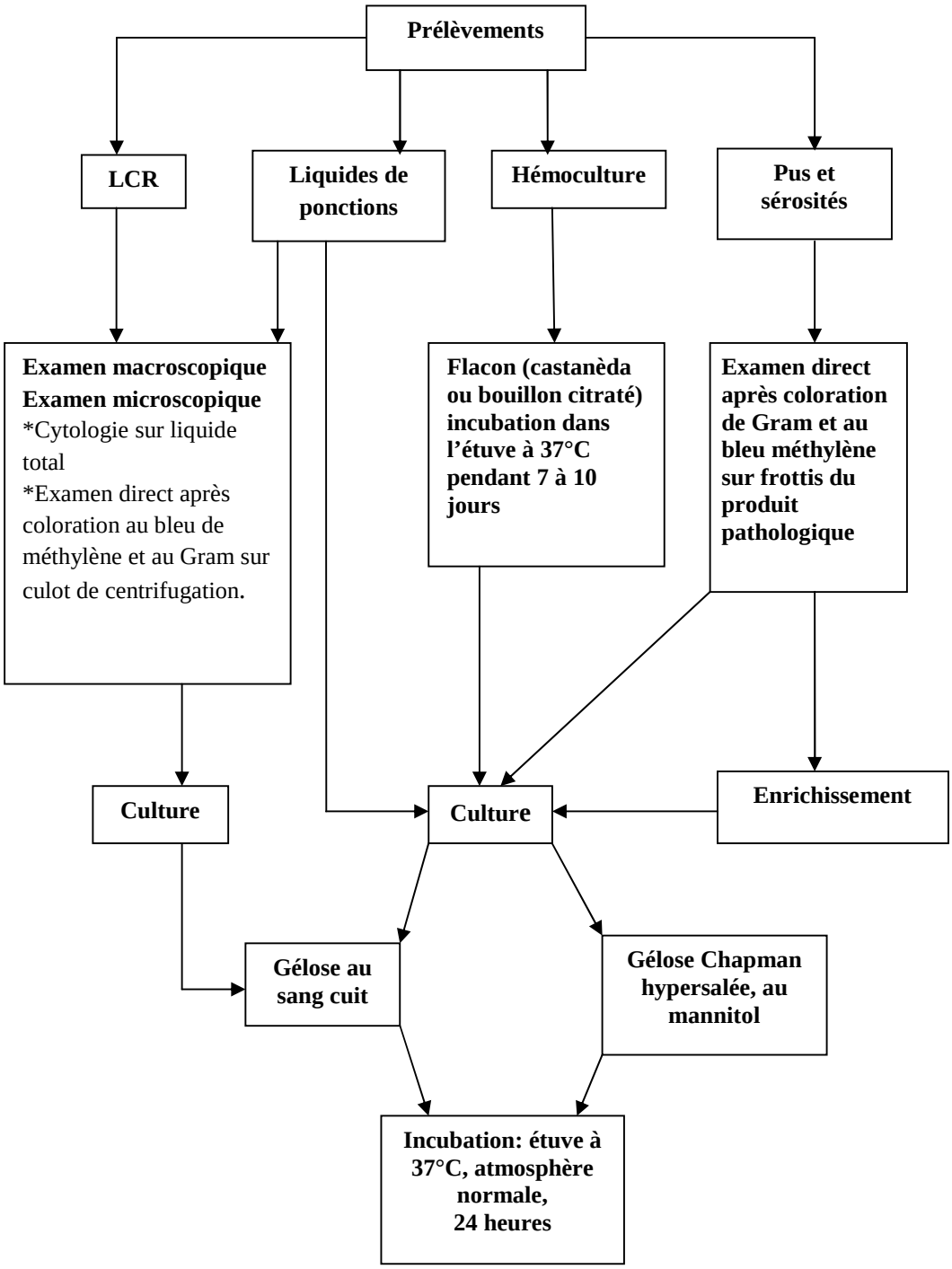


Figure 7: Protocole de recherche de *Staphylococcus spp.* dans les produits pathologiques utilisée dans l'Hôpital de Mila.

1.2.1. Isolement et purification de cultures

1.2.1.1. Milieux d'isolement

- **Milieu de Chapman**

Son pouvoir inhibiteur est obtenu par de fortes concentrations de Chlorure de Sodium (7,5% ou 75g L^{-1}) qui sélectionnent les micro-organismes halophiles parmi lesquels figurent les *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, certains *Bacillus*, certaines Levures et même de rares bacilles gram- (Jean et Guy, 2006; Magniez, 2009).

- **Gélose nutritive**

Utilisée en bactériologie médicale, elle constitue un excellent milieu de culture, elle permet le développement de la plupart des microorganismes, parmi eux le staphylocoque. La bactérie étalée à la surface de la gélose formera autant de colonies qu'il y avait des bactéries à l'origine (Jean et Guy, 2006).

- **Gélose au Sang Cuit**

Elle permet la lecture d'un caractère important lors de la détermination du germe : l'hémolyse. Le sang peut être d'origines diverses : cheval, mouton, lapin, homme, bœuf (attention certains germes présentent un type d'hémolyse sur un sang et un autre type d'hémolyse avec un autre sang). Obtenu en ajoutant 5ml de sang cheval pour chaque 100ml de gélose ordinaire préalablement fondue et refroidie à 70°C, la température est maintenue à 70°C pendant 10 minutes. Le milieu est refroidi à 50°C avant de le couler en boîtes de Pétri pour éviter la condensation des globules rouges (Jean et Guy, 2006).

1.2.1.2. Milieux d enrichissement « cœur-cervelle »

Enrichir, c'est augmenter la représentation (proportion) d'un sous-groupe de micro-organismes dans un ensemble plus vaste. Un milieu d'enrichissement (cœur-cervelle) réunit ces caractéristiques : C'est un milieu liquide, afin que son action sélective s'exerce sur une population importante et homogène. Un échantillon du prélèvement est introduit dans 5 ml de bouillon nutritif (cœur-cervelle), Il permet après une incubation à 37°C pendant 24 heures d'obtenir une multiplication des micro-organismes (même si initialement dans le prélèvement ils sont en faible nombre). Ce bouillon est utilisé pour la culture des staphylocoques pour le test coagulase (Delarras, 2007).

1.2.1.3. Isolement

- **Isolement direct**

Les souches isolées dans l'Hôpital de Mila ont été ensemencées, sur les milieux d'isolement (GN ou milieu de Chapman). Selon leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques, celles qui présentent un aspect caractéristique à celui des staphylocoques sont ré-isolées à l'aide d'une pipette Pasteur, et sont ensemencées en stries selon la méthode des quatre quadrants de telle manière à obtenir des colonies bien isolées, après une incubation à 37°C pendant 24 heures (Denis et al., 2007).

- **Isolement âpres l'enrichissement**

A partir du tube contenant le bouillon nutritif, un échantillon du prélèvement est ensemencé sur le milieu d'isolement. L'incubation est faite à 37°C pendant 18 à 24 heures (Guiraud, 2012).

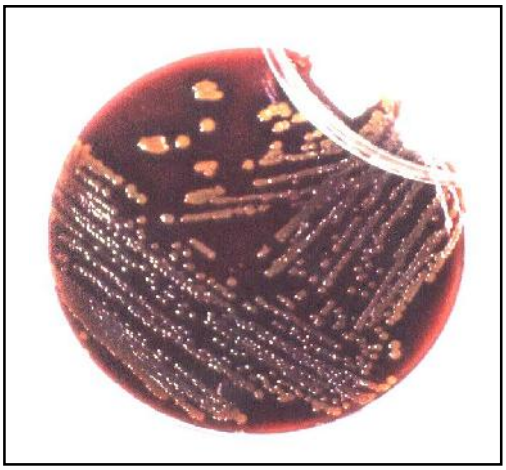
1.2.2. Caractéristiques des colonies

1.2.2.1. Aspect macroscopique

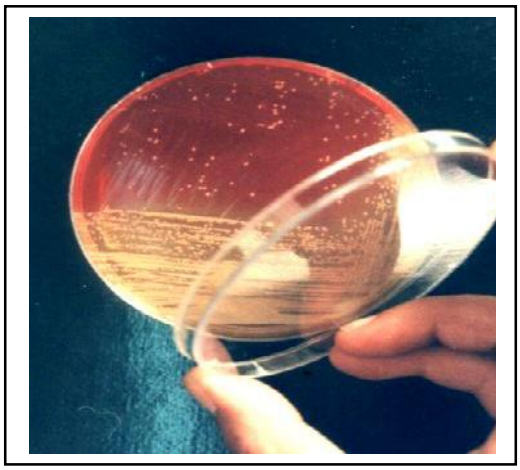
Le Tableau 12: résume les caractéristiques macroscopiques

Tableau 12 : les caractéristiques macroscopiques des colonies de *S. aureus* dans les milieux de culture (Figure 8) (Jean et Guy, 2006; Grosjeau et al., 2011).

Milieux	Mode d'ensemencement	Sélectivité / composition	Caractère diagnostique
Milieu de Chapman	L'ensemencement doit être massif, en stries serrées ou par inondation	Ce milieu contient un inhibiteur: fortes concentrations en Chlorure de Sodium (75 $g.L^{-1}$)	- Les colonies sont souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune - Fermentent le mannitol - Font virer le milieu du rouge au jaune orangé
Gélose Nutritive	Ensemencement par isolement	/	- Les colonies sont lisses - Pigment jaune
Gélose au Sang Cuit	Isolement	L'amidon de maïs neutralise les substances toxiques libérées par les cultures	- Les colonies sont circulaires volumineuses, opaques - Eventuellement pigmentées et de couleur jaune doré et légèrement bombées ou aplaties



Gélose au sang cuit



Milieu Chapman

Figure 8 : Aspect des colonies de *S. aureus* sur les milieux de culture.

1.2.2.2. Aspect microscopique

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur gélose au sang cuit présentant l'aspect caractéristique du staphylocoque Gram+. Aussi, elle peut être réalisée à partir du milieu Chapman, pour confirmer la présence de cocci en diplocoque et en grappes de raisin (Guezlane et al., 2010 ; Senouci et Abdelouahgid, 2010).

- **Méthode de la coloration de Gram**

Les réactifs utilisés sont présentés dans l'Annexe 01.

- Préparer la lame et les échantillons bactériens à examiner, issus d'une culture de *S. aureus.*

- L'étalement doit se faire en couche mince et régulière avec une pipette Pasteur, sur une lame propre dégraissée.

- Laisser sécher à l'air libre, ou approcher la lame à15-20 cm au-dessus de la flamme du bec bunsen.Le frottis doit devenir terne mais ne doit ni brunir, ni bruler.

- L'étape de fixation qui suit, consiste à tuer les bactéries, à rendre les membranes plus perméables, à fixer les structures sans trop insister sous peine de carboniser le frottis ; sinon tenir la lame avec une pince et écraser trois fois la flamme avec la lame, le frottis est prêt à suber une coloration.

- Couvrir la lame de violet de gentiane et laisser agir 2 min. Jeter l'excès de colorant.

- Egoutter sans rincer et faire deus bains de lugol dont chacun dure 45 secondes.

- Egoutter et plonger la lame dans l'alcool 96°C durant 30 secondes exactement. La décoloration trop forte comme la décoloration trop faible étant des sources d'erreurs.

- Arrêter la différenciation par un lavage doux et abondant à l'eau distillée.

- Recolorer les germes décolorés par le différenciateur, en faisant agir sur la préparation un colorant de contraste, la fuchsine ou la safranine filtrée pendant 2 minutes.

- Laver à l'eau distillée et sécher la lame au-dessus de la flamme.

- Observer à l'objectif à immersion et dessiner les bactéries se trouvant dans un champ microscopique moins riche, dans la périphérie de la préparation (Denis et al., 2007; Guezlane et al., 2010 ; Senouci et Abdelouahgid, 2010).

1.2.3. Purification et conservation des souches isolées

Pour la conservation des souches de staphylocoque, on utilise une culture sur milieu gélosé (gélose nutritive ou gélose trypcase soja). A l'aide d'une anse de platine bien chargée en germes effectuer plusieurs piqures centrales. Pour les bactéries aérobies, ensemencer en surface. Incubes à 37°C maximum pendant 24 heures. Une souche bactérienne ainsi ensemencée dans ce milieu peut se conserver un an à température ambiante et trois ans à 4°C (Guiraud, 2012).

1.2.4. Identification

A partir des colonies présomptives de staphylocoques (le plus souvent *S. aureus*), éventuellement de microcoques ou ex-microcoque, il peut être demandé :

- De confirmer simplement des souches isolées.

- D'identifier biochimiquement ces souches et d'effectuer éventuellement des testes immunologiques.

Mais auparavant il faut toujours vérifier la pureté des souches et s'assures qu'il s'agit de cocci à $Gram^+$.

1.2.4.1. Pré-identification

Les souches pures de cocci Gram+ doivent tout d'abord être soumise à une pré-identification en procédant aux tests présentés dans le paragraphe suivent ;

- **Test catalase**

Ce test permet de différencier les cocci Gram+ : Des familles des *Micrococcaceae, Dermanococcaceae* et *Staphylococcaceae* catalase+.

Prendre une lame porte objet propre. Déposer sur celle-ci une goute d'eau oxygénée à 10 volume et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose au sang cuit. Effectuer le test sur les souches à caractériser et observer. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase + (Delarras, 2007).

1.2.4.2. Confirmation des souches de *Staphylococcus aureus*

Cette confirmation fait appel le plus souvent au test coagulase libre lorsqu'il s'agit de colonies caractéristiques de *S. aureus* sur les milieux d'isolement précité et autre test peuvent être pratiqué : test thermonucléase.

- **Test coagulase libre**

Parmi les cocci à Gram positif et catalase positive, les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma de lapin en 24 heures à 37°.

- **Protocole**

- Ensemencer un tube de bouillon Staphlocoagulase à partir d'une culture pure de la souche de staphylocoque à étudier.

- Incuber la culture à 37°C pendant 18 heures.

- Puis mélanger dans un tube à hémolyse stérile 0.5 ml de plasma de lapin réhydraté et 0.5 ml de la culture en bouillon de la souche.

- Incuber le mélange à l'étuve à 37°C pendant 24 heures (Jean et Guy, 2006; Denis et al., 2007).

- **Test thermonucléase**

La thermonucléase est une endonucléase résistante aux températures élevées (15 minutes à 100°C) qui est caractéristique des souches de S. aureus d'origine animale ou humaine (Denis et al., 2007; Delarras, 2007).

- **Protocole**

- Repiquer la souche à identifies dans un tube de bouillon cœur-cervelle bio rad.

- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures dans une étuve ou dans un bain-marie agité pendant 3 à 4 heures.

- Chauffer la culture en bouillon cœur-cervelle à 100°C pendant 15 minutes, puis laisser refroidir.

- Prendre une boite de Pétri de milieu ADN-bleu de toluidine dont la surface a été séchée. Découper à l'emporte-pièce, dans ce milieu, 4 à 6 puits de 4 à 5 mm de diamètre.

- A l'aide d'une pipette pasteur stérile remplir totalement un puits avec quelques µl (8µl au minimum) de la culture. Remplir autant de puits qu'il y a de souches à étudier.

1.2.5. L'antibiogramme

L'antibiogramme définit in vitro la sensibilité des bactéries pathogènes. On utilise largement la méthode des disques, qui permet de voir le diamètre d'inhibition de croissance autour des disques imprégnés d'antibiotiques. Cette méthode standardisée donne de bons résultats en pratique (Monteil, 1996).

C'est la méthode la mieux standardisée, utilisée en routine et d'un coût raisonnable mais qui est peu discriminante. L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion sur milieu gélosé selon les normes préconisées par le *Clinical Laboratory Standard institute* (*CLSI)* (Rebiahi et al., 2011).

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement (gélose nutritive, Chapman). Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont

raclées à l'aide d'une anse de platine, déchargée dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Le milieu Mueller-Hinton (MH) (Annexe 2), coulé en boites de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm est utilisé, l'enrichissement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boite de 60°C à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'une boite de Pétri est ensemencée (Guiraud, 2012).

1.2.5.1. Les antibiotiques testés

Pour l'étude de la sensibilité du *S .aureus* aux antibiotiques, quatorze antibiotiques connus pour être actifs sur cette bactérie sont testés. Ils appartiennent à différentes familles représentées dans Annexe 3.

1.2.5.2. Application des disques d'antibiotiques

Il est préférable de ne pas mettre plus de six disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre (Figure 9). Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.

Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince stérile ou à l'aide d'un distributeur. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont, ensuite, incubées immédiatement pendant 18 heures en atmosphère ordinaire à 37°C.

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture, puis la bactérie est classée dans l'une des catégories: sensible, intermédiaire ou résistante (Annexe 4).

La souche de contrôle de qualité est *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 traitée dans les mêmes conditions que la souche à tester. Ce contrôle valide le résultat du test et permet de contrôler les disques d'antibiotiques et la qualité du milieu Mueller-Hinton.

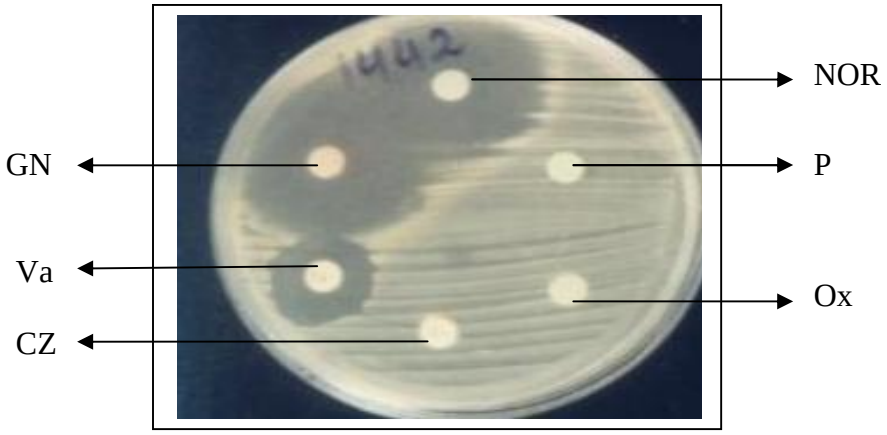


Figure 9: Application des disques d'antibiotiques

1.2.6. Identification de *S. aureus* résistant à la Méthicilline

Le Tableau 13 résume Identification de *S. aureus* résistant à la Méthicilline.

Tableau 13: Identification de *S. aureus* résistant a la Méthicilline (Swenson et Tenover, 2005)

	Staphylococcus aureus
Antibiogramme Céfoxitine (30µg)	≤19 mm Résistant
Test de confirmation	Screening test à l'Oxacilline (MH + 4%NaCl + 6µg d'Oxacilline)

- **Test de diffusion du disque de Céfoxitine**

La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl pénicillines (Oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de Céfoxitine (30 µg), en plus du disque d'Oxacilline lui même dans les conditions standard.

La lecture du diamètre d'inhibition doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse (Swenson et Tenover, 2005).

- Si le diamètre de la Céfoxitine est ≤19 mm, la souche est dite résistante à l'Oxacilline.

- Si le diamètre de la Céfoxitine est ≥20 mm, la souche est dite sensible à l'Oxacilline.

Devant tout problème d'interprétation, un test de confirmation par la technique du screening à l'Oxacilline est réalisé (test MRSA) **(**Rahal et al., 2008).

- **Test de screening à l'Oxacilline pour *S. aureus***

Devant tout problème d'interprétation du diamètre d'inhibition de la Céfoxitine faire un screening test. Ce test concerne uniquement *Staphylococcus aureus* et est réalisé selon la méthode suivante :

- **Milieu**

- Gélose Mueller Hinton addition de 4% de NaCl, et de 6µg/ml d'Oxacilline (Rebiahi et al., 2011).

- La préparation de la solution d'Oxacilline se fait de la manière suivante :

Diluer 6mg d'Oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1g) dans 10ml d'eau distillée stérile, puis faire une dilution au dixième. Répartir la solution obtenue à raison de 2ml par tube ; ainsi conditionnées ces solutions peuvent être conservées à -20°C pendant une semaine, au bout de laquelle elles doivent être renouvelées.

- Mettre 2ml de cette solution dans une boite de 90 mm de diamètre, ajouter 18ml de gélose Mueller Hinton additionnée de 4% de NaCl. Mélanger en faisant des mouvements rotatoires. L'inoculum est réalisé de la même manière que celui de l'antibiogramme.

La boîte de Pétri est divisée en quatre cadrant: un est ensemencé par la souche à tester, deux par les souches de références: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 souche sensible à l'Oxacilline et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 souche résistante à l'Oxacilline. Le quatrième cadrant est non ensemencé.

La boîte est ensuite incubée pendant 24 heures à 37°C en atmosphère normale. La poussé de plus d'une colonie suffit pour indiquer une résistance à l'Oxacilline, impliquant une résistance à toutes les bêta-lactamines (ensemencement en masse) (Rahal et al., 2008).

1.2.7. Recherche de la β-lactamase.

La recherche de la β-lactamase est réalisée pour toute souche présentant un diamètre à la Pénicilline ≤ 29 mm**.**

A partir d'une culture pure de 18 h de la souche à étudier, une subculture en bouillon nutritif (coeur-cervelle) est réalisée ainsi que pour les souches de références.

La souche de *S. aureus* ATCC 25923 sensible à la pénicilline (témoin négatif) est ensemencée sur la totalité de la gélose Mueller-Hinton puis un disque de Pénicilline G est appliqué au centre de la boîte. Une nouvelle fois, cette même souche est ensemencée en strie radiale sur cette même boîte du centre vers la périphérie. De la même manière, sont ensemencées la souche *S. aureus* ATCC 43300 résistante à la Pénicilline (témoin positif) et la souche à tester.

La boîte est incubée pendant 18 heures à 37°C en atmosphère normale.

La production de la β-lactamase (pénicillinase) par la souche à étudier et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la Pénicilline) jusqu'au contact du disque de Pénicilline (Rahal et al., 2005).

2. Résultats et Discussion

2.1. Prélèvements

Un total de 260 souches de *Staphylococcus spp.* a été isolé entre le 28/01/2007 et 07/04/2014, à partir de 4372 prélèvements au Laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital de Mila. Il s'agit de prélèvement d'hémocultures, de pus, sérosité, ponctions et urines.

2.2. Résultats des cultures bactériennes

Sur 4372 prélèvements analysés, 1294 se sont révélés positifs Tableau 14, soit un taux de 29.59% (près du 1/3 des prélèvements), alors que 63.26% sont négatifs. Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui, après culture sur les différents milieux utilisés, montrent un développement bactérien. Ce taux de positivité est assez élevé, mais il faut noter que l'interprétation des résultats est parfois difficile. En effet, il n'est pas toujours aisé de distinguer entre la simple colonisation ou même la contamination d'une véritable infection, vu le manque d'informations sur les bons de demandes d'examens.

Tableau 14 : Résultats des cultures bactériennes.

Culture	Nombre	Pourcentage
Positive	1294	29.59%
Négative	2766	63.26%
Contaminée	312	7.13%
Total	**4372**	**100%**

Nous constatons aussi, que 312 prélèvements se sont révélés contaminés **(**Tableau 14**) (**Figure 10) (7.13%) (Un prélèvement est déclaré contaminer si nous isolons 03 germes et plus). Cette contamination peut avoir 02 origines; soit au niveau du patient donc au cours du prélèvement lui-même, soit au laboratoire au cours du traitement. Dans les deux situations, la principale cause est le manque d'hygiène qui engendre l'inoculation de bactéries de l'environnement qui ne sont pas en relation avec l'infection mais qui peuvent coloniser le malade (dans le cas de la contamination chez celui-ci) et provoquer chez lui des infections nosocomiales **(**Tableau 14**) (**Figure 10).

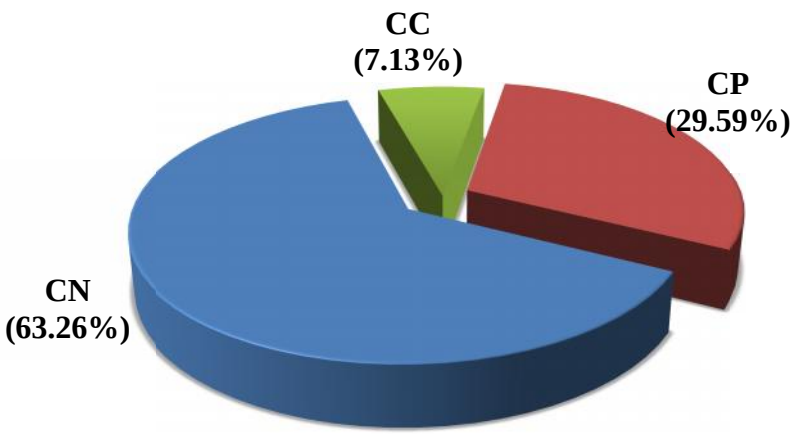


Figure 10: Incidence des prélèvements selon les résultats des cultures bactériennes.

CP : Culture Positive, **CN :** Culture Négative, **CC :** Culture Contaminée

2.3. Incidence totale de *Staphylococcus spp.*

Sur les deux milieux de cultures (Chapman, Gélose au sang cuit), les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus* ont été prélevées. Le développement bactérien sur le milieu de Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (Entérocoques) peuvent y être cultiver (Carbonnelle et al., 1990). Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleur blanche. Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à 37°C.

Sur gélose au sang cuit, les colonies ont une couleur blanche ou jaune pigmentée, d'un diamètre variant entre 1 à 3 mm de diamètre, après 24 heures d'incubation à 37°C. Il faut noter que si la culture est négative sur les milieux solides, un repiquage est réalisé sur ces mêmes milieux dans le cas d'apparition d'un trouble sur le milieu d'enrichissement du prélèvement après 24 heures d'incubation à 37°C. La totalité des souches de *Staphylococcus spp.* isolées répondent aux caractéristiques macroscopique et microscopique du genre *Staphylococcus*.

Nous notons, que sur 1294 prélèvements positifs, 260 souches appartiennent au genre *Staphylococcus*, soit une fréquence de près de 20.09% (260/1294) Tableau 15. Ce taux élevé démontre l'importance de l'infection (ou du portage) par ce germe dans l'hôpital de Mila.

Tableau 15: Incidence totale de *Staphylococcus spp.* isolée dans l'hôpital de Mila.

Total des cultures positives	Total des staphylocoques isolés	Pourcentage
1294	260	20.09%

2.4. Identification de l'espèce *S. aureus*

L'étude bactériologique nous a permis d'isoler 236 souches qui se sont avérées des cocci à Gram positif, immobiles, aéro-anaérobies facultatives possédant une catalase, une coagulase et une thermonucléase; ce qui a permis de les assigner à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

Cette identification a révélé une prédominance de cette espèce par rapport aux staphylocoques à coagulase négative (Figure 11).

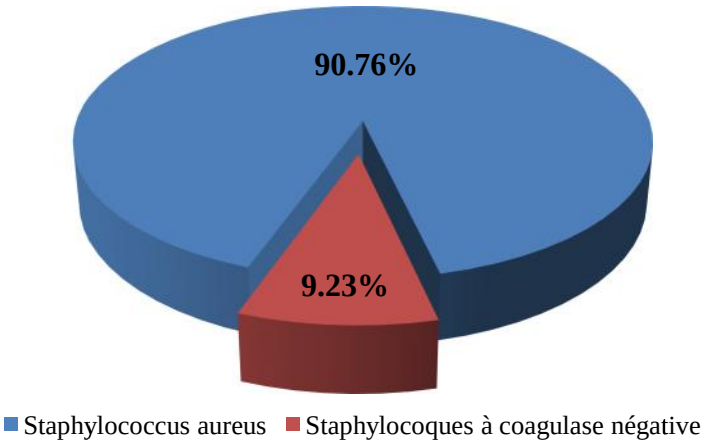


Figure 11: Incidence d'isolement de *S. aureus* par rapport aux *Staphylococcus spp.* à coagulase négative.

2.5. Incidence de *S. aureus* selon l'âge, le sexe, la nature de prélèvement et les services

Nos résultats représentent un taux de 90.76% de *S. aureus* sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus spp.* Isolées (236/260), 18.24% sur la totalité des prélèvements qui se sont avérés positifs (236/1294) et 5.40% sur la totalité des prélèvements examinés (236/4372) (Tableau 16). Contrairement, nos résultats sont inférieur à ceux trouvés par Catry et al., (2008) qui ont rapporté un taux d'isolent de *S. aureus* est de 25,6% par apport aux autres espèces.

Tableau 16 : Incidence d'isolement de *S. aureus*

Nombre de nature de prélèvement total	**Cultures positives bactérienne**	**Nombre de souches de *Staphylococcus Spp*.**	**Nombre de souches de *S. aureus***	**% de *S. aureus* par rapport aux nombre pvts total**	**% de *S. aureus* par rapport aux cultures positives**	**% de *S. aureus* par rapport aux souches de *Staphylococcus Spp.***
4372	1294	260	236	5.4%	18.24%	90.77%

2.5.1. Incidence de *S. aureus* selon l'âge

L'un des facteurs à risque liés aux patients est l'âge. L'Age moyen des patients dans notre étude (39 ans) était inferieur à celui mentionné chez Sfeir et al. (2013) (51 ans). Nos résultats montrent que la majorité des patients ayant une infection à *S. aureus* (38.74%) ont une tranche d'âge entre 21 et 40 ans, 25.22% ont une tranche d'âge entre 0 et 20 ans. Une proportion non négligeable (12.61%) a un âge supérieur à 61 ans, cependant elle reste la plus faible (Figure 12). Donc toutes les tranches d'âge sont concernées chez les patients étudiés dans notre étude (Tableau17).

Tableau 17: Incidence de *S. aureus* selon l'âge.

Patient	**Nombre**	**Pourcentage**
0-20	28	25.22%
21-40	**43**	**38.74%**
41-60	26	23.42%
60-100	14	12.61%
Total	**111**	**100%**

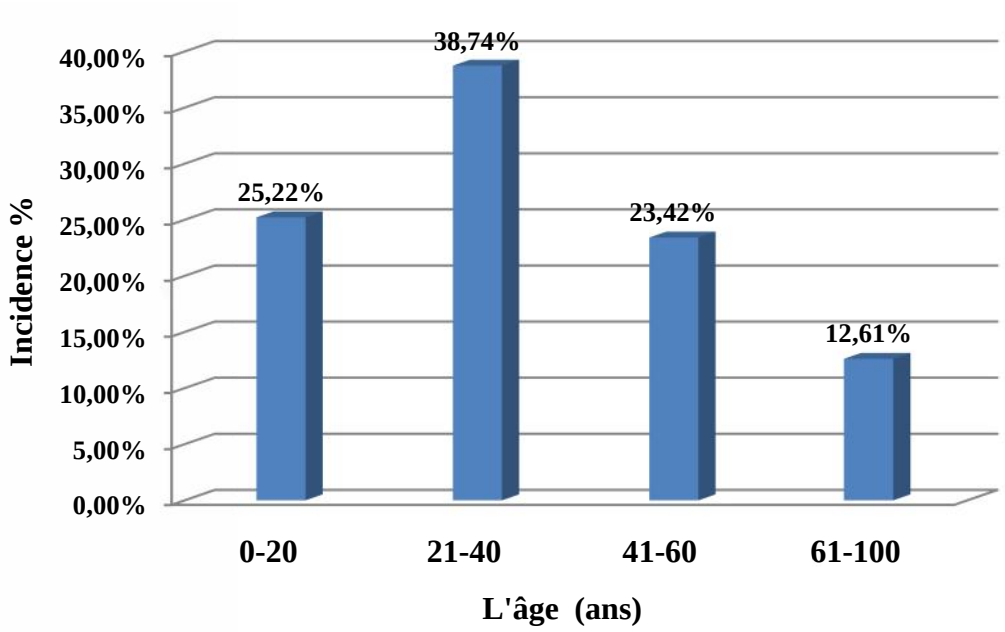


Figure 12: Incidence de *S. aureus* selon l'âge

Ce résultat ne concorde pas avec la littérature qui souligne que l'âge est un facteur de risque infectieux aux deux extrémités de la vie, avant 1 an et après 75 ans (Cruse et al., 1980). Les études ont montré que les patients âgés de 65 ans et plus paraissaient plus exposés aux infections, confirmant le fait que l'âge avancé constitue un facteur de risque de développer une infection nosocomiale (Brun-Buisson et Girou, 2000; Al-Hajje et al. 2012; Anonyme 1, 2012). Une autre étude prospective conduite sur 2 ans par Bochicchio et al. (2001), a montré que le risque relatif d'infection nosocomiale chez le polytraumatisé était multiplié par 2,2 chez les patients de plus de 65 ans. Nos résultats obtenues dans l'hôpital de Mila nécessite des investigations plus approfondies.

2.5.2. Incidence de *S. aureus* selon le sexe

Il a été remarqué que les femmes sont plus infectées que les hommes par *S. aureus* avec un taux de 62% et 38% respectivement (Figure 13). Par contre, Oberholzer et al. (2000) ont rapporté que le sexe constitue un facteur de risque d'infection, et ils ont montré dans leur étude sur les polytraumatisés que l'incidence des infections était augmentée de façon significative chez l'homme (30.7 %) par rapport chez les femmes (17.0 %). Aussi, Sfeir et al. (2013) dans leur étude sur 1526 patients ont montré que la distribution de *S. aureus* a été de 12.12% chez les hommes et 5.69% chez les femmes.

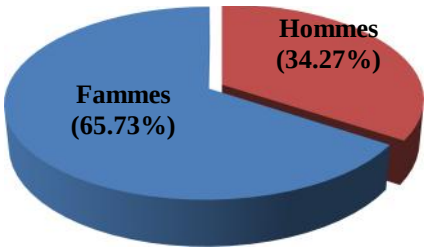


Figure 13: Incidence de *S. aureus* selon le sexe dans l'Hôpital de Mila.

2.5.3. Incidence de *S. aureus* selon la nature du prélèvement

Les souches de *S. aureus* ont été isolées à partir d'une grande variété du prélèvement, principalement les prélèvements de pus et sérosités avec approximativement 90% (Tableau 18, Figure 14). En effet, le site préférentiel des infections à *S. aureus* est cutané (Elazhari et al., 2010). D'autre part, les *S. aureus* sont isolés dans différents sites et se trouvent dans d'autres prélèvements tels que les urines, les hémocultures et les ponctions avec des fréquences faibles de 6.78%, 2.12% et 0.84% respectivement (Tableau 18, Figure 14). Benouda et Elhamzaui, (2009) dans le centre Hospitalier Universitaire Internationale Cheikh Zaid (HCZ) de Rabat, (Maroc), qui ont confirmé aussi que la répartition de *S. aureus* dépendait, également, de la nature du prélèvement et était de 19% dans les pus, 10.7% dans les hémocultures, 6.1% dans les liquides de ponction, 1.5% pour les urines.

Tableau 18 : Incidence de *S. aureus* selon la nature du prélèvement dans l'hôpital de Mila.

Nature du prélèvement		Nb pvt de *S. aureus*	Pourcentage	% Total
Hémocultures		5	2.12%	2.12%
Ponctions	**LCR**	1	0.42%	0.84%
	PA	1	0.42%	
Pus et sérosités	**P**	113	47.88%	90.25%
	PV	83	35.17%	
	G	12	5.08%	
	EM	5	2.12%	
Urines		16	6.78%	6.78%
Total		**236**	**100%**	**100%**

Nb pvt : Nombre de prélèvements, **LCR:** Liquide Céphalo-Rachidien, **PA :** Ponction d'Ascite **P :** Pus**, G :** Gorge, **EM :** Ecoulement Mammaire, **PV :** Prélèvements Vaginal

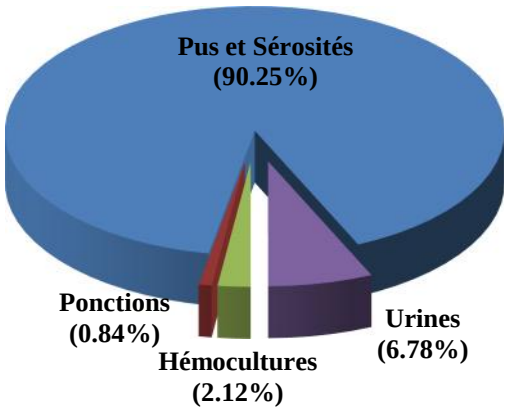


Figure 14: Incidence de *S. aureus* selon la nature du prélèvement dans l'hôpital de Mila.

2.5.3.1. Incidence de SARM selon la nature du prélèvement

Les résultats de notre étude indiquent qu'un grand nombre de 120 souches de SARM sur 213 souches de *S. aureus* sont présentes dans le pus et sérosité avec une fréquence de 93.75% (Tableau19, Figure 15), les 6 autres souches ont été isolées à partir d'urine et deux hémocultures. De plus, ces résultats confirment ceux déjà décrits [voir rubrique: Incidence de *S. aureus* selon la nature du prélèvement] et montrent également que les infections à *S.*

aureus résistants à la méthicilline sont principalement cutanées et quand elles sont sévères une septicémie peut être observée.

Tableau 19 : Incidence de SARM et SASM selon la nature du prélèvement dans l'hôpital de Mila.

Type de pvt des cultures bactériennes		Nb de pvt de *S. aureus*	Nb des SARM	Nb des SASM	% des SARM	% des SASM	% Total De SARM	% Total de SASM
Hémocultures		5	2	3	1.56%	2.78%	1.56%	2.78%
Ponctions	**LCR**	1	0	1	0%	0.92%	0%	1.84%
	PA	1	0	1	0%	0.92%		
Pus et Sérosités	**P**	113	70	43	54.69%	39.81%	93.75%	86.75%
	PV	83	45	38	35.16%	35.18%		
	G	12	3	9	2.34%	8.33%		
	EM	5	2	3	1.56%	2.78%		
	Total	**213**	**120**	**93**				
Urine		16	6	10	4.69%	9.26%	4.69%	9.26%
Total		**236**	**128**	**108**	**100%**			

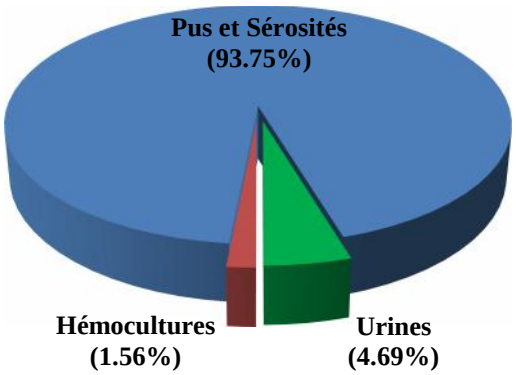


Figure 15: Incidence de SARM selon la nature du prélèvement dans l'hôpital de Mila.

L'incidence de SARM a été également variable en fonction de la nature du prélèvement (Figure 15). Le taux plus élevée de SARM a été constaté dans le pus et sérosité avec 93.75%. Les urines représentent la deuxième source de SARM avec 4.69%, suivie des hémocultures avec 1.56%. Alors que le SARM a été absent dans les ponctions.

2.5.4. Incidence de *S. aureus* selon les services

Le Tableau 20 et la Figure 16, montrent que presque la quasi-totalité 196/236 (80.05%) des souches de *S. aureus* ont été isolé des prélèvements externes (communautaires). Concernant les prélèvements hospitaliers, *S. aureus* a été isolé dans 20 cas (50%) dans les services de médicaux, 12 cas (30%) dans les services chirurgicaux (Tableau 20) (Figure16). Contrairement, nos résultats dans les services chirurgicaux sont légèrement supérieurs à ceux retrouvés par Daube et al. (2003) dans leur étude sur les infections cutanées à *Staphylococcus aureus* résistant à la Méthicilline et producteur de leucocidine de Panton Valentine, qui ont isolés 6 souches de *S. aureus* (26 %) dans les services chirurgicaux.

D'autre part, 5 cas (12.5%) et 3 cas (7.5%) ont été enregistrés respectivement dans les services de pédiatrie et d'urgences médicales de réanimation. Benouda et Elhamzaui, (2009) dans leur étude au Maroc ont trouvé le taux d'isolement de 10 % dans le service d'urgence médicale de réanimation.

Tableau 20: Incidence de *S. aureus* selon les services hospitaliers.

Services		**Nb de *S. aureus***	**% de *S. aureus***	**% Total**
Services Médicaux	Maladies infectieuses	16	40%	50%
	Maladies internes	4	10%	
Services Chirurgicaux	Maternité	6	15%	30%
	Urgences Chirurgicales	6	15%	
Pédiatrie		5	12.5%	12.5%
Urgences Médicales	Réanimation	3	7.5%	7.5%
Total		**40**	**100%**	

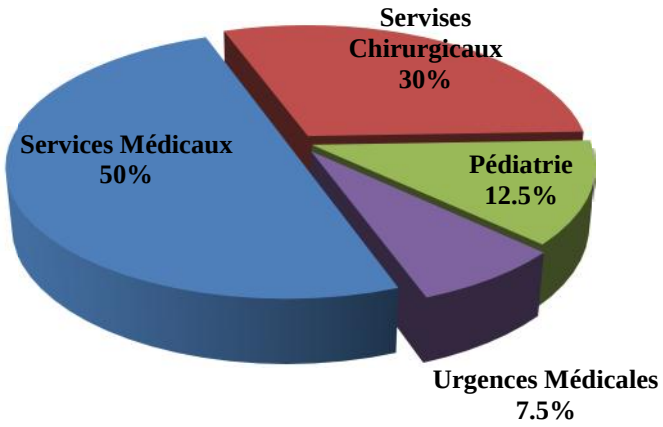


Figure 16: Incidence de *S. aureus* selon les services hospitaliers à l'hôpital de Mila.

2.5.4.1. Incidence de SARM selon les services

Les SARM sont présents dans de nombreux services du CHU mais à des taux différents (Tableau 21, Figure 17). Les SARM sont présents dans les services médicaux essentiellement le service des Maladies infectieuses avec 10/16 (62.5%) des isolats, suivi par le service de médicaux interne 2/4 (50%), les Services Chirurgicaux 2/12 (16.66%), Pédiatrie 3/5 souches (60%). Le service urgences médicales de réanimation a enregistré 3/3 souches (100%). Belabbès et al. (2001) par étude résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* isolé des infections communautaires et hospitalières à Casablanca a trouvé dans les services de chirurgie un taux de 46,2% de SARM. Et Par Benouda et Elhamzaui, (2009) en Maroc Ces souches provenaient essentiellement des services de réanimation (15/25) suivis des services de chirurgie (5/25) et de médecine (5/25).

Tableau 21: Incidence de SARM selon les services hospitaliers

Services		Nb de SARM	% des SARM	% Total SARM
Services Médicaux	Maladies infectieuses	10	50%	60%
	Médecine interne	2	10%	
Services Chirurgicaux	Maternité	1	5%	10%
	Urgences Chirurgicales	1	5%	
Pédiatrie		3	15%	15%
Urgences Médicales	Réanimation	3	15%	15%
Total		**20**	**100%**	

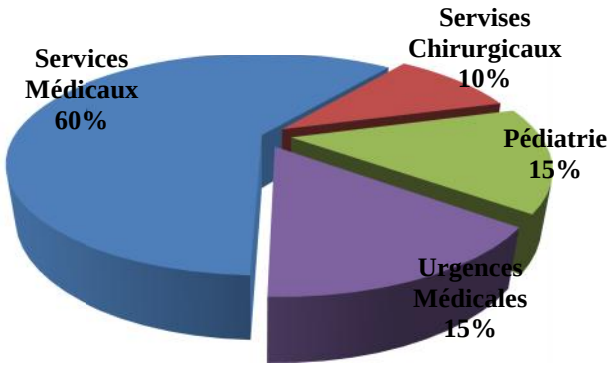


Figure 17: Incidence de SARM selon les services hospitaliers.

2.6. Résistance aux antibiotiques de *S. aureus*

Les tests d'évaluation de la résistance aux antibiotiques ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique en gélose à partir de disques imprégnés d'antibiotiques, selon les recommandations du NCCLS.

La Figure 16 illustre le caractère de 128 souches de *S. aureus* résistant à la Méthicilline (Oxacilline) (SARM) par rapport 236 souches de *S. aureus.* Le SARM a présenté une résistance à 100 % croisée aux β-lactamines qui s'étendent à d'autres familles d'antibiotiques réduisant ainsi le choix des molécules thérapeutiques. La totalité (100%) des SARM isolées dans ce travail sont avérés également résistants à la Pénicilline, l'augmentions et la Céfazoline.

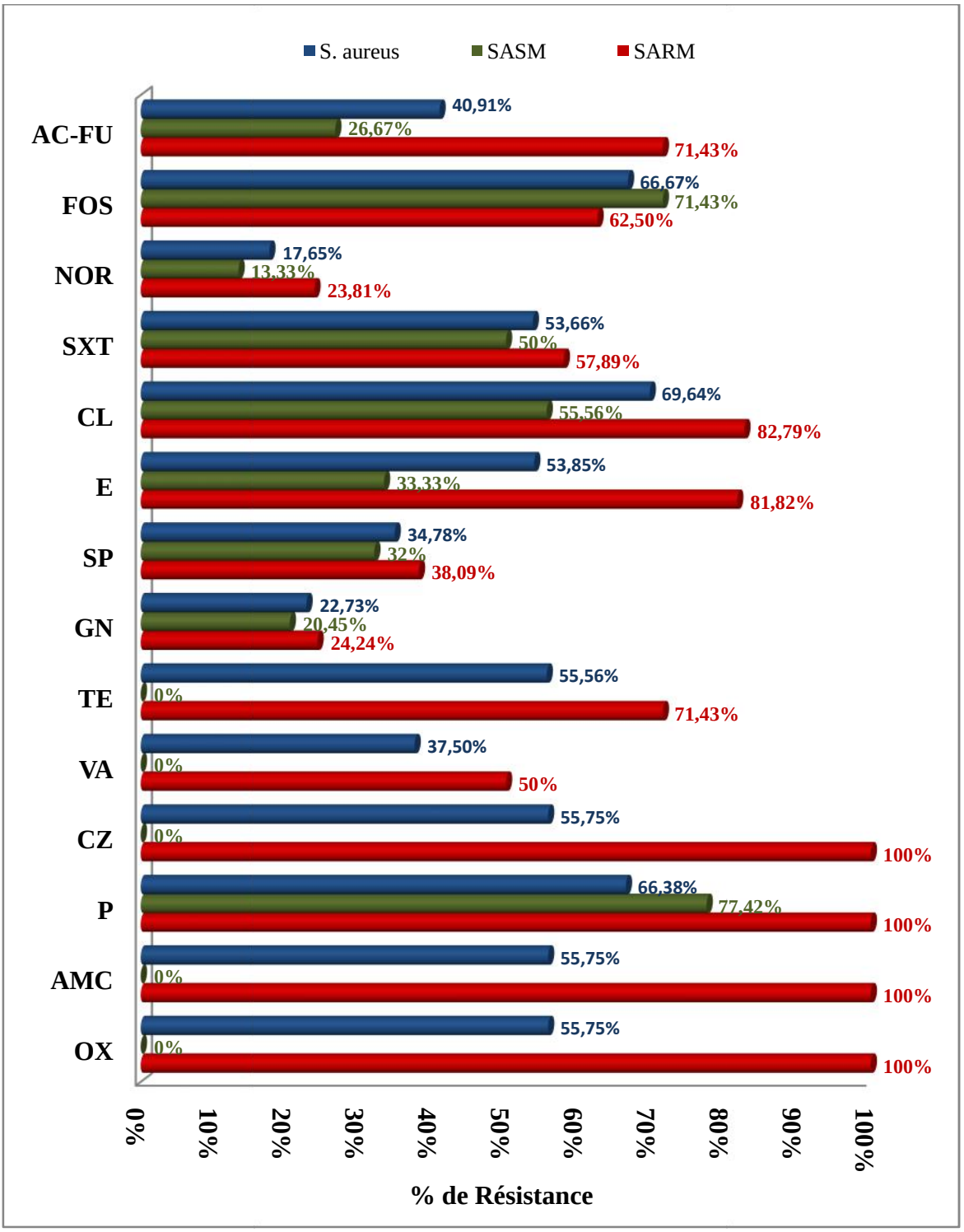


Figure 18: Pourcentage de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* à l'hôpital de Mila.

OX: Oxacilline **;** **AMC:** Augmentin ; **P:** Pénicilline ; **CZ:** Céfazoline ; **VA:** Vancomycine ; **TE:** Tétracycline ; **GN:** Gentamycine; **SP:** Streptomycine ; **E:** Erythromycine ; **CL:** Clindamycine ; **SXT :** Trim+Sulfamide, **NOR:** Norfloxacine, **FOS :** Fosfomycine*;* **AC-FU:** Acide-Fusidique; **SARM:** *Staphylococcus aureus* résistant à la Méticilline ; **SASM:** *Staphylococcus aureus* sensible à la Méticilline.

Ces souches ont également échappées à l'action des macrolides traduisant des taux de résistance allant de 82.79% pour la Clindamycine jusqu'à 81.82% pour l'Erythromycine.

Chez la famille des Aminosides, La Gentamycine et la Streptomycine ont présenté respectivement des pourcentages de résistance de 24.24% et de 38.09%. Dans la famille des Sulfamides, 57.89% des souches de *S. aureus* étaient résistantes à la Trim+sulfamide. Aussi, les souches résistantes à 71.43% la Tetracycline, la Fosfomycine 62.5%, l'Acide fusidique 71.43%. Par contre, la Norfloxacine a été plus actives exprimant un taux de sensibilité dépassant les 76% (Figure 18) (Tableau 22).

La Vancomycine a été hautement active sur les souches testées avec un taux de résistance de 50% (trois isolats ont pu exprimer une résistance à cette molécule).

Contrairement aux SARM, les souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la Méthicilline ont affiché un niveau de sensibilité plus important avec tout de même une résistance vis-à-vis de l'Erythromycine (66.67%) et de la Gentamycine (70.55%).

Tableau 22 : Incidence de résistance des SARM dans l'hôpital de Mila.

Les antibiotiques testés	**Single**	**SARM**
Oxacilline	OX	100%
Augmentin	AMC	100%
Pénicilline	P	100%
Céfazoline	CZ	100%
Vancomycine	VA	50%
Tétracycline	TE	71.43%
Gentamycine	GN	24.24%
Streptomycine	SP	38.09%
Erythromycine	E	81.82%
Clindamycine	CL	82.79%
Trim+Sulfamide	SXT	57.89%
Norfloxacine	NOR	23.81%
Fosfomycine	FOS	62.50%
Acide-Fusidique	AC-FU	71.43%

2.6.1. La résistance aux β-lactamines

Dans notre étude, sur les 4372 prélèvements analysés, 236 souches de *S. aureus* non redondantes ont été isolées, et 128 souches de *S. aureus* ont été diagnostiquées résistantes à la méthicilline, soit un taux de 54.24%.

Les SARM isolés sont résistants à tous les antibiotiques (100%) β–lactamine y compris les céphalosporines (Figure 18) dont Les gènes de résistances sont le gène plasmidique *blaZ* qui est responsable de hydrolyse enzymatique de β-lactamines et le gène *mecA* qui est responsable d'une affinité réduite pour PLP (Lowy, 2003).Les bêta-lactamines ont pour cibles différentes enzymes (protéines liant les pénicillines: PLP) impliquées dans la formation du peptidoglycane, dont le mécanisme de résistance est par la réduction de l'affinité pour le PLP portée par le gène chromosomique *mecA* (Sfeir et al., 2013).

L'incidence du SARM dans notre étude est de 54.24%. En Algérie, le taux de SARM a connue une augmentation passant de 4.5% en 2002 à 33.2% en 2004, pour atteindre ensuite une valeur de 45% en 2006 (Rebiahi et al., 2011).

L'incidence du SARM remarqué dans cette étude reste inférieure à ce qui a été signalé aux Etats Unis (70%), Shangai (64%) et au Sénégal (72%) (Seydi et al., 2004; Awad et al., 2007). Cependant, elle demeure nettement supérieur à ce qui a été rapporté en Côte d'ivoire, Maroc et Tunisie avec respectivement 25%, 19.3%, et 15.3% (Akoua-Koffi et al., 2004; Elhamzaoui et al., 2009). En effet, l'incidence du SARM peut varier en fonction du service hospitalier et de la durée du séjour (Wisplinghoft et al., 2004; Skiest et al., 2006).

En France, l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) a enregistré entre 1998 et 2003 un taux de SARM de 35%, ce pourcentage ne cesse de diminuer, grâce à certaines mesures préventives des infections nosocomiales telles que l'isolement des patients et l'utilisation généralisée de solutions hydroalcooliques (Lagier et al., 2008). Le taux de SARM important (54.24%) retrouvé dans la présente pourrait être expliquer d'une part, par l'accumulation des souches de plusieurs mécanismes de résistance (la flexibilité génétique de *Staphylococcus aureus* lui a permis l'acquisition de plusieurs mécanismes), et d'autre part, par une pression de sélection générée par une utilisation irrationnelle des antibiotiques (Rebiahi et al., 2011).

2.6.2. La résistance aux Aminosides

Les souches de SARM isolées ont également échappé à l'action des Aminoglycosides traduisant des taux de résistance allant de 24.24% et pour la Gentamicine jusqu'à 38.09% pour la Streptomycine (Figure 18). Mais reste toujours inferieur par rapport aux bêta-lactamines.

L'analyse des résultats de la résistance à la Gentamicine et Streptomycine des SARM à Tlemcen (Algérie) montre que son taux est en progression, ou elle a enregistrée 30.3% pout la Gentamicine et 61.8% pour Streptomycine (Rebiahi et al., 2011). En USA, la résistance des SARM aux Aminosides a été représentée par deux pourcentages relativement voisin; un taux de 93% vis-à-vis de la Gentamycine, Kanamycine, Tobramycine et 95% à la Streptomycine (Melter et al., 2003). Au Maroc la tendance à la résistance à la Gentamicine est également à la hausse, et était de l'ordre de 84.7% (Belabbès et al., 2001). Et (18%) pour la Gentamycine en Tunisie (Mastouri et al., 2004).

En effet plus faible la sensibilité chez les SARM à Pereira et al., (2009) signalent une résistance de (2%) dans la Gentamycine.

2.6.3. La résistance aux Macrolides

Dans la famille des Macrolides, le SARM a montré un taux de résistance à la Clindamycine de 82.79%. Cette antibiotique a été moins active sur les souches testées, la résistance à cette antibiotique a été inferieure a celle obtenue par Sfeir et al., (2013) 92.2% au Liban. En effet, Pate et al., (2013) ont trouvé que les souches de SARM ont des pourcentages de résistance à Clindamycine allant de 50% à 10% de 2004 à 2012.

La Clindamycine est une molécule dotée de propriétés anti-staphylococciques intéressantes, notamment ses capacités de diffusion tissulaire, ou son absence d'induction de la production d'une méthylase. Néanmoins, son utilisation est déconseillée en raison d'un risque élevé de sélection de mutants constitutifs (Leclercq, 2002).

Les résultats montrent que la résistance à la Clindamycine 82.79% a été souvent associée à celle de l'Erythromycine 81.82%, ce qui incite à penser au même mécanisme de résistance (MLSgB) qui confère la résistance aux Macrolides, Lincosamides et Stretogrammine (Pate et al., 2013) ont trouvé des taux de résistance à l'Erythromycine variant de 50% à 90% de 2004 jusqu'à 2012. La résistance à cette molécule chez les

SARM varie d'un pays à un autre, de 10% en 2003 au Liban jusqu'à 93.9% aux Etats Unis (Hamze et al., 2003 ; Gus et al., 2009).

Pour la famille des quinolones, l'efficacité de la Norfloxacine a été remarquable, puisque la résistance de SARM à cette molécule a été seulement de 23%. Ces résultats sont proches de ceux obtenus en France, la sensibilité de *Staphylococcus spp.* aux Fluoroquinolones concerne environ 60 à 70 % des souches de SARM (Decousser et al., 2003; Leclercq et al., 2003).

Fosfomycine

Dans notre étude, les souches de SARM ont résisté à la Fosfomycine avec un taux de 62.50%. En Tunisie, le taux de résistance des SARM à la Fosfomycine étaient de l'ordre de 6.66% en 2004, et il a atteint 7% en 2009 (Ben Jemaa et al., 2004; Mastouri et al., 2004). Rebiahi et al., (2011) du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Algérie) ont trouvé que la Fosfomycine était plus active, avec une sensibilité supérieurs à 90%.

L'ensemble de ces données reflète l'état de multi résistance des souches de SARM isolées dans cette étude selon Arsalane et al. (2010), les microorganismes multi-résistants se définissent comme des microorganismes qui résistent à une ou plusieurs classes d'antibiotiques.

Vancomycine

Les SARM ont représenté un taux de 50% de résistance à la Vancomycine (Figure18). En Algérie, Rebiahi et al. (2011) ont signalé un pourcentage beaucoup plus faible de 1.8%. De plus, (Benouda et Elhamzaui, 2009) ont rapporté un même taux de résistance de 0% à la Vancomycine au Maroc (2003), Sénégal (2004) et en Tunisie (2006) la résistance à la Vancomycine.

La Vancomycine, représente toujours actuellement l'un des traitements les plus probants face aux infections à *S. aureus* résistant à la Méthicilline, mais cette utilisation systématique a conduit à l'émergence de souches *S. aureus* de sensibilité diminuée aux Glycopeptides (GISA) évoquant une crainte de développer un aspect épidémique.

2.7. Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de SARM

L'analyse spatiale a été conduite par ACP utilisant le programme XLSTAT 2008. Deux variables ont été étudiées, à savoir le temps en années (de 2007 à 2012) et la variable incidence de la résistance aux antibiotiques en pourcentage. La matrice de corrélation est représentée dans le Tableau 23.

Tableau 23: Matrice de corrélation (Pearson (n)) :

Variables	TE	GN	SP	E	CL	SXT	NOR	FOS	AC-FU
TE	**1**								
GN	-0,445	**1**							
SP	-0,136	0,117	**1**						
E	-0,200	-0,264	**0,845**	**1**					
CL	0,237	-0,638	0,316	0,380	**1**				
SXT	-0,016	0,243	-0,343	-0,390	0,040	**1**			
NOR	-0,302	0,112	0,505	0,378	0,622	0,472	**1**		
FOS	-0,270	**0,826**	0,037	-0,270	**-0,839**	-0,242	-0,408	**1**	
AC-FU	-0,200	-0,264	**0,845**	**1,000**	0,380	-0,390	0,378	-0,270	**1**

TE: Tétracycline ; **GN:** Gentamycine; **SP:** Streptomycine ; **E:** Erythromycine ; **CL:** Clindamycine ; **SXT:** Trim+Sulfamide, **NOR:** Norfloxacine, **FOS :** Fosfomycine; **AC-FU:** Acide-Fusidique.

Une parfaite corrélation r = 1 est observée entre l'Erythromycine et l'Acide-Fusidique, D'autres corrélations positives ont été enregistrées, r = 0,845 entre la Streptomycine et l'Erythromycine, r = 0,845 entre Streptomycine et Acide-Fusidique et r =0,826 entre le Gentamycine et le Fosfomycine. La corrélation la plus négative r= -0.839 a été remarquée entre Fosfomycine et Clindamycine. Les corrélations observées entre les différents antibiotiques pourraient êtres expliqué par la localisation différente des gènes de résistance sur le génome plasmidique ou chromosomique, ou bien leur distance génétique faible. Plus que la distance est faible plus que la chance d'événements de transfert génétique est importante.

La corrélation positive entre la Streptomycine de la famille des Aminosides et l'Erythromycine de la famille des Macrolides (r = 0.845) pourrait être expliqué par le faite que le gène plasmidique de la pénicillinase porte également des gènes de résistance à d'autres antibiotiques Aminosides et Macrolides (Rebiahi et al., 2011).

Rebiahi et al. (2011) ont montré que la résistance est due au gène codant pour la pénicillinase *blaZ* appartenant un transposon localisé le plus souvent sur un large plasmide, qui peut porter également des gènes de résistance à d'autres antibiotiques (Aminosides, Macrolides). Il peut également s'intégrer dans le chromosome. Aussi, Rasigade et Vandenesch (2013) ont rapporté que les souches de SARM du passé et l'épidémie actuelle ne portent pas le même ancêtre donc on peut dire que les SARM sont issu du transfert horizontal d'un élément génétique mobile qui est la cassette chromosomique.

Decristophoris (2009) a montré qu'une même cassette peut porter plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques et que le transfert horizontal de SCC*mec* entre staphylocoques est responsable à la résistantes à un grand nombre d'antibiotiques.

Les deux axes (Tableau 24) donnent une information égale à 68.474% de la représentation.

Tableau 24 : Valeur propre et variation (%) exprimées par les composantes principales.

	Axe 1 : Composante principale 1	**Axe 2 Composante principale 2**
Valeur propre	3,734	2,429
Variabilité (%)	41,484	26,990
% cumulé	41,484	68,474

La contribution de la résistance aux antibiotiques dans la construction des deux composantes principales est le résultat de leurs corrélations avec ces axes. Selon le tableau 25, nous constatons une forte corrélation (r=0.884) entre la résistance à l'Erythromycine et l'Acide-Fusidique et l'axe 1 (horizontal), d'une part et entre la Fosfomycine et l'axe 2 (vertical) d'autre part (r=0.747).

Tableau 25 : Corrélation des souches avec les axes 1 et 2

	F1	F2
TE	-0,023	-0,610
GN	-0,496	0,702
SP	0,744	0,567
E	0,884	0,382
CL	0,767	-0,521
SXT	-0,222	-0,349
NOR	0,593	0,031
FOS	-0,616	0,747
AC-FU	0,884	0,382

Le cercle des corrélations (Figure 19) montre les antibiotiques qui contribuent le plus dans la formation des deux composantes 1 et 2.

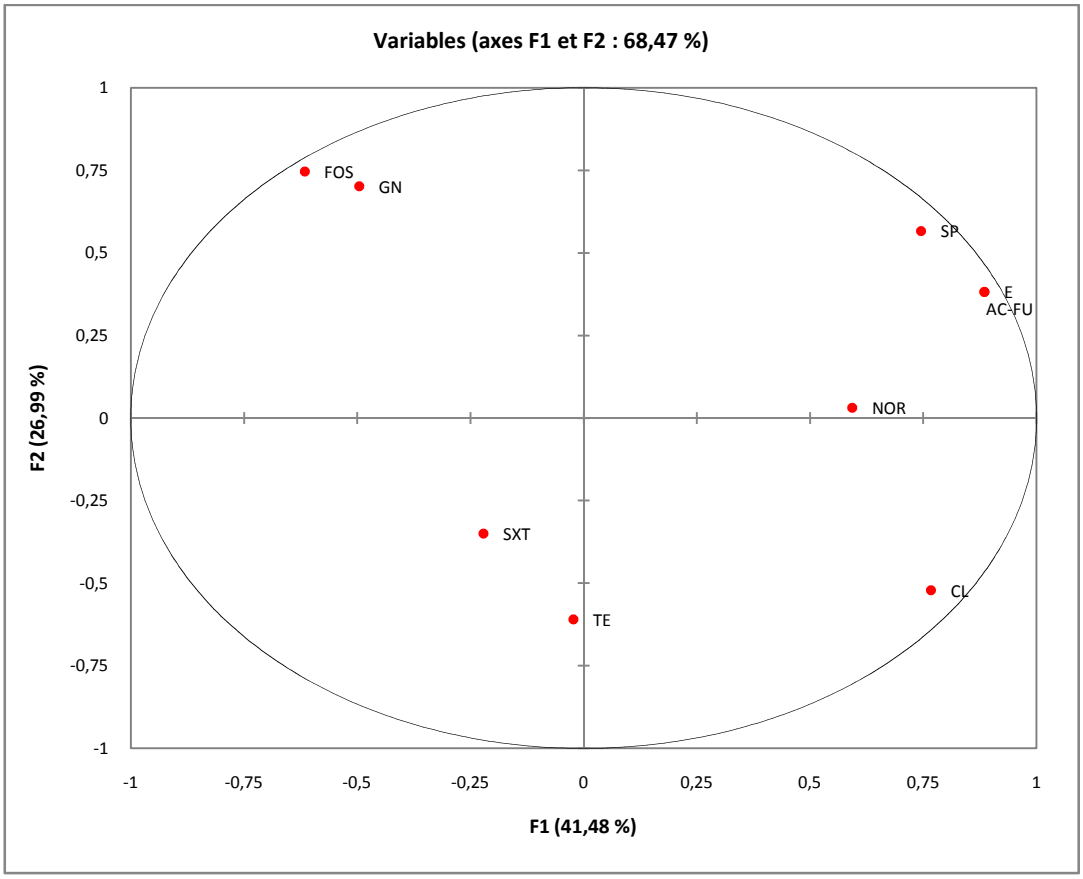


Figure 19 : Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de SARM par ACP à l'hôpital de Mila (Algérie).

Conclusion

La présente étude réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie à l'hôpital de Mila (Algérie) sur 236 isolats de *S. aureus*, a montré une incidence de SARM de l'ordre de 54.24%. Cette incidence est très élevée comparée à d'autres taux de SARM observés. En effet, elle était de 52% en Algérie (2011), 13.5% au Maroc (2009), 15.5% en Tunisie (2004), 72% en USA (2007), 35% en France (1998-2003) et 64% à Shangai (2007). L'état du SARM à Mila est très inquiétante et nous ramène à tirer la sonnette d'alarme pour les services de santé concernés.

De plus, les souches isolées de SARM ont exprimé une multirésistance qui a touchée pratiquement plusieurs molécules d'antibiotiques allant des ß-lactamines, Macrolides, Trim+Sulfamide, Tétracyclines, Fosfomycine, Acide-Fusidique et la Vancomycine. Il est à noter que sur presque tous les antibiotiques testés, le SARM a montré une résistance supérieure à 50%. Une résistance totale (100%) était enregistrée avec Oxacilline, Pénicilline, Augmentin, et Céfazoline. Aussi, des taux de résistance élevés ont été observés de l'ordre de 82.79% et 81.82% pour la Clindamycine et l'Erythromycine respectivement, et 71.43% pour la Tétracycline et l'Acide-Fusidique. Des taux de résistance moyens de 62.50%, 57.89% et 50% pour Fosfomycine, Trim+Sulfamide et Vancomycine respectivement. Les taux de résistance les plus faibles ont été remarqués avec les antibiotiques Streptomycine (38.09%), Gentamycine (24.24%) et Norfloxacine (23.81%).

L'émergence importante de la multi-résistance aux antibiotiques de SARM est due à l'usage abusif d'antibiotiques, le manque de fidélité au traitement et sa durée trop courte ou dose sous-thérapeutique, gravitent l'état des malades hospitalisés.

Ces résultats alarmants incitent plus que jamais les responsables da la santé, les praticiens et les chercheurs à adopter une stratégie ferme de lutte contre la dissémination de l'antibiorésistance de *S. aureus* en milieu hospitalier et communautaire.

Références

1. **Aitabdelouhab N. (2008)**. Microbiologie alimentaire. Office des Publications Universitaires. 147p.
2. **Akoua-Koffi C., Guessennd N., Gbonon V., Faye-Ketté H., Dosso M. (2004).** Methicillin-resistance of *Staphylococcus aureus* in Abidjan (1998-2001): a new hospital problem. Médecine et maladies infectieuses. **34**: 132–136.
3. **Al-Hajje., Ezedine M., Hammoud H., Awada S., Rachidi S., Zein S., Salameh P. (2012).** Aspects actuels des infections nosocomiales au Centre Hospitalier Libanais de Beyrouth. Eastern Méditerranéen Heath Journal La Revue de Santé de la Méditerranée orientale, Vol. 18 No. **5**: 495-500.
4. **Allen L., Honeyman., Friedman H. (2002).** *Staphylococcus aureus* Infection and Disease. Ebook, Kluwer Academic Publishers, New York. 341p.
5. **Anonyme :** Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'interrégion Nord (CCLIN Paris-Nord) (http://www. Cclinparisnord. Org/Usagers/ Faq/FAQDream.htm, consulté le 11 mars 2012).
6. **Archambaud M. (2009).** Les antibiotiques, les principales familles. Laboratiore Bacteriologie-Hygiéne CHU Rangueil Toulouse. 38p.
7. **Archer G.L., Bosilevac J.M. (2001).** Signaling antibiotic resistance in staphylococci. Science. **291**: 1915-1916.
8. **Arsalane L., Qamouss Y., Chafik A., Boughalem M., Louzi L. (2010).** Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009. Les Technologies de Laboratoire, N°21.
9. **Awad S., Elhabash S., Lee L. et al. (2007).** Increasing incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft-tissue infections: reconsideration of empiric antimicrobial therapy. The American Journal of Surgery. **194**: 606-610.
10. **Baba T., Takeuchi F., Kuroda M. et al. (2002)**. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet.* **359**: 1819-1827.
11. **Baba-Moussa L., Ahissou H., Azokpota P., Assogba B., Atinde´hou M. et al. (2010).** Toxins and adhesion factors associated with Staphylococcus aureus strains isolated from diarrheal patients in Benin. Afr J Biotechnol. **9**: 604-611.

12. **Baba-Moussa L., Anani L., Scheftel J.M., Couturier M., Riegel P., Haı¨kou N. et al. (2008).**Virulence factors produced by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from urinary tract infections. J Hosp Infect. **68**: 32-8.
13. **Baba-Moussa L., Sina H., Scheftel J.M., Moreau B., Sainte-Marie D. et al. (2011).** Staphylococcal Panton-Valentine Leucocidin as a Major Virulence Factor Associated to Furuncles. Journal. Pone. 0025716.
14. **Baggett H.C., Hennessy T.W., Rudolph K., Bruden D., Reasonover A. et al. (2004).** Community-onset méthicilline-resistant Staphylococcus aureus associated with antibiotic use and the cytotoxin Panton-Valentine leukocidin during a furunculosis outbreak in rural Alaska. J Infect Dis. **189**: 1565–1573.
15. **Batard E., Ferron-Perrot C., Caillon J., Potel G. (2005).** Antibiothérapie des infections causées par Staphylococcus aureus. Médecine thérapeutique. N° **6**: 395-403.
16. **Becker K., Friedrich A.W., Lubritz G. et al. (2003).** Prevalence of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens. J. Clin Microbiol. **41**: 1434-1439.
17. **Belabbès H., Elmdaghri N., Hachimi K., Marih L., Zerouali K., Benbachir M. (2001).** Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* isolé des infections communautaires et hospitalières à Casablanca. Centre Hospitalo-universitaire Ibn Rochd, Laboratoire de Microbiologie, Casablanca, Maroc, Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Tous droits réservés Méd Mal Infect. **31**: 25-8
18. **Ben Jemaa Z., Mahdjoubi F., Ben Hadj H'mida Y., Hammami N., Ben Ayed M., Hammami A. (2004)**. Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la region de Sfax (1993-1998). Path Biol. **52**: 82-88.
19. **Ben Nejma M., Bouallegue O. et al. (2013)**. Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. Pathologie Biologie. **54** : 33-36.
20. **Benouda A., Elhamzaui S. (2009).** *Staphylococcus aureus* : Epidemiologie et Prevalence des souches résistantes à la methicilline (SARM) au Maroc, Laboratoire de microbiologie. Hôpital universitaire international Cheikh Zaid. Rev Tun Infectiol, N°**1**. 15-20.

21. **Berche P., Kayal S., Nassif X., Poyart C. (2002).** Bactériologie systématique. D.C.E.M.1. Faculté de Médecine Necker-Enfants malades. 94p.
22. **Berthet J. (2006)**. Dictionnaire de biologies 1ére Edition de Boeck Université. Paris. 829 p.
23. **Bertrand X., Muller A., Thouverez M., Talon D. (2004).** Retour vers la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) : relation entre génotype et antibiotype. Pathol Biol. **52**: 480-5.
24. **Betsy T., Keogh J. (2005).** Microbiology Demystified, A Seff-Teaching Guide. The McGRAW-HILL Companies. 285 p.
25. **Bochicchio G.V., Joshi M., Knorr K.M., Scalea T.M. (2001).** Impact of nosocomial infections in trauma: does age make a difference? J. Trauma; **50**: 612–7.
26. **Bouguessa N.R., Belouni R., Seghier M., Benslimani A. (2010)**. Manuel de Microbiologie à l'usage des étudiants en 3éme année de Médecine. 2éme Edition. 277 p.
27. **Boulanger D., Bureau F., Lekeux P. (2006).** Invasion intracellulaire des cellules non-phagocytaires par *Staphylococcus aureus.* Ann. Méd. Vét. **150**: 27-42.
28. **Bronner S., Monteil H., Prevost G. (2004).** Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev.* **28** : 183-200.
29. **Brun Y., Bes M. (2000).** *Staphylococcus*. In: Précis de bactériologie clinique (ed. Freyney J RF, Hansen W, Bollet C). ESKA. Paris. 783-830.
30. **Brun-Buisson C., Girou E. (2000).** Les infections nosocomiales : bilan et perspectives [Nosocomial infections: review and perspectives]. Médecine/sciences. **16** (8-9): 892-899.
31. **Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R. (1990).** Bactériologie médicale «Techniques usuelles» 3ème tirage SIMEP. Paris. 105-108.
32. **Carle S. (2010)**. La résistance aux antibiotiques : Un enjeu de santé publique important, le parrainage des antimicrobiens. 6-21.
33. **Carré N., Herbreteau N., Askeur N., Dabas J.P., Sillam F. et al. (2011).** Outbreak of skin infections due to *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes in pupils and their relatives. Med Mal Infect. **10**: 1016-1017.
34. **Catry B., Hendrickx E., Preal R., mertens R. (2008)**. Etude Multi-Centrique « Correlation Entre L'utilisation D'antibiotiques Et L'antibioresistance Chez Le Patient Individuel ». Conseil National De La Promotion De Laqualite (Cnpq). 38 p.

35. **Chambers H.F. (1997)**. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* **10**: 781-791.
36. **Chang S., Sievert D.M., Hageman J.C. et al. (2003).** Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. N Engl J. Med**. 348:** 1342-1347.
37. **Chavakis T., Wiechmann K., Preissner K.T., Herrmann M. (2005).** *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial (secretable expanded repertoire adhesive molecules) (SERAM) in disturbing host defense systems. Thromb Haemost. **94** (2): 278-85.
38. **Corne P. (2004).** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation: étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat en en Médecine. Université Montpellier I U.F.R. de MEDECINE. 205p.
39. **Corvaglia A., François P., Bertrand X., Quentin R., Hernandez D., Mee-Marquet N.V.D. (2013).** Whole-Genome Sequences of Two *Staphylococcus aureus* ST398 Strains of Human Origin, S94 and S100, Journals. ASM. Org. 00691-13.
40. **Cosgrove S.E., Carroll K.C., Perl T.M. (2004).** *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. Clin Infect Dis. **39**: 539-545.
41. **Couture B. (1990).** Bactériologie médicale (Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical). Vigot, Paris. 15-32.
42. **Cruse P.J.E., Foord R. (1980).** The epidemiology of wound infection. A10 year prospective study of 62939 wound .Surg.clin.North Amer. **60**: 27-40.
43. **Danielle C., Maryse A. (2009).** Laboratoire de Bactériologie Hygiène. CHU Toulouse. 5p.
44. **Daube D., Laborie J.L., Schvoerer C., Lepoutre A., Quittançon F., Jacques. et al. (2003).** Infections cutanées à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et producteur de leucocidine de Panton Valentine, Côtes-d'Armor, octobre 1999 à août 2002. République Française Ministère de la santé de la famille et des personnes handicapées Institut de veille sanitaire. BEH N° 47/2003.
45. **Decousser J.W., Pina P., Delalande C. et al. (2003).** Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infections: a French prospective national survey. J Antimicrob Chemother. **51**: 1213-22.

46. **Decristophoris P. (2009).** Epidémiologie des staphylocoques multirésistants aux antibiotiques chez les chats, les chiens et les personnes, Istituto cantonale di microbiologia, Bellinzona & Universität Basel. Revue de littérature et étude Suisse. 35p.
47. **Del Giudice P., Bes M., Hubiche T., Blanc V., Roudie`re L. et al. (2011)**. Panton-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* strains are associated withfollicular skin infections. Dermatology. **222**: 167–170.
48. **Delarras C. (1998)**. Microbiologie 90 Heures de travaux pratique. paris. 177 , 265p.
49. **Delarras C. (2007)**. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Médical internationales. Paris. 476 p.
50. **Delarras C., trébaol B., Durand J. (2010).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 2éme Edition TEC et DOC, Paris. 542 p.
51. **Denis F., Ploy M.C., Matin C., Bing E., Quentin R. (2007).** Bactériologie Médicale: tecniques usuelles. Elseirer Masson SAS. 581p.
52. **Dinges M.M., Orwin P.M., Schlievert P.M. (2000).** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. **13** (1): 16-34.
53. **Domart Y. (2002).** Therapeutic principles of staphylococcal infections - Role and limitations of standard compounds. *Ann Fr Anesth Reanim.* **21**: 392-398.
54. **Donlan R.M., Costerton J.W. (2002).** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms.Clin Microbiol Rev. **15**: 167-93.
55. **Dowzicky M., Talbot G.H., Feger C., Prokocimer P., Etienne J., Leclercq R. (2000).** Characterization of isolates associated with emerging resistance to quinupristin/dalfopristin (Synercid) during a worldwide clinical program. Diagn Microbiol Infect Dis. **37**: 57-62.
56. **Dufour P., Gillet Y., Bes M. et al. (2002)**. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone thatproduces Panton-Valentine leukocidin. Clin Infect Dis. **35**: 819-824.
57. **Dumitrescu O. (2012).** *Staphylococcus aureus* et maladies toxiques. Institut Pasteur. Inserm. 57p.
58. **Durand G., Bes M. et al. (2006).** Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones containing the toxic shock syndrome toxin 1 gene responsible for hospital- and community-acquired infections in France. J. Clin Microbiol. **44** (3): 847-53.

59. **Elazhari M., Zerouali K., Elhabchi D., El malki., Dersi N., Timinouni M., Saile R. (2010).** Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca (MAROC). Revue Tunisienne d'Infectiologie. N°**4**: 134-140.
60. **Elhamzaoui S., Benouda A., Allali F., Abouqual R., Elouennass M. (2009).** Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans deux hopitaux universitaires à Rabat, Maroc. Med Mal: (in press). épidémiologiques et thérapeutiques récents. Rev Med intern 2007 . **28** : 746-55.
61. **Fasquelle R. (1974).** Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36 p.
62. **Ferry T. et al. (2008).** Exotoxines superantigéniques et état de choc toxique et septiqueFerry .Clin Microbiol Infect. **14**: 546-54.
63. **Ferry T., Perpoint T., Vandenesch F., Etienne J. (2005).** Virulence determinants in *Staphylococcus aureus* and their involvement in clinical syndromes. Curr Infect Dis Rep. **7** (6) : 420-8.
64. **Ferry T., Vandenesch F., Etienne J. (2012).** Vaccins anti *Staphylococcus aureus.* Institut national de la recherche médical. 68p.
65. **Fitzgerald J.R., Sturdevant D.E., Mackie S.M., Gill S.R., Musser J.M. (2001).** Evolutionary genomics of *Staphylococcus aureus*: insights into the origin of methicillin-resistant strains and the toxic shock syndrome epidemic. Proc Natl Acad Sci U S A. **98**: 8821-8826.
66. **Foster J.T., Hook M. (1998).** Surface protein adhesions of *S. aureus*. Trends Microbiol **6**: 484-488.
67. **Frany-Xavier et al. (2010).** Guide pratique de toxicologie. 2éme édition de Boeck Université .Paris. 343 p.
68. **Garrity G.M., Johnson K.L., Bell J., Searles D.B. (2002).** Bergy's Mannual of Systematic Bacteriology, seconded. Springer-verlag, New York.
69. **Genestier A.L., Michallet M.C., Prevost G. et al. *(*2005).** *Staphylococcus aureus* Panton- Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils. J Clin Invest. **115** (11): 3117-27.
70. **Ghuysen J.M. (1994).** Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. Trends Microbiol. **2**: 372-380.

71. **Gillespie S.H., Hawkey P.M. (2006).** Principles and Practice of Clinical Bacteriology, Second Edition. John Wiley & Sons, Ltd. 604 p.
72. **Gillet Y., Issartel B., Vanhems P. et al. (2002).** Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotizing pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet. **359**: 753-759.
73. **Gordon R.J., Lowy F.D. (2008).** Pathogenesis of Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus.* Infection. Clinical Infectious Diseases. **46**: S350-9.
74. **Gras D. (2006).** Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidosiques et *Staphylococcus aureus*. Universite de reims champagne-ardenne u.f.r. de medecine. 185p.
75. **Grosjean J., Clavé D., Archamdoud M., Pasquier C.H. (2011)**. Bactériologie et virologie pratique. Edition de Boeck Université. Paris 2éme édition. 290 p.
76. **Grossley K.B., Jefferson K.K., Archer G., Fowler V.G. (2009).** Staphylococci in human Disease. WILEY-BLACKWELL. 633p.
77. **Guezlane-Tebibel N., Kahlouche B., Atmani-guemouri S. (2010).** Microbiologie Travaux pratique. 3 éméédition corrigiée office des publications universitaires. 139 p.
78. **Guiraud J.P. (2012).** Microbiologie alimentaire. Le mensuel de l'innovation alimetaite. DUNOD. 651p
79. **Gus W., Krucke M., Deanna E., Grimes P.H., Richard M., Thai D., Dang M.D. (2009).** Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus–containing cutaneous abscesses of patients with HIV. American Journal of Emergency Medicine. **27**: 344-347.
80. **Guy L., vierlino E. (2007).** Microbiologie et Toxicologie des aliments Hygiéne et sécurité alimentaire 4éme édition doin éditeurs. 287 p.
81. **Hamze M., Dabboussi F., Daher W., Izard D. (2003).** Résistance aux antibiotiques de Staphylococcus aureus au Nord du Liban : place de la résistance à la méticilline et comparaison des méthodes de détection. Pathol Biol. **51** : 21-26.
82. **Hardy K.J., Hawkey P.M., Gao F., Oppenheim B.A. (2004).** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. *Br J Anaesth.* **92**: 121-130.
83. **Hart T., Shears P. (1996).** Atlas de poche de microbiologie. Traduit de l'anglais par Olivier Gaillot. Médecine-Sciences Flammarion 4, rue 75006 Paris. 217 p.
84. **Hartman B.J., Tomasz A. (1984).** Low-affinity penicillin-binding protein associated with betalactam resistance in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. **158:** 513-516.

85. **Heym B., Le Moal M., Armand-Lefèvre L., Nicolas-Chanoine MH. (2002).** Multilocus sequence typing (MLST) shows that the 'Iberian' clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* has spread to France and acquired reduced susceptibility to teicoplanin. J Antimicrob Chemother. **50**: 323-329.
86. **Hiramatsu K. (2001).** Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: A new model of antibiotic resistance. The Lancet Infectious Diseases. **1**: 147-155.
87. **Hiron A. (2007).** Les transporteurs de peptides de *Staphylococccus aureus*. Thèse de doctorat en Microbiologie. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech).Paris.
88. **Holden M.T., Feil E.J., Lindsay J.A. et al. (2004).** Complete genomes of two clinical in nasal polyps. Laryngoscope. 115:1580-1585.
89. **Ito T., Max X., Takeuchi E., Okuma K., Yuzawa H., Hiramatsu K. (2004).** Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC, Antimicrob. Agents Chemether. **48**: 2637-2651.
90. **Jarraud S., Lyon G.J., Figueiredo A.M. et al. (2000)** Exfoliatin-producing strains define a fourth agr specificity group in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. **182**: 6517-6522.
91. **Jean N.J., Guy L. (2006)**. Microbiologie technique, Tome 1 dictionnaire des techniques. Collection biologie technique. 4^{éme} édition.
92. **Ji G., Beavis R., Novick RP. (1997)**. Bacterial interference caused by autoinducing peptide variants. Science. **276**: 2027-2030.
93. **Karp. (2010)**. Biologie Cellulaire et moléculaire. 3^{éme} édition de Boeck Université. Paris. 108 p.
94. **Katayama T., Ito T., Hiramatsu K. (1999).** A new class of genetic element, *Staphylococcus* Cassette Chromosome *mec*, encodes methicillin resistant in *S. aureus*. Antimicrob Agents Chemother. **43**:1549-55.
95. **Katayama Y., Ito T., Hiramatsu K. (2000).** A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome *mec* encodes methicillin resitance in *Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother*. **44**:1549-1555.
96. **Kuroda M., Ohta T., Uchiyama I. et al. (2001).** Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet. **357**: 1225-1240.

97. Labischinski H. (1992). Consequences of the interaction of beta-lactam antibiotics with penicillin binding proteins from sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* strains. Med Microbiol Immunol (Berl). **181**:241-265.

98. Ladhani S. (2001). Recent developments in staphylococcal scalded skin syndrome. Clin Microbiol Infect. **7** (6): 301-7.

99. Lagier J.C., Letranchant L., Selton-Suty C. (2008). *Staphylococcus aureus* bacteriaemia and endocarditis. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie. **57** : 71–77.

100. Larpant J.P., (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne. les principaux groups bactériens. Edition université. 106, 108,164-165, 192,194 p.

101. Le loir Y., Gautier M. (2010). *Staphylococcus aureus*, Monographies de microbiologie, collection dirigée par Jean-paul Larpent. Edition TEC & DOC. EM inter, Lavoisier. 284 p.

102. Leclercq R. (2002). Résistances des staphylocoques aux antibiotiques. Ann Fr Réanimation. 21: 375-83.

103. Leclercq R., Soussy C.J., Weber P. et al. (2003). Activité *in vitro* de la pristinamycine vis-à-vis des staphylocoques isolés dans les hôpitaux français en 1999-2000. Pathol Biol. **51**: 400-4.

104. Liassine N., Auckenthaler R., Descombes M.C., Bes M., Vandenesch F., et al. (2004). Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated in Switzerland contains the Panton-Valentine leukocidin or exfoliative toxin genes. J Clin Microbiol. **42**: 825–828.

105. Lindsay J.A. (2008). *Staphylococcus* molecuta genetics. Caister Academic Press. 280 p.

106. Lindsay J.A., Holden M.T. (2004). Staphylococcus aureus: superbug, super genome? Trends Microbiol. **12**: 378-385.

107. Lowy F.D. (1998). *Staphylococcus aureu*s infections. N. Engl J. Med. **339** (8): 520-532.

108. Lowy F.D. (2003). Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus.* J. Clin Invest. **111**:1265-1273.

109. Madigon M., Martinko J. (2007). Brock Biologie des micro-organismes.11^{éme} Edition Pearson Education France. 1047 p.

110. Magniez. (2009). Les milieux sélectifs en microbiologie. Biotechnologies - Communauté. 4p.

111. Mah, Otook. (2001). Mecanism of biofilm resistance to antimicrobial agent. Trends Microbiol. **3**: 34-39.

112. Mastouri M., Nour M., Ben Nejma M., Bouallegue O., Hammami M., Khedher M. (2004). Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. j. patbio.10.009. **54**: 33-36

113. Mayers D.L., Stephen A., Lerner, Ouellette M., Sodel J.D. (2009). Antimicrobial Drug Resistance: Clinical and Epidemiological Aspects,Vol 2.Human press. 1347p.

114. Melter O., Aires de Sousa M., Urba´sˇkova´ P., Jakubu V., Zˇemlicˇkova´ H., and H. de Lencastre. (2003). Update on the Major Clonal Types of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the Czech Republic. DOI: 10.1128/JCM.41. **11**: 4998-5005.

115. Michel-Briand Y. (2009). Une histoire de la résistance aux antibiotiques. A propos de six. Bactéries. 5-7, rue de l'ecole-polytechniques; 75005. Paris. 363p.

116. Monteil H. (1996). L'interpritation de antibiograme. Laboratoire de bactériologie. Faculte de Médecine Hopitoux Universitaires de Strasbourg. Février. 63 p.

117. Morand S., Cadaret J., Beaudeau F. (2012). New Frontiers of Molecular Epidermiology of Infections Diseases. Springer. 337p.

118. Moreillon P., Que Y.A., Glauser M.P. (2005). Chapter 192 - *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingston, Elsevier. 2321-51.

119. Novick R.P. (2003). Auto induction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. Moecular Microbiology. **48**: 1429-1449.

120. Oberholzer A., Keel M., Zellweger R., Steckholzer U., Trentz O., Ertel W. (2000). Incidence of septic complications andmultiple organ failure in severely injured patients is sex specific. J Trauma. **48**: 932-7.

121. Okuma K., Iwakawa K., Turnidge J.D., Grubb W.B., Bell J.M,. O'Brien F.G. et al. (2002). Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. J. Clin Microbiol. **40**: 4289-94.

122. Oliveira D.C., Tomasz A., Lencastre H. (2002). Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of méthicilline-resistant *Staphylococcus aureus,* Lancet Infect. Dis. **3**: 180-189.

123. Oriordan C., Lee J.C. (2004). *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides, clin Macrobiol Rev. **17** (1): 218-234.

124. Otter J.A., French G.L. (2010). Molecular epidemiology of communityassociated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Lancet Infect Dis. **10**: 227-239.

125. Pate A.J., Terribilini R.G., Ghobadi F., Alaleh Azhir., Barber A., Pearson J.M. (2013). Antibiotics for méthicilline-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections: the challenge of outpatient therapy American Journal of Emergency Medicine xxx–xxx.

126. Pereira V., Lopes C., Castro A., Silva J., Gibbbs P., Teixeira P. (2009). Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus isolates from in Portugal. Food Microbiology. **26** : 278-282.

127. Pereyre S. (2011). *Staphylococcus aureus* Pouvoir pathogène, caractéristiques bactériologiques et résistance CHU Université Bordeaux Segalen.

128. Prescott., Harley., Klein. (2003). Microbiologie. 2éme Edition Française de Boeck Université. 1137 p.

129. Prescott., Harley., Klein., Wiley., Sherwood., Woolvetion. (2010). Microbiologie. 3éme Edition de Boeck Universities. Paris. 1088 p.

130. Prevost G. (2005). Toxins in *Staphylococcus aureus* pathogenesis. In: Proft T, ed. Microbial toxins: molecular and cellular biology. Norfolk: Horizon Bioscience Press. 243-83.

131. Prevost G., Cribier B., Couppie´ P., Petiau P., Supersac G. et al. (1995). Panton-Valentine leucocidin and gamma-haemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities.Infect Immun. **63**: 4121–4129.

132. Quincampoix J.C., Mainardi J.L. (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Réanimation. **10 :** 267-275.

133. Rahal K., Belouni R., Benslimani A., Tali-Maamar H., Boudouane M., Aboun A. (2005). Standardisasation de l'antibiobramme en medecine humaine a l'echelle nationale . Selon les recommandations de l'OMS, 4éme edition .94p.

134. Rahal K., Belouni R., Benslimani A., Tali-Maamar H., Boudouane M., Aboun A. (2008). Standardisasation de l'antibiobramme en medecine humaine a l'echelle nationale . Selon les recommandations de l'OMS, 5^{éme} edition .106p.

135. Rasigade J.P., Vandenesch F. (2013). *Staphylococcus aureus*: A pathogen with still unresolved issues. Infection, Genetics and Evolution. xxx-xxx.

136. Rebiahi S. (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibioresistance au niveau du Centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen. These de doctorat en Microbiologie. Laboratoire de Microbiologie Appliquée a l'agroalimentaire, au Biomedical et a l'Environnement (LAMAABE). Tlemcen.158p

137. Rebiahi S.A., Abdelouahid D.E., Rahmounb M., Abdelali S., Azzaoui H. (2011). Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). Médecine et maladies infectieuses. **41:** 646-651.

138. Rosato A.E., Kreiswirth B.N., Craig W.A. et al. (2003). *mecA-blaZ* corepressors in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. Antimicrob Agents Chemother. **47**: 1460-1463.

139. Ryan K.J., Ray C.G. (2004). Sherris Medical Microbiology, An introduction to infectious diseases, 4th Edition. The McGraw-Hill Companies. 979 p.

140. Saadatian-Elahi M., Teyssou R., Vanhems P. (2008). *Staphylococcus aureus*, the major pathogen in orthopaedic and cardiac surgical site infections: a literature review. Int J Surg. **6** (3): 238-45.

141. Schaechter M., Lederberg J. (2004). The Desk Encyclopedia of Microbiology. Edited by Moselio Schaechter. Elseirer Ltd. 1149 p.

142. Seiberling K.A., Conley D.B., Tripathi A., Grammer L.C., Shuh L. et al. (2005) Superantigens and chronic rhinosinusitis: detection of staphylococcal exotoxins in nasal polyps. Laryngoscope. **115**: 1580-1585.

143. Senouci B.M., Abdelouahid D.E. (2010). Méthodes et tecniques en bactériologie, Ofice des Publication Universitaires, Edution : 1.04.5168. 131p.

144. Seydi M., Sow A.I., Soumaré M., Diallo H.M. (2004). *Staphylococcus aureus* bacteremia in the Dakar Fann university hospital. Médecine et maladies infectieuses. **34** : 210-215

145. Sfeir M.M.D., Obeid Y.B.S., Eid C.B.S., Saliby M.B.S., Mastouri M., Nour M.,

146. Singleton P. (2004). Bactériologie pour la médecine la biologie et les bacte chnologie. 6éme Edition DUNOD. 542 p.

147. Sitti A.H. (2001). Contribution à l'étude de l'évolution de la qualité Bactériologique des produits de la pêche destinent à l'exportation de 1997 à 2000. 57 p.

148. Skiest D., Brown K., Hester J., Moore T., Crosby C., Mussa H.R., Hoffman-Roberts H., Cooper T. (2006). Community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an urban HIV clinic. HIV Medicine. **7**: 361-8.

149. Spicer W.J. (2003). Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29 p.

150. Steward P.S., Costerston J.W. (2001). Antibiotique resistance of bacteria in biofilms. The lancet. **358**: 135-138.

151. Swenson J.M., Tenover F.C. (2005). Cefoxitin Disk Study Group. Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate with presence of mecA in *Staphylococcus* spp. J Clin Microbiol. **43**: 3818-3823.

152. Tankovic J., Audry-damon H., Teclercq R. (1997). Résistance aux antibiotiques autres que les béta-lactamies chez *Staphylococcus aureus*. Mél. Mal. Infect. **27**: 207-16.

153. Tomasz A., Nachman S., Leaf H. (1991). Stable classes of phenotypic expression in methicillinresistantclinical isolates of staphylococci. Antimicrob Agents Chemother. **35**: 124-129.

154. Utsui Y., Yokota T. (1985). Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem- resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. **28:** 397-403.

155. Walsh T.R., Howe R.A. (2002). The prevalence and mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Annu Rev Microbiol. **56**: 657-675

156. Wisplinghoft H., Bischoft T., Tallent S.M., Seifert H., Wenzel R.P. (2004). Nosocomial Bloodsteam Infection in US Hospitals: Analysis of 24.179 Cases from a prospective Nationwide Surveillance Study. Clin Infect Dis. **39**: 309-18.

157. Wolff M. (2002). The management of treatment failures for staphylococcal infections. Ann Fr Anesth Reanim. **21**: 418-423.

158. Woodford N. (2005). Biological counterstrike: resistance mechanisms of gram-positive cocci. Clin Microbiol Infect. 11(Suppl 3): S2-S21.

159. Xia G., Kohler T., Peschel A. (2010). The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. International Journal of Medical Microbiology. **300**: 148-154.

160. Yarwood J.M., Bartels D.J., Volper E.M., Greenberg E.P. (2004). Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilms. J Bacteriol. **186** (6): 1838-50.

161. Yeh P.J., Simon D.M., Millar J.A., Alexander H.F., Franklin D. (2011). A diversity of Antibiotic-resistant *Staphylococcus spp*. Public Health Res Perspect Doi: 10. 1016/ j.phrp. 11 047. **2** (3): 202-209.

Annexe 1 : Les réactifs utilisent

- **Le violet de Gentiane (colorant primaire)**

  - Violet de gentiane (Crystal violet)…….1g

  - Alcool absolu ……10ml

  - Eau phéniquée à1 ……90ml

- **Liquide de lugol (mordant)**

  - Iode ……1g

  - Iodure de potassium……..2g

  - Eau distillée ……...300g

- **Alcool 96° (agent de décoloration)**
- **Solution de fuchsine ou de safranine (colorant de contraste)**

  - Solution de fuchsine saturée à l'alcool 10ml

  - Eau distillée.

- **Plasma de lapin**

  - Plasma de lapin lyophilisé 1 flacon : 10ml

  - Diluant (oxalate de sodium 1ampoule : 10ml)

Annexe 2 : Composition de certains milieux de culture

- **Le bouillon nutritif :** (milieu de base, complexe, liquide)
  - extrait de viande sec ……..5g
  - Bacot-peptone …….10g
  - Chlorure de sodium……5g
  - Eau distillée……1000ml
  - pH…….7, 2_ 7,4
  - Stérilisation par autoclavage pendant 15 min à 120 °C
- **La gélose Chapman** (milieu complexe gélosé, à la fois sélectif et différentiel)
  - Peptone ……10g
  - Extrait de viande de bœuf …….1g
  - Chlorure de sodium …….75g
  - Mannitol……10g
  - Agar agar……..15g
  - Eau distillée ……..1000ml
  - pH……7, 4
  - Stérilisation par autoclavage, à 110°C pendant 30 min.
- **Gélose nutritif**
  - Peptone …….10g
  - Extrait de viande ……4g
  - Chlorure de sodium ……5g
  - Agar ……..13g
  - pH=7.2

Préparation

29g par litre d'eau distillée, stérilisation par autoclavage, à120°C pendant 20 min.

- **Gélose. Meilleur-Hinton**
  - Infusion de viande de bœuf 300ml

- Peptone de caséine …….17.5g
- Amidon de mais ……...1.5g
- Agar ……...10g
- pH=7.4

Préparation ,37g par litre de l'eau distillée stérilisation par l'autoclavage à 116°C pendant 15min.

❖ **Gélose pour la conservation**

- Peptone……10g
- Extrait de viande …….....5g
- Chlorure de sodium…….. 5g
- Agar……..10g
- pH7.3

Préparation

Prêt à l'emploi en petits tubes fins

❖ **Base pour gélose au sang**

- Mélange spéciales de peptone ……23g
- Amidon ……..1g
- Chlorure de sodium ……...5g
- Agar…… 0.7g
- pH=7.3

Préparation

42.5g /l'eau distillée, stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min le sang est ajouté stérilement dans le milieu stérile en surfusion.

Annexe 3: Les antibiotiques testés sur les souches de *S. aureus.*

Familles des antibiotiques	Antibiotiques testés	Single	Charge de disque (µg)
βêta-lactamines	Pénicilline	**P**	6µg (10µI)
	Céfoxitine	**FOX**	30 µg
	Oxacilline	**OX**	6 µg
	Céfazoline	**CZ**	10 µg
Carbapénèmes	Imipenème	**IPM**	10 µg
Aminosides	Gentamycine	**GN**	10 µg
	Striptomycine	**SP**	10UI
	Kanamycine	**K**	30 µg
	Tobramycine	**TOB**	10 µg
Macrolides	Erythromycine	**E**	15 UI
Lincosamides	Clindamycine	**CM**	2 UI
Glycopeptides	Vancomycine	**VA**	30 µg
Fluoroquinolones	Norflaxacine	**NOR**	5 µg
Autres	Fosfomycine	**FOS**	50 µg
	Acide fusidique	**FUS**	10 µg

UI: Unité Internationale; **µg:** microgramme

Annexe 4 : Valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	**Diamètres critiques (mm)**		
	Sensible	**Intermédiaire**	**Résistances**
βêta-lactamines			
Pénicilline	≥29	-	≤28
Céfoxitine	≥22	-	≤21
Oxacilline	≥13	11-12	≤10
Carbapénèmes			
Imipenème	≥16	14-15	≤13
Aminosides			
Gentamycine	≥15	13-14	≤12
Kanamycine	≥18	14-17	≤13
Tobramycine	≥15	13-14	≤12
Macrolides			
Erythromycine	≥23	14-22	≤13
Lincosamides			
Clindamycine	≥21	-	≤14
Glycopeptides			
Vancomycine	≥15	-	-
Fluoroquinolones			
Norflaxacine	≥18	15-17	≤14
Autres			
Fosfomycine	≥14	-	≤14
Acide fusidique	≥22	15-21	≤15

Annexe 5 : Les maladies infectieuses des *Staphylococcus aureus*

Infection cutanés : Impétigo

Impetigo

Infection loco-régionale : Furonculose

Infection loco-régionale : Abcès

Souche toxinogène dans la lésion cutanée

Leucocidine de Panton-Valentine

Œil : Infection locale

Tableau 6 : Incidence de résistance des SARM dans l'hôpital de Mila (2007 à 2012).

	TE	**GN**	**SP**	**E**	**CL**	**SXT**	**NOR**	**FOS**	**AC-FU**
2007	0%	25%	66.67%	75%	66.67%	0%	20%	0%	100%
2008	66.67%	23.53%	16.67%	0%	57.14%	33.33%	0%	0%	0%
2009	0%	29.41%	25%	0%	70%	100%	33.33%	0%	0%
2010	0%	33.33%	33.33%	0%	0%	0%	0%	100%	0%
2011	0%	23.08%	0%	0%	54.54%	0%	0%	0%	0%
2012	0%	28.57%	0%	0%	0%	75%	0%	33.33%	0%

TE: Tétracycline ; **GN:** Gentamycine; **SP:** Streptomycine ; **E:** Erythromycine ; **CL:** Clindamycine ; **SXT :** Trim+Sulfamide, **NOR:** Norfloxacine, **FOS :** Fosfomycine*;* **AC-FU:** Acide-Fusidique.

Résumé

Dans la présente étude réalisée à l'hôpital de Mila, sur 260 isolats de *Staphylococcus spp.* , 236 souches était identifiées comme *S. aureus*, parmi elles 128 (54.24%) étaient résistantes à la méthicilline (SARM). Il est à noter que sur presque tous les antibiotiques testés, le SARM a montré une résistance supérieure à 50%. Une résistance totale (100%) était enregistrée avec Oxacilline, Pénicilline, Augmentin, et Céfazoline. Aussi, des taux de résistance élevés ont été observés de l'ordre de 82.79% et 81.82% pour la Clindamycine et l'Erythromycine respectivement, et 71.43% pour la Tétracycline et l'Acide-Fusidique. Des taux de résistance moyens de 62.50%, 57.89% et 50% pour la Fosfomycine, Trim+Sulfamide et Vancomycine respectivement. Les taux de résistance les plus faibles ont été remarqués avec les antibiotiques Streptomycine (38.09%), Gentamycine (24.24%) et Norfloxacine (23.81%).

Mots clés: *S. aureus*, SARM, antibiorésistance, antibiotiques, ACP.

Abstract

In this study realized in Mila hospital, 260 *Staphylococcus spp*. were isolated, 236 strains were identified as *S. aureus*, among them 128 (54.24%) were resistant to Méthicillin (MRSA). It should be noted that almost of all antibiotics tested, MRSA showed superior resistance to 50%. A total resistance (100 %) was recorded with Oxacillin, Penicillin, Augmentin, and Cefazolin. Also, high levels of resistance were observed in the range of 82.79% and 81.82% to the Clindamycin and Erythromycin, respectively, and 71.43 % for Tetracycline and Fusidic-Acid. Middle rates of resistance of 62.50%, 57.89% and 50% for Fosfomycin, Trim+Sulfamide and Vancomycin, respectively. The lowest resistance rates were observed with Streptomycin (38.09%), Gentamycin (24.24%) and Norfloxacin (23.81%).

Keywords: *S. aureus*, MRSA, antibioresistance, antibiotics, PCA.

ملخص

من خلال الدرلسة التي أجريناها بمستشفى ميلة، **من** 260 مكورة عنقودية، تم تحديد 236 **سلالة** بكتيرية **المكورة** العنقودية الذهبية، من بينها 128(54.24٪) كانت مقاومة للمضاد الحيوي الميتيسلين **(م م ح م)**. حيث سجلت مقاومة شبه كلية للمضادات الحيوية المختبرة، وأظهرت هذه الجرثومة مقاومة بنسب تفوق 50 ٪. تسجيل مجموع مقاومة (100 ٪) مع أوكساسيلين، البنسلين ، ايجيمنتين و سيفازولين. أيضا، لوحظت مستويات عالية من المقاومة في حدود 82.79 ٪ **إلى** 81.82 ٪ لكل من الكليندامايسين و الاريثروميسين على التوالي، و 71.43 ٪ لكل من التتراسيكلين و حمض الفوسيديك. **مقاومة ذات نسب متوسطة** 62.50 ٪ ، 57.89 ٪ **و** 50 ٪ **ل**: الفوسفوميسين، ثريم+سولفاميد والفانكومايسين على التوالي. ولوحظت معدلات أدنى مقاومة المضادات الحيوية مع الستربتوميسين (38.09 ٪) ، جنتاميسين (24.24 ٪) و نورفلوكساسين (23.81 ٪).

الكلمات المفتاحية: المكورة العنقودية الذهبية ، مقاومة للمضاد الحيوي الميتيسلين **(م م ح م)**، **مقاومة المضادات** الحيوية، المضادات الحيوية، التحليل الفضائي.