

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur et De La Recherche



Scientifique

Université Abbes Laghrour-Khenchela-

Faculté : Science de la technologie

DEPARTEMENT DE

Science de la matiere

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Filière : chimie analytique

Option : chimie analytique

Thème:

Etude de synergie et l'antagonisme de l'association d'antibiotiques sur le staff staphylococcu

Présenté Par :

Hiraoui asma

Méfardji nassima

Soutenu le :/...../2020

Jury de Soutenance :

Président	Hammadi fouzia	Université Abbes Laghrour – Khenchela
Encadreur	Bakha abd elhani	Université Abbes Laghrour – Khenchela
Co-encadreur	Badise zakaria	Université Abbes Laghrour – Khenchela
Examineur	Takouachte radhouan	Université Abbes Laghrour – Khenchela

Année universitaire : 2019/2020

Dédicace

*A ceux qui m'ont indiqué la bonne voie, A ceux qui attendent
patiemment le fruit de leur éducation*

*AUX deux êtres qui sont les plus chers au monde, pour leur
encouragement, leurs conseils et leurs sacrifices.*

*A ma mère : la lumière qui m'a toujours éclairée le chemin, à celle
qui a tout fait pour ma réussite, pour sa douceur, ses prières.*

*A mon père, à qui je dois tout le respect et l'amour, pour son soutien,
son encouragement et surtout sa confiance en moi.*

*A ma cher frère : **Abdelali** ;*

*Mes chères sœurs : **Sarra, Siham seha, Nadjah, Ayate arrahman,***

*Mes chers oncles : **Abd Arahim, Mokdad, Bilal, Omar, sabre.***

A mes chères tantes.

A mes chers grand père et mère paternel et maternel.

*A mes amis dans les moments dure : **haniya , teffaha , assia ,manal
, yossra ,chaima , romsisa .***

*A ma très chère binôme et mon amie **ASMA HIRAOUI***

*A mes collègues: **ahmed ,abd noor.***

A tout personne que j'ai connue, et j'ai aimé.

*A les anges de ma famille : **Modjib, Housseem, Pipou, Ayhem, Ziyad.***

*Au papillon **Ahelem.***

MEFARDJI NASSIMA

Remerciements

Nous tenons à remercier :

Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la force nécessaire pour arriver à ce stade de nos étude et de réalise ce modeste travail.

*Je tiens à exprimer mes profondes remerciement à mon encadreur de recherche Mr : **BAKHA Abd Elhani** pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant de diriger ce travail, ainsi que pour l'aide compétente qu'il m'a apportée et pour son soutien, sa rigueur et sa bienveillance. C'est avec une grande tristesse que j'ai appris le décès de profisseur Que Dieu ait pitié de lui et demeure dans son espace. Nous témoignons de ce que nous avons appris de lui et nous espérons être sur son chemin et l'imprimer sur la terre.*

*Je tiens aussi à remercier fortemen Mr: **BADIS Zakaria** pour ses conseils et ses orientations.*

*Aussi je remercie Mme : **HAMADI Fouzia** et Mr : **TAKOUACHTE Radhouane** pour m'avoir l'honneur d'accepter d'être membres du jury de mon travail*

J'adresse mes remerciements pour toute personne ayant apporté de l'aide de près ou de loin pour la réalisation de cette recherche.

HIRAOUI ASMA

MEFARDJI NASSIMA

Dédicace

A ceux qui m'ont indiqué la bonne voie, A ceux qui attendent patiemment le fruit de leur éducation

AUX deux êtres qui sont les plus chers au monde, pour leur encouragement, leurs conseils et leurs sacrifices.

*A ma mère **balkoum khmissa** : la lumière qui m'a toujours éclairée le chemin, à celle qui a tout fait pour ma réussite, pour sa douceur, ses prières.*

*A mon père **hiraoui boukhal**, à qui je dois tout le respect et l'amour, pour son soutien, son encouragement et surtout sa confiance en moi.*

*A mes cher frère : **houssam, okba***

*Ma chère sœur : **djamila***

*Mes chers oncles : **abd allah, ahmed, yassin, lamir, laidd***

A mes chères tantes.

A mes chers grand père et mère paternel et maternel.

*A mes amis dans les moments dure : **haniya, teffaha, assia, soulef, samia, ilham M, ilham G.***

*A mon très cher binôme et mon amie **Méfardjie Nassima***

*A me collègue: **ilyes.***

*A tout personne que j'ai connue, et j'ai aimé. A les anges de ma famille : **Ziyad, Amine, Banousse, Mouhamed, Niyzar.***

*Au papillon **Razan.***

HIRAOUI ASMA

Liste des abréviations

ADN: acide désoxyribonucléique.

ARN_m : Acide Ribo Nucléique messenger.

ARN: Acide Ribo Nucléique.

ARN_r : Acide Ribo Nucléique ribosomique.

ARN_t : Acide Ribo Nucléique de transfert.

β-lactamines : Bêta-lactamines.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

EPS : établissement public de santé.

MLS: Macrolides, Lincosamides et Streptogramines.

MSCRAMM: Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule.

PL: ponction lombaire

PLP2a: protéines liant les pénicillines.

PVL: leucocidine de Panton Valentine.

QRDR: quinolone resistance determining region.

SARM: *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

SARM-C: *Staphylococcus aureus* Résistant à la Métiline d'origine Communautaire.

SARM-H: *Staphylococcus aureus* Résistant à la Métiline d'origine Hospitalier.

SARV: *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SCC_{mec}: Staphylococcal chromosomal cassette *mec*.

TSST-1: toxine du choc toxique staphylococcique.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	structure d'une bactérie.	5
2	mode d'action des antibiotiques.	17
3	Les voies de transmission des staphylocoques	19
4	Image au microscope électronique de <i>S. aureus</i>	20
5	Schéma représentant quelques facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> et leur synthèse en fonction de la phase de croissance	21
6	Historique d'apparition des résistances aux antibiotiques chez <i>S. aureus</i>	23
7	Un antibiogramme, sur boîte de pétr	24
8	Fiche Technique d'Antibiogramme	33
9	La mise en évidence de la coagulase libre chez les <i>S. aureus</i> .	40
10	La mise en évidence des caractères biochimiques par la galerie API Staph.	40
11	Répartition des souches SARM en fonction des tranches d'âge	41
12	Répartition des souches de SARM en fonction du type de prélèvement.	42
13	Répartition des souches SARM en fonction du service d'hospitalisation.	42
14	Répartition des souches de SARM en fonction du type de l'infection.	43
15	Répartition des SARM communautaire et hospitalier en fonction du type de prélèvement.	46
16	Répartition des SARM communautaire et hospitalier en fonction du service d'hospitalisation.	47
17	Répartition des SARM communautaire et hospitalier en fonction du type de l'infection.	48
18	Répartition des SARM communautaire et hospitalier en fonction de l'antibiothérapie.	49
19	Fréquence de résistance des SARM aux antibiotiques.	51

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Les Antibiotiques testés et les Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>S. aureus</i> .	36
II	Les concentrations d'oxacillines préparées pour les CMI.	38
III	Répartition des SARM en fonction du sexe des patients.	41
IV	Répartition des SARM communautaire et hospitalier en fonction De l'âge et le sexe des patients.	46
V	Fréquence de la résistance des SARM aux antibiotiques.	50
VI	Phénotypes de résistance des souches SARM aux antibiotiques.	52
VII	Les CMI des souches de SARM vis-à-vis de l'oxacilline.	53

Sommaire

Introduction	
Partie théorique	
Chapitre I : Généralité sur les bactéries et les antibiotiques	
I .1. La découverte du monde microbien	3
I.2. Les microorganismes et les maladies	3
I.3. Morphologie et Structure fine des bactéries	4
I.3.1. Morphologie des bactéries	4
I.3.2. Structure des bactéries	5
I.4. Exemples des bactéries Gram négatif	8
<i>I.4.1. Escherichia coli</i>	8
• Définition	8
• Classification	8
• Habitat	9
• Pouvoir pathogène	9
• Résistance aux antibiotiques	9
<i>I.4.2. Pseudomonas aeruginosa</i>	10
• Définition	10
• Classification	10
• Habitat	10
• Pouvoir pathogène	10
• Résistance aux antibiotiques	11
I.5. Exemples des bactéries Gram positif	11
<i>I.5.1. Staphylococcus aureus</i>	11
• Définition	11
• Classification	11
• Habitat	12
• Pouvoir pathogène	12
• Résistance aux antibiotiques	12
<i>I.5.2. Streptococcus feacalis (D)</i>	13
• Définition	13

• Classification	13
• Habitat	13
• Pouvoir pathogène	14
• Résistance aux antibiotiques	14
I.6. Cultures des bactéries	14
I.7. Les antibiotiques	15
I.7.1. Définition	15
I.7.2. Historique	15
I.7.3. Critères de Classification	16
I.7.4. Modes d'action des antibiotiques	16
I.7.5. Résistance bactérienne aux antibiotiques	17
I.7.5.1. La résistance naturelle	17
I.7.5.2. La résistance acquise	17
I.7.6. Mécanisme de Résistance aux antibiotiques	18
I.7.6.1. Modification de la cible des antibiotiques	18
I.7.6.2. Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques	18
I.7.6.3. Baisse de la perméabilité de la paroi bactérienne	18
Chapitre II : <i>Staphylococcus aureus</i>	
II.1. Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i>	19
II.1.1 Historique et Taxonomie	19
II.1.2. Habitat et Mode de transmission	19
II.1.3. Caractères bactériologiques	20
II.2. Pouvoir pathogène de <i>S. aureus</i>	20
II.2.1. Facteurs de virulence	20
II.2.2. Les infections causées par <i>S. aureus</i>	22
II.3. La résistance aux antibiotiques	23
II.3.1. Bêta-lactamines	23
II.3.2. Glycopéptides	24
II.3.3. Aminosides	25
II.3.4. Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS)	25
II.3.5. Fluoroquinolones	25
II.3.6. Autres résistances	26

Chapitre III : Matériel et Méthodes.	
III.1. Cadre et objectifs de l'étude	28
III.2. Nature des prélèvements	28
III.3. Isolement et purification	29
III.4. Technique de préparation des antibiogrammes	29
III.4.1. Définition de l'antibiogramme	29
III.4.2. Le principe	30
III.4.3. Les méthodes	30
III.4.4. Matériel	31
III.4.5. Synthèse des étapes	31
III.5. Expérience: Antibiogramme	32
III.5.1. Identification	33
III.5.2. Recherche de la coagulase	33
III.5.3. Détermination du profil biochimique par Galerie API 20 Staph	34
III.6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	35
III.6.1. Criblage de <i>S. aureus</i> résistante à la méthicilline	35
III.6.2. Antibiogramme complémentaire	36
III.6.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	37
III.7. Analyse statistique	38
Chapitre IV : Résultats et Discussion.	
IV.1. Répartition des infections par SARM dans les 2 C.H.U	39
IV.1.1. Répartition des SARM en fonction de l'âge des patients	40
IV.1.2. Répartition des souches SARM en fonction du sexe	41
IV.1.3. Répartition des souches de SARM en fonction du type de prélèvement	41
IV.1.4. Répartition des souches SARM en fonction du service d'hospitalisation	42
IV.1.5. Répartition des souches de SARM en fonction du type d'infection	42
IV.1.6. Répartition des souches de SARM en fonction de l'antibiothérapie	43
IV.1.7. Discussion	43
IV.2. Comparaison entre SARM communautaire et hospitalier	45
IV.2.1. Selon le sexe et l'âge des patients	45
IV.2.2. Selon le type de prélèvement	46

IV.2.3. Selon le service	47
IV.2.4. Selon le type d'infection	47
IV.2.5. Selon l'antibiothérapie	48
IV.2.6. Discussion	49
IV.3. Résistance des SARM aux autres antibiotiques	50
IV.3.1. Taux de résistance des SARM	50
IV.3.2. Profils de résistance des SARM	52
IV.3.3. Les CMI des souches de SARM	53
IV.3.4. Discussion	53
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Introduction

Introduction

Le staphylocoque doré ou *Staphylococcus aureus* est un germe bactérien important en bactériologie médicale (**Armand-Lefèvre et al., 2010**) et a été au cours des dernières décennies, une des principales causes des infections hospitalières et communautaires (**Djoudi et al., 2014 ; Anderson et al., 2015**). *S. aureus* provoque un large éventail d'infections, allant d'atteintes cutanées bénignes comme les furoncles et panaris, à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies, les endocardites, les pneumopathies et les infections du système nerveux central (**Lowy, 1998**). La sévérité des infections humaines a été corrélée avec la production, par ces souches, d'un ensemble de facteurs de virulence (**Armand-Lefèvre et al., 2010**).

Avant l'ère des antibiotiques et de leur usage intensif, les infections causées par *S. aureus* étaient une cause fréquente de morbidité et de mortalité (**Marie-Claude, 2012 ; Lowy, 2003 ; Pittet et Sax, 2000**). Puis, ces infections étaient moins redoutées, en raison de diverses possibilités d'approche thérapeutique, liées au miracle des antibiotiques. Cependant, dans les années 1970, l'émergence continue de souches de *S. aureus* multi-résistantes à ces derniers commença à poser de sérieux problèmes dans le choix thérapeutique, plus particulièrement en milieu hospitalier, ce qui est devenu un problème majeur de santé publique (**Armand-Lefèvre et al., 2010; Grohs, 2008**). Cette résistance est liée à la grande plasticité génomique de *S. aureus*, qui peut être acquise par des mutations chromosomiques ou apportée par des plasmides et autres éléments génétiques mobiles (**Malachowa et al., 2010**). Ainsi, la résistance acquise chez cette espèce bactérienne vis-à-vis des antibiotiques s'est enrichie au fur et à mesure de l'introduction de ces antibiotiques en thérapie (**Armand-Lefèvre et al., 2010**).

Les infections liées aux **SARM** hospitaliers (**SARM-H**) ont visiblement imposé un lourd fardeau sur les ressources en soins de santé (**Song et al., 2011**). Puis vers la fin des années 1990, une nouvelle menace est apparue avec des souches de **SARM** typiquement communautaire, sans aucune relation avec les services de soins traditionnels (**Armand-Lefèvre et al., 2010 ; David et Daum, 2010**), qui ont été responsables d'une grande proportion de la charge de morbidité accrue observée durant la dernière décennie.

L'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques, couplée au non-respect des mesures d'hygiène et d'asepsie, ont permis à ces infections par *S. aureus* une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies (**Rebiahi, 2012**).

La prévalence croissante de *S. aureus* multirésistant aux médicaments, et qui limite d'ailleurs les options thérapeutiques disponibles contre ce pathogène, est devenue une question préoccupante dans le monde entier.

En Algérie, les taux de résistance à la méthicilline et autres familles d'antibiotiques ont été rapportés par plusieurs auteurs (**Rebiahi et al., 2011 ; Antri et al., 2011**). Cependant, aucun travail sur les infections à SARM dans la région de Kais et leurs profils de résistance n'a été réalisé. De plus, rares sont les études de synergie et l'antagonisme de l'association d'antibiotiques sur le staff staphylococcique. Raison pour laquelle nous avons entamé cette étude, afin d'apporter quelques éléments de réponses aux remarques précédentes, pour atteindre ces objectifs nous avons adopté la démarche suivante :

- Isoler et identifier des souches de *S. aureus* de différents prélèvements pathologiques ;
- Etudier la résistance des souches de *S. aureus* vis-à-vis de certaines familles d'antibiotiques ;
- Etudier de synergie et l'antagonisme de l'association d'antibiotiques sur le staff staphylococcique.

Notre travail s'organise en quatre chapitres.

Dans un premier chapitre nous présentons les types de bactéries, le deuxième chapitre a pour l'objectif d'éclairer la maladie de staff, le troisième chapitre aborde les matériels et méthodes de cette étude .

le chapitre quatre (résultats et discussion) permet d'identifier l'effet antagoniste d'un mélange de deux antibiotiques comme un traitement de la maladie de staff



partie théorique



Chapitre I : Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

I.1. La découverte du monde microbien

Dès 1546, Fracastoro suggéra que des organismes invisibles pouvaient être responsables des infections, mais c'est le Hollandais van Leeuwenhoek (1632-1723) qui a révélé à l'homme l'existence du monde microbien, en utilisant des microscopes simples. Les formes de bactéries qu'observait Leeuwenhoek n'étaient pas toutes identiques. Il a dessiné des formes sphériques (cocci²), des formes allongées, en bâtonnets (bacilles), et des spirilles contournées en spirale (**Philippon, Prots, 2002**).

I.2. Les microorganismes et les maladies

Avant même que les microbiologistes ne prouvent expérimentalement le rôle joué par les microorganismes dans les maladies, beaucoup d'observations ont été faites dans ce domaine.

- 1546, on suggérait que les maladies pouvaient être provoquées par des organismes trop petits pour être vus et sont transmis d'une personne à une autre.
- 1762, on prétendait que différents microorganismes provoquaient des maladies différentes.
- 1843, on suggérait que la fièvre puerpérale, infection que contractait la femme après l'accouchement, était contagieuse et causée par des microorganismes transportés d'une patiente à une autre par des sages femmes et les médecins.
 - 1870, **Robert Koch** a travaillé sur la maladie du charbon (maladie qui touche le bétail, les moutons et parfois l'homme). Il isola le microbe du charbon, du sang des animaux morts. C'était la première fois qu'on prouvait qu'une bactérie provoque une maladie animale. Plus tard, Koch découvrit les bactéries responsables de la tuberculose et du choléra (**Hart, Shears., 1997**).

I.3. Morphologie et Structure fine des bactéries

I.3.1. Morphologie des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, de petite taille (1 μ de diamètre) Ce sont des cellules procaryotes, c'est à dire des cellules qui ne possèdent qu'un seul chromosome et qui sont dépourvues de membrane nucléaire.

La bactérie est également dépourvue d'appareil mitotique, n'a pas de mitochondrie, pas de réticulum endoplasmique et pas d'appareil de golgi.

Par contre la plupart des bactéries possède un constituant qui leur est spécifique : **le peptidoglycane (Rougier., 2010).**

➤ **Formes des cellules bactériennes :** les bactéries sont des organismes de formes variées :

-Bactéries de formes arrondies ou **cocci**, isolées, en chaînette ou en amas (nombre variable de cellules), exemple: Staphylocoques, Streptocoques ...

-Bactéries de forme allongée ou **bacilles** isolés, en chaînette ou amas, de longueur et diamètre variables, exemple : *E. coli*, *Salmonella*, *Bacillus* etc....

-Bactéries de forme **spiralée**, spirilles ou spirochètes comme: *Treponema*...

-Un groupe particulier de bactéries de forme filamenteuse se rapprochant des moisissures: les Actinomycètes (**Rougier., 2010**).

➤ **Taille :** les bactéries les plus petites ont une taille d'environ 0,2 μ m (Chlamydia) et les plus longues sont certaines Spirochètes. Elles peuvent atteindre 250 μ m de long. En moyenne la taille se situe entre 1 et 10 μ m (**Rougier., 2010**).

I.3.2. Structure des bactéries

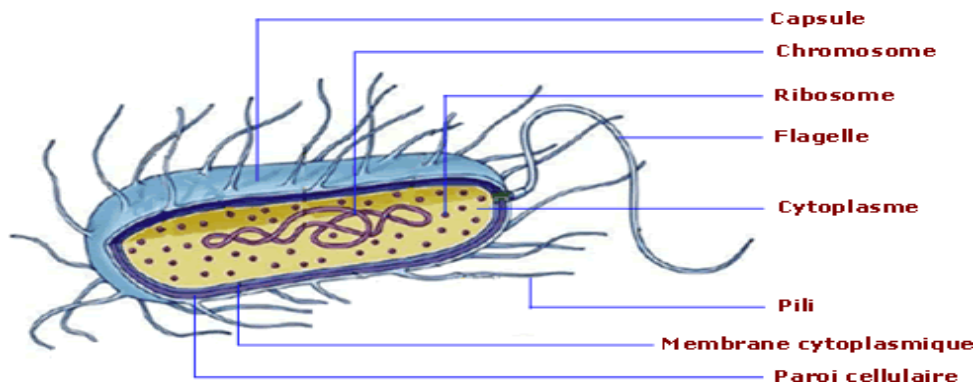


Figure 1: structure d'une bactérie .

➤ Le nucléoïde

Chez les bactéries, le chromosome consiste typiquement en une boucle fermée d'acide désoxyribonucléique. IL y a cependant des espèces telles que *borrelia burgdorferi* dont le chromosome est fait d'une molécule d'ADN linéaire. Dans l'un et l'autre cas, le chromosome est considérablement replié en un corpuscule compact, le *nucléoïde* (Singleton., 2005).

➤ Les plasmides

Les plasmides sont de petits éléments, circulaires , constituant du matériel génétique extra-chromosomique. ILS sont autonomes et capables de se répliquer indépendamment du chromosome. ILS codent pour la synthèse de différentes protéines enzymatiques conférant ainsi à la bactérie qui les possède, des caractères particuliers tels que la possibilité d'utiliser

Tel ou tel substrat et la **résistance aux antibiotiques**. Les plasmides sont **transmissibles** à d'autres bactéries (Singleton., 2005).

➤ Le cytoplasme

Est un fluide aqueux (a base d'eau) qui contient des ribosomes, des éléments nutritifs, des ions, des enzymes, des déchets et diverses molécules impliquées dans les synthèses, l'entretien cellulaire et le métabolisme énergétique. Dans certaines conditions, on peut y trouver des granules de réserves. Il n'y a pas d'équivalents de réticulum endoplasmique des cellules eucaryotes (Singleton., 2005).

➤ **Les ribosomes**

Sont des corpuscules arrondis minuscules, d'environ 0,025 µm de diamètre, faits d'ARNr la sous unité ribosomique 30S contient l'ARNr 16S, tandis que la sous unité 50S contient les ARNr 5S et 23S), et de protéines. Ils constituent les sites de synthèses des protéines (Singleton., 2005).

➤ **Les granules de réserve**

Mises dans les conditions adéquates, beaucoup de bactéries produisent des polymères qui sont stockés dans le cytoplasme, sous forme de granules. Ces composés contiennent du poly-β-hydroxybutyrate et du polyphosphate (Singleton., 2005).

➤ **Les vacuoles gazeuses**

Un groupe de petites vésicules allongées, creuses et remplies de gaz. Chaque vésicule est entourée d'une paroi protéique et a communément un diamètre de 60 à 250 nm (Singleton., 2005).

➤ **Les carboxysomes**

Sont des corpuscules intracellulaires de 100 à 500 nm de diamètre, qu'on trouve dans beaucoup de bactéries autotrophes, c'est-à-dire les bactéries capables d'utiliser le CO₂ pour une grande partie ou pour la totalité de leurs besoins de carbone. Un carboxysome est un sac ou coquille membranaire renfermant de nombreuses copies d'une enzyme (RuBisCO) impliquée dans la fixation du CO₂ atmosphérique (Singleton., 2005).

➤ **Les thylacoïdes**

Sont des sacs membranaires intracellulaires aplatis, présents dans la plupart des cyanobactéries. Ils se localisent à proximité de et parallèlement à l'enveloppe cellulaire, mais il semble qu'il s'agisse d'une structure différente de la membrane cytoplasmique. Les membranes des thylacoïdes contiennent des chlorophylles et il s'y effectue de la photosynthèse et dans certains cas, ce sont des sites d'activités respiratoires (Singleton., 2005).

➤ **Le Glycocalyx**

C'est un feutrage c'est à dire un ensemble de fibres qui entoure les bactéries et qui permet d'adhérer à un support (Rougier., 2010).

➤ **La Capsule**

Est une structure extérieure non constante. Elle entoure la bactérie. Sa constitution est le plus souvent polysaccharidique, parfois protéique. Elle n'est pas colorable par les techniques bactériologiques. C'est un facteur de virulence car elle protège la bactérie de la phagocytose. La capsule est antigénique. Les antigènes capsulaires sont dénommés **antigène K** (Singleton., 2005).

➤ **Les flagelles**

Les flagelles ou cils sont des structures rigides, ondulées qui naissent de la membrane cytoplasmique. Ils permettent la mobilité des bactéries et seules les espèces qui en sont pourvues, sont mobiles. Ils sont constitués d'une protéine appelée **flagelline** (Rougier., 2010).

➤ **Les pili**

Les pili (poils) sont des formations qu'on ne peut observer qu'au microscope électronique. On différencie les pili communs ou fimbriae des pili sexuels :

Les pili communs ou **fimbriae** : sont courts et cassants. Ils sont utiles pour l'adhésion des bactéries aux interfaces et aux muqueuses et sont donc des facteurs de virulence. Ils ont une structure protéique : **la piline** (Rougier., 2010).

Les pili sexuels: plus longs, relient deux bactéries et sont des voies d'échanges de matériel génétique entre les bactéries. Les bactéries capables de produire des pili sexuels sont des bactéries "mâles" à l'opposé des autres qui sont dites "femelles" (Rougier., 2010).

➤ **La membrane cytoplasmique**

Est constituée d'une double couche de molécules lipidiques de 7 à 8 nm d'épaisseur, dans laquelle des molécules de protéines sont partiellement ou complètement enchâssées. Certaines protéines s'étendent sur toute l'épaisseur de la membrane. La disposition des molécules de lipides est telle que les deux phases (interne et externe) de la membrane sont hydrophiles tandis que l'intérieure est hydrophobe (Singleton., 2005).

➤ **La paroi bactérienne**

Une couche externe solide qui détermine la forme cellulaire. Elle constitue également une barrière de perméabilité qui exclut diverses molécules.

D'une espèce bactérienne à l'autre, la paroi cellulaire peut différer beaucoup en épaisseur, en structure et en composition. Selon ces paramètres, on peut distinguer deux types de paroi et donc deux types de bactéries:

➤ **Les bactéries à paroi Gram négatif**

Ce type de paroi est de 20 à 30 nm d'épaisseur, composée de couches distinctes. On décrit la couche directement extérieur à la membrane cytoplasmique comme un « gel périplasmique » de peptidoglycane (en plusieurs couches), épais d'environ 15 nm (1 à 10%) du poids sec de la cellule, et une couche externe de la paroi, dite membrane externe qui est une bicouche lipidique contenant des protéines. Cependant, alors que la couche lipidique interne est faite de phospholipides, la couche lipidique externe, quant à elle se compose de macromolécules appelées lipopolysaccharides (LPS) (Singleton., 2005).

➤ **Les bactéries à paroi Gram positif**

La paroi est épaisse (de 30 à 300 nm), ayant un aspect simple et uniforme. Un polymère complexe et résistant, le *peptidoglycane* (murène), constitue entre 40 à 80% de la paroi. Ce peptidoglycane, est fait de chaîne linéaire hétéropolysaccharidique pontée par de courts peptides (Singleton., 2005).

I.4. Exemples des bactéries Gram négatif:

I.4.1. Escherichia coli

Définition

Bacille à Gram négatif, se développe sur gélose ordinaire (ex :gélose nutritive), habituellement mobile et pourvu de fimbriae, métabolisme respiratoire lorsque les conditions sont aérobies. Les réactions typiques sont les suivantes : fermente le glucose, indole⁺, uréase-négative, H₂S-négatif, lactose positif, gazogène, mais ne produit pas d'acétine (Singleton., 2005).

Classification

- **Domaine** : *Bactérie*

- **Phylum** : *Proteobacteria*

- **Classe** : *Gammaproteobacteria*
 - **Ordre** : *Enterobacteriales*
 - **Famille** : *Enterobacteriaceae*
 - **Genre** : *Escherichia*
 - **Espèce** : *Escherichia coli* (Garrity et al., 2007).
- **Habitat**
- C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *E coli* ou *colibacille* est habituellement une bactérie commensale qui peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers. (Nauciel, Vild., 2005).
- **Pouvoir pathogène**
- Infections intestinales.
Infections urinaires
Infection abdominales.
- Infections méningées néonatales (Helene., 2003)
- **Résistance aux antibiotiques**
- *E. coli* était sensible à beaucoup d'antibiotiques comme exemple : céfazoline, éftriaxone, cefixitine...mais l'acquisition de la résistance à un large spectre d'antibiotiques est très fréquente surtout en milieu hospitalier.
- Elle est résistante à certains antibiotiques mais à des fréquences différentes. Elle résiste beaucoup plus à la Gentamycine, Érythromycine, Lyncomycine... alors que les fréquences de résistance sont faibles pour les sulfamides (45%), chloramphénicol (20%) (Hart, Shears ., 1997).

I.4.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Définition

P. aeruginosa (ou bacilles pyocyanique) sont des bacilles à Gram négatif, fins, droit et très mobiles grâce à un flagelle polaire. Ils ont une ciliature monotriche et sont dépourvus de spores et de capsule. Ils sont aérobies strictes, se cultivant facilement sur tous les milieux en aérobie (Singleton., 2005). Cette bactérie croît à 37°C et même à 42°C. Elle dégage une odeur aromatique de seringa. La caractéristique fondamentale de cette espèce est la production de pigments spécifiques : pyoverdine et pyocyanine, qui donne une couleur bleu-vert aux colonies (Helene., 2003)

Classification

- **Domaine** : *Bactérie*
- **Phylum** : *Proteobacteria*
- **Classe** : *Gammaproteobacteria*
- **Ordre** : *Pseudomonadales*
- **Famille** : *Pseudomonaceae*
- **Genre** : *Pseudomonas*
- **Espèce** : *Pseudomonas aeruginosa* (Garrity et al., 2007).

Habitat

La bactérie est très répandue dans l'eau et les milieux humides. Elle peut aussi coloniser l'homme. Cette bactérie est fréquente en milieu hospitalier entraînant l'apparition de véritables souches d'Hôpital, qui se développent même dans l'eau distillée ou salée (Garrity et al., 2007).

Pouvoir pathogène

La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez des sujets dont les défenses sont amoindries.

Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques, pulmonaires, oculaires, ostéo-articulaires mais également surinfecter des lésions cutanées et provoquer des otites externes (Garrity et al., 2007).

Résistance aux antibiotiques

Pseudomonas aeruginosa est très résistante, beaucoup plus aux antibiotiques suivants: Pipéracilline, Ticarcilline, Pristin, Péfloxacin, Trimétoprime+sulfaméthoxazole, Tobramycine.

L'activité de ces antibiotiques sur cette souche doit être toujours vérifiée par un antibiogramme (Garrity et al., 2007).

I.5. Exemples des bactéries Gram positif:

I.5.1. Staphylococcus aureus

Définition

C'est une bactérie à Gram positif, aérobie, anaérobie facultatif, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. son optimum de croissance est atteint à 37°C, mais végète à 10°C et à 40°C, il pousse sur des milieux contenant de fortes concentrations salines comme le milieu Chapman qui comporte 7.5% de NaCl.

S. aureus provoque sur milieu Chapman un virage au jaune dû à l'acidification produite par la dégradation du mannitol (Helene ., 2003).

Classification

- **Domaine** : Bactérie.
- **Phylum** : Ficcus.
- **Classe** : Micrococci.
- **Ordre** : Micrococcales.
- **Famille** : Micrococcaceae.
- **Genre** : Staphylococcus.

- **Espèce** : *Staphylococcus aureus* (Garrity et al., 2007).

Habitat

S.aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux et les zones cutanées humides (périnée, aisselles)

Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (Nauciel, Vild., 2005).

Pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* car il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales en plusieurs formes:

Formes cutanées: atteinte plus ou moins sévère des follicules pilo-sébacés, atteinte péri-onguéal. Certaines formes superficielles peuvent se compliquer de lésions bulleuses graves lorsque la souche de staphylocoque est productrice d'exfoliative.

Formes muqueuses : otites, sinusites, mastoïdites, conjonctivites.

Formes généralisées:

-Septicémie succédant à un foyer initial cutanéomuqueux.

-Formes intestinales par absorption de toxine préformée dans des aliments contaminés par *Staphylocoque* (Helene., 2003)

Résistance aux antibiotiques

S.aureus est en générale multi-résistante aux antibiotiques surtout aux pénicillines G et A, mais elle est sensible aux pénicillines M, macrolides, fluoroquinolones.

I.5.2. *Streptococcus faecalis* (D)

Définition

Sont des coques de 1µm, Gram-positifs, non-sporulants. Leur Capsule est souvent présente, catalase négatifs, chimioorgano-hétérotrophes, possédant un métabolisme fermentatif. (Singleton., 2005).

Ce groupe est caractérisé par la présence de l'antigène du groupe D qui n'est pas un polysaccharide mais qui est constitué par l'acide teichoïque de la paroi.

Les streptocoques sont des germes exigeants qui ne poussent donc pas sur les milieux de culture ordinaires. Ceux-ci doivent être additionnés de sérum ou de sang frais (Helene., 2003).

Classification

- **Domaine** : *Bactérie*.
- **Phylum** : *fimicutes*.
- **Classe** : *bacilli*.
- **Ordre** : *lactobacillales*.
- **Famille** : *Streptococcaceae*.
- **Genre** : *enterococcaceae*.
- **Espèce** : *Streptococcus faecalis* (D) (Bonnefoy et al., 2002).

Habitat

Les *streptocoques* regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites de l'espèce humaine (streptocoques des groupes A, C et G de LANCEFIELD), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale (*streptocoques* du groupe B et *streptocoques* non groupables et non hémolytiques) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (*streptocoques* du groupe D) (Helene., 2003).

Pouvoir pathogène

Les streptocoques du groupe D, sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. Elle est responsable d'infections localisées, de septicémies et d'endocardites (Piochon., 2002).

Résistance aux antibiotiques

Les *streptocoques feacalis* du groupe D sont plus accessibles que les entérocoques aux antibiotiques mais des résistances acquises peuvent être observées. Un antibiogramme est Nécessaire pour les détecter. Les infections bénignes répondent bien aux bêtalactamines mais les infections sévères nécessitent une association **bêta-lactamine-aminoside** (Piochon., 2002).

I.6. Cultures des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries, des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de gélose, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à ébullition et de se solidifier à des températures inférieures à 40°C.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, les bactéries se déposent à la surface. Lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visibles à l'œil nu, que l'on appelle colonie (si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieu solide permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon. Il suffit en effet pour cela, d'étaler sur des milieux solides (gélés) un volume connu de différentes dilutions de l'échantillon et de compter les colonies obtenues avec la dilution adéquate. Un autre intérêt des milieux solides est qu'ils permettent d'apprécier la morphologie des colonies qui peut varier selon les espèces bactériennes (Nauciel., Vild., 2005).

I.7. Les antibiotiques

I.7.1. Définition

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant ou substance chimique produite par synthèse ou encore substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne.
- Activité en milieu organique.

Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

I.7.2. Historique

Les antibiotiques existent depuis déjà plusieurs décennies. En 1877 Louis Pasteur et Joubert avaient constaté que la présence de certains contaminants bactériens nuisait à la croissance d'autres espèces bactériennes.

En fait, un médecin britannique, Sir Alexander Fleming, a découvert en 1928 que la moisissure *Penicillium* exerçait un effet bactéricide sur les bactéries pathogènes, qui ne pouvaient se multiplier en sa présence. Grâce à cette observation importante, la pénicilline fut découverte.

Bien que les sulfamidés aient été démontrés bactéricides dès 1935, c'est l'utilisation de la pénicilline lors de la 2^{ème} Guerre mondiale (1939-1945) qui a véritablement lancé l'ère des antibiotiques.

Après plusieurs années d'utilisation des antibiotiques, le Chirurgien Chef des États Unis sonnait en 1969 le glas des maladies infectieuses en affirmant que celles-ci étaient choses du passé.

Entre 1945 et 1980, plusieurs catégories d'antibiotiques ont vu le jour. Chacun de ces produits s'avérant très efficace.

La création de nouveaux antibiotiques s'est par contre arrêtée entre 1980 et 1990, puisque

des centaines de ces produits existaient. Cependant, aucune nouvelle classe d'antibiotiques, c'est-à-dire s'attaquant à une cible bactérienne inédite, n'a été commercialisée depuis 25 ans. Ceci constitue un point faible de l'antibiothérapie (**Fournier., 2003**).

I.7.3. Critères de Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon son :

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- **Spectre d'activité** : les espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse (**Auckenthaler, Bergogne- Berezin., 1995**).

I.7.4. Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (**Voir Fig 2**).

ILS agissent par:

➤ **Toxicité sélective au niveau de la**

1- Synthèse des peptidoglycanes de la paroi bactérienne (β lactamines, glycopeptides et fosfomycine).

2-Membrane cytoplasmique (Polymixine B et E).

3- Synthèse des protéines (Aminosides, Macrolides-Lincosamides- Streptogramines (**MLS**), Tétracyclines, Phénicolés).

4- Acides nucléiques (Quinolones et Fluoroquinolones, Rifamycines, Nitrofuranes, Novobiocine et Nitro-imidazoles).

➤ **Inhibition compétitive :**

Dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (**Auckenthaler., Bergogne-Berezin., 1995**).

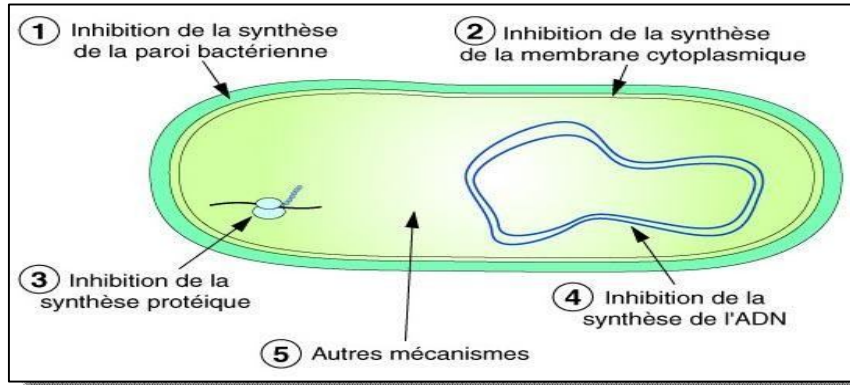


Figure 2 : mode d'action des antibiotiques (Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995).

I.7.5. Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, ou acquise.

I.7.5.1. La résistance naturelle

- Une caractéristique propre, concernant l'ensemble des souches de la même espèce ou du même genre.
- Portée par un chromosome donc toujours transmissible à la descendance.
- Un caractère permettant de définir le phénotype sauvage de l'espèce.
- Une aide à l'identification d'une espèce (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

I.7.5.2. La résistance acquise

- Ne concerne qu'une proportion plus ou moins importante, variable entre les souches de la même espèce.
- Résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de plasmides ou transposons (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

I.7.6. Mécanisme de Résistance aux antibiotiques

3 principaux mécanismes sont responsables de la résistance aux antibiotiques:

I.7.6.1. Modification de la cible des antibiotiques

Pour être actif, l'antibiotique doit se fixer d'abord sur une cible. Dans le cas des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) situées dans la membrane cytoplasmiques bactériennes, il peut s'agir soit d'une substitution de ces PLP et ou soit d'une diminution de l'affinité de ces PLP (**Fournier., 2003**).

I.7.6.2. Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques

Ex: Les bêta lactamases pour les bêtalactamines.

C'est le cycle bêtalactame qui est hydrolysé et inactivé par les bêtalactamases, entraînant ainsi la perte de l'activité antibactérienne (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

I.7.6.3. Baisse de la perméabilité de la paroi bactérienne

La synthèse d'une porine ou du lipopolysaccharide peut être affectée, ce qui réduit la perméabilité externe: l'antibiotique ne peut plus atteindre sa cible. Il peut aussi s'agir d'un efflux actif de l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).



Chapitre II:
STAPHYLOCOCCUS
AUREUS

II.1 .Généralités sur Staphylococcus aureus

II.1.1. Historique et Taxonomie:

Les Staphylocoques ont été découverts dans un pus par Louis Pasteur en 1880. En 1883, Alexandre Ogsto a créé le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (KoKKos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries (Avril et al., 1992). L'espèce pathogène pour l'homme est loin de staphylococcus doré ou *S. aureus*.

Selon la 2^{ème} édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les *Staphylococcus aureus* sont classées parmi les bactéries à Gram positif, pauvres en GC %, dans : Phylum : Firmicutes

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Genre : *Staphylococcus*

Famille : *Staphylococcaceae*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Garrity et al., 2007)

II.1.2. Habitat et Mode de transmission:

La bactérie est très répandue chez de nombreuses espèces animales et l'homme. Chez ce dernier, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains, qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. La transmission interhumain s'opère généralement par contact direct (manuportage) (Nauciel et Vildé, 2005), ou indirecte par l'intermédiaire des aliments ou du milieu extérieur (Avril et al., 1992) (Figure3).

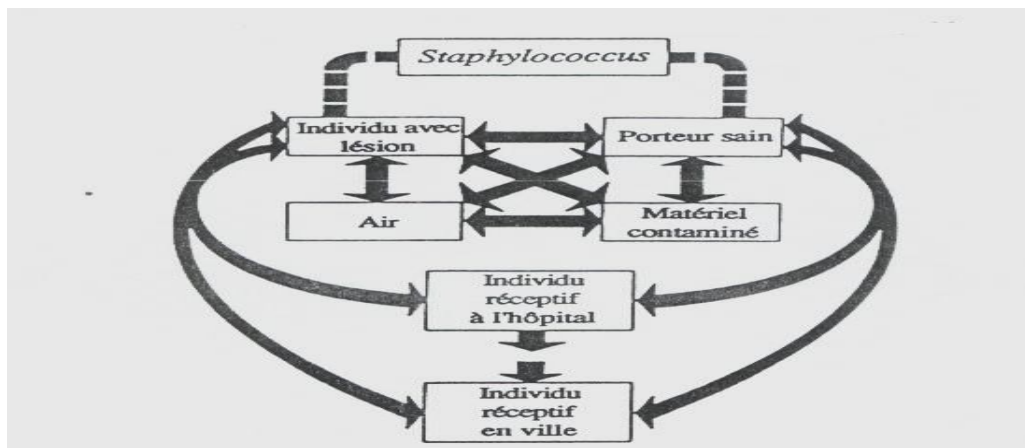


Figure 3 : Les voies de transmission des staphylocoques (Avril et al., 2003).

II.1.3. Caractères bactériologiques:

Les *Staphylococcus aureus* sont des cocci Gram-positif de 0,5 à 1,5 μm de diamètre (Couture, 1990), sur les cultures en milieu solide ils sont disposés en amas irréguliers, évoquant l'aspect caractéristique d'un "grappes de raisin" (Fauchere et Avril, 2002), immobiles, non sporulées et habituellement non capsulées, aéro-anaérobies, cultivé en milieux ordinaire. *S. aureus* peut également être cultivé en milieu sélectif salé (Chapman) «7,5 % de NaCl» (Le Minor et Veron, 1990). Les colonies observées après 24h d'incubation sont lisses, opaques, convexes et présentent un bord net, sur gélose au sang les colonies sont souvent beta-hémolytiques (Avril et al., 1992). Par contre, En bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le *S. aureus*, le milieu de Baird Parker est utilisé, qui est à base de téllurite comme agent sélectif, enrichi en glycine, en pyruvate et en jaune d'œuf (colonies noire). (Le Minor et Veron, 1990). Globalement, l'espèce *S. aureus* peut être différenciée des autres staphylocoques par la présence simultanée de la coagulase libre et d'une DNase thermostable (Couture ,1990 ; Fauchere et Avril, 2002).

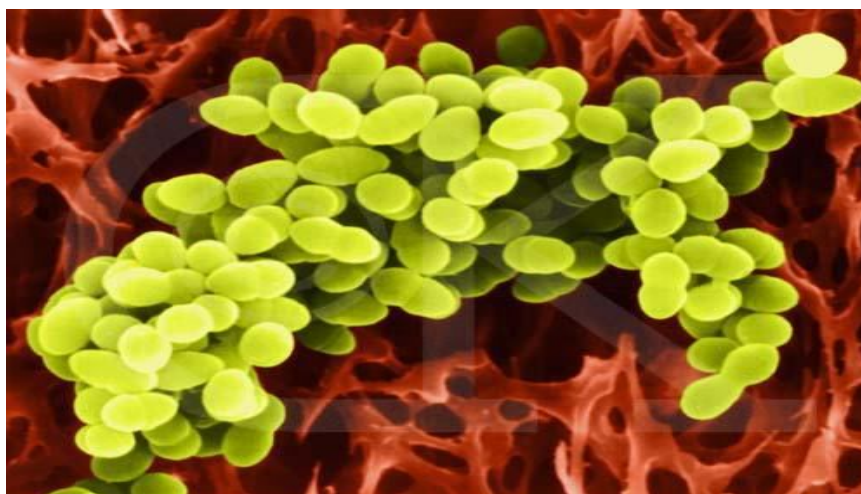


Figure 4: Image au microscope électronique de *S. aureus*.

II.2. Pouvoir pathogène de *S. aureus*:

II.2.1. Facteurs de virulence:

S. aureus est doté d'une impression arsenal de facteurs de virulence, dont des facteurs structuraux et sécrétés, jouant des rôles dans la pathogénèse de l'infection (Gordon et lowy ,2008), pour la plupart des maladies provoquées par cet organisme, la pathogénèse est multifactorielle (Baron ,1996) .

S. aureus possède un grand nombre de protéines de surface appelées adhésines, qui ont la capacité de se fixer sur les molécules de l'hôte. La grande majorité de ces adhésines appartiennent à la famille des **MSCRAMM** (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule) forment un ensemble de protéines qui, comme son nom l'indique, sont caractérisées par leur capacité à se lier à des éléments de la matrice extracellulaire. Ces protéines lient des molécules telles que le collagène, fibronectine et initient les infections endovasculaires, osseuses et articulaires et aident dans la formation de biofilms (**Lowy, 1998**). Ainsi que les protéines de liaison au fibrinogène et la protéine A qui possède également une activité super antigénique (**Clarke et Foster, 2006**).

S. aureus possède également de nombreuses enzymes impliquées dans sa virulence : il s'agit hémolysine, de nucléases, de protéases permettant une pénétration des tissus et une adhésion sélectif, mais aussi des lipases, des hyaluronidases et des collagénase. (**Lowy, 1998 ; Dinges et al., 2000**). Certains souches produisant également une ou plusieurs exotoxines tel que la leucocidine de Penton-Valentine (**PVL**), des toxines exfoliatives (EFT) des enterotoxines ou encore la toxine-1 du syndrome du choc toxique (TSS1) (**Dinges et al., 2000 ; Armand-Lefevr, 2010 ; Rashidieh et al., 2015**).

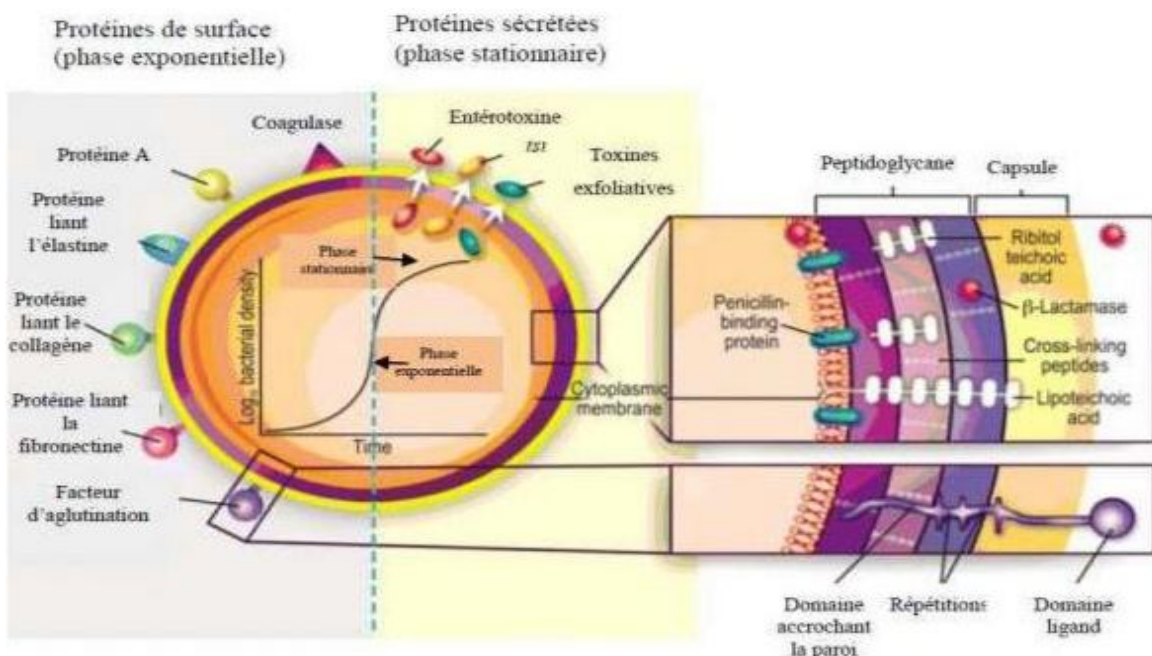


Figure 5 : Schéma représentant quelques facteurs de virulence de *S. aureus* et leur synthèse en fonction de la phase de croissance (**Gordon et al. 2008**).

II.2.2. Les infections causée par *S. aureus*:

S. aureus est à l'origine de pathologies extrêmement variées, qui peuvent être des infections Suppurative, localisées ou systémiques, mais aussi des syndromes liés à l'action de toxines ; (**Dumitrescu et al. 2008**). Ce pathogène principalement connu pour causer des furoncles, l'impétigo et d'autres infections superficielles de la peau chez les humains. Il peut également causer des infections plus graves, en particulier chez les personnes affaiblies par des maladies chroniques, des lésions traumatiques, de brûlures ou d'immunosuppression,

ces infections incluent la pneumonie, abcès profonds, l'ostéomyélite, l'endocardite, la phlébite, et la méningite (**Baron ,1996**). Parmi les infections graves mettant en cause par *S. aureus* en peut cité:

Le choc toxique staphylococcique qui est due à une toxine du staphylocoque (TSST), elles sont capables d'activer de façon polyclonale les lymphocytes T, entraînant la sécrétion massive de cytokines. Il en résulte une augmentation de la perméabilité capillaire et une fuite massive de liquide dans le secteur interstitiel responsable du choc (**Dumitrescu, 2012**). Ce syndrome associe une fièvre avec éruption scarlatiniforme, une hypotension et des atteintes cérébrales, rénales, et musculaires (**Avril et Fauchère, 2002**).

Syndrome de Ritter chez le nouveau-né connu essentiellement par syndrome de la peau ébouillantée, ce syndrome est causé par la toxine exfoliatine ou épidermolytique (**Piemont et al. 1998**) , il est responsable d'une érythrodermie douloureuse initialement péri-orbitaire et péri-buccale qui se généralise en 24 heures et qui est suivie par un décollement bulleux (**Eveillard, 2007**).

La pneumonie nécrosante est due à la sécrétion de **PVL** au niveau pulmonaire. Cette toxine agit in vitro en créant des nécroses tissulaires et des pores dans les membranes cellulaires (**Dumitrescu, 2012**).

Toxi-infections alimentaires elles sont dues à l'ingestion d'entérotoxines, préformées dans l'aliment, entraînant des troubles d'apparition précoce avec vomissements, diarrhée, déshydratation et absence de fièvre (**Avril et al. 1992**).

Les septicémies sont la conséquence de la dissémination du germe à partir d'un foyer localisé et peuvent survenir chez le non immunodéprimé, favorisées par des

traumatismes locaux et de l'implantation de corps étrangers (cathéters, sondes, interventions chirurgicales, brûlure étendus, traumatismes vasculaires) (Berche, 2002).

II.3. La résistance aux antibiotiques:

L'apparition des antibiotiques a été une révolution dans le traitement des infections bactériennes et a nourri de grands espoirs. Mais rapidement, l'apparition de souches résistantes à ces molécules a remis en cause l'efficacité de ces traitements. Depuis, l'apparition de mécanisme de résistance au sein des souches bactériennes est une préoccupation permanente en santé publique. Le *S. aureus* est une des meilleures illustrations de cette évolution (Lowy, 2003).

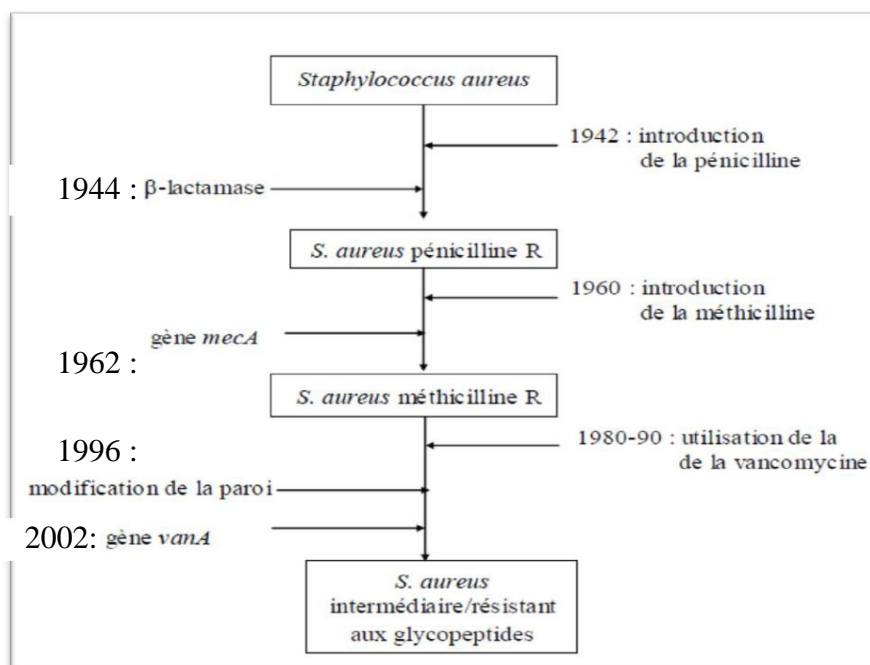


Figure 6: Historique d'apparition des résistances aux antibiotiques chez *S. aureus* (Corne, 2004 ; Hardy et al. 2004)

II.3.1. Bêta-lactamines:

Les bêta-lactamines ont pour cibles différentes enzymes (PLP) impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. La fixation des bêta-lactamines à ces cibles entraîne l'absence de polymérisation du peptidoglycane et secondairement la synthèse par la bactérie d'autolysines conduisant à sa mort (Daurel et Leclercq, 2008). Cependant dès 1942, les premières souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline par production d'une

penicillinase ont fait leur apparition (Mark *et al.* 2011), qui hydrolyse le cycle β -lactame de la pénicilline et les rend inactive. Actuellement, plus de 90% des isolats sont résistants à

L'action de cet antibiotique. Cette résistance est méditée par le gène *blaZ* (Lowy, 2003). Par la suite, les nouveaux antibiotiques β -lactames tels que la méthicilline, l'oxacilline et des céphalosporines qui étaient résistants à l'action de la penicillinase, ont été introduit en thérapie. Mais peu de temps après, les premiers isolats résistants à la méthicilline (SARM) ont fait leur apparition (Mark *et al.* 2011).

Cette résistance est liée à la synthèse d'une protéine liant la pénicilline additionnelle, **PLP2a**, sous le contrôle du gène *mecA*, localisé sur un élément génétique mobile chromosomique, appelé staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) (Tattevin, 2011 ; Del Giudice *et al.* , 2012) en suite, des céphalosporines de cinquième génération, telles que ceftobiprole et ceftaroline, sont introduit en thérapeutique humaine pour le traitement des infections bactériennes à SARM par inhibition de la **PLP2a**, cependant, des mécanismes de résistance à ces antibiotiques basée sur des mutations dans le gène *mecA* ont été décrite récemment (Greninger *et al.*, 2016).

II.3.2. Glycopéptides:

La dissémination de la résistance à la méthicilline chez les *S. aureus* a conduit à une augmentation de la prescription des glycopéptides. Cependant une résistance à la teicoplanine a été décrite chez des souches de *S. aureus* et depuis 1997, une résistance intermédiaire à la vancomycine conduisant à des échecs thérapeutiques a été rapportée également (Elhamzaoui *et al.*, 2009).

Cette sensibilité diminuée aux glycopeptides est due essentiellement à l'épaississement de la paroi bactérienne qui piège le glycopéptide dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre le peptidoglycane (Mc Callum *et al.*, 2010). Ceci est probablement due à des mutations dans de multiples gènes, (Daurel et Leclercq, 2008) en 2002 la première souche clinique de SARV (*S. aureus* résistant à la vancomycine) avec très niveau de résistance au glycopeptide est décrite, obtenu après transfert conjugatif de l'opéron de gène *VanA* (Tankovic *et al.*, 1997 ; Chang *et al.*, 2003), porté par des plasmides et provient des souches d'entérocoque résistance aux glycopéptides (Périchon et Courvalin, 2009).

II.3.3. Aminosides:

Les aminosides inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien (**Daurel et Leclercq, 2008**), leur utilisation répond au souhait d'obtenir

Une synergie bactéricide avec un inhibiteur de la paroi bactérienne (glycopeptide ou bêta-lactamine) (**Leclercq, 2002**).

Le principal mécanisme de résistance aux aminosides est lié à la sécrétion d'enzymes qui dénature ces antibiotiques.

On distingue trois phénotypes de résistance :

- une résistance de haut niveau à la kanamycine et l'amikacine (phénotype K)
- une résistance de haut niveau à la kanamycine, à l'amikacine, à la tobramycine (phénotype KT)
- une résistance de haut niveau à la kanamycine, à l'amikacine, à la tobramycine, à la gentamicine (phénotype KTG). (**Quincampoix et Mainardi, 2001 ; Daurel et Leclercq, 2008**).

II.3.4. Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS):

Les **MLS** inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosomes et l'ARN de transfert (**Quincampoix et Mainardi, 2001**).

Les résistances aux **MLS** comprennent la modification de la cible, des systèmes d'efflux et des enzymes inactivatrices. Le mode le plus fréquent des résistances aux macrolides et aux lincosamides résulte de la production d'une enzyme (méthylase) d'origine plasmidique qui modifie la cible ribosomale par méthylation. (**Leclercq, 2002**). Les gènes codant cette méthylase sont nommés « erm » (**Winston et Chambers, 2009**).

II.3.5. Fluoroquinolones:

Les fluoroquinolones inhibent la croissance bactérienne par arrêt de la réplication de l'ADN. Ces molécules ont une action ciblée sur les topo-isomérases (**Quincampoix et Mainardi, 2001**), La résistance aux ces antibiotiques est due à une modification de la cible, 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*. Ces mutations siègent le plus souvent dans une courte région conservée appelée **QRDR** (quinolone resistance determining region) (Daurel et Leclercq, 2008). Ainsi qu'à un système d'efflux grâce à une protéine transmembranaire codée par le gène *norA*, chromosomique (Quincampoix et Mainardi, 2001).

II.3.6. Autres résistances:

➤ Tétracyclines

Les tétracyclines inhibent la synthèse protéique bactérienne par la fixation réversible à la sous-unité «30S» des ribosomes empêchant l'attachement des Aminocyl-ARNt au site A du ribosome (Lavigne, 2007). Le principal mécanisme de résistance à cette famille qu'a été décrit est l'efflux actif, par les gènes *tetK* et *tetL* d'origine plasmidique, (Berche, 1989). Ainsi que la protection de la cible par une protéine codée par le gène transposable *tetM* (Bismith et Leclercq, 2000).

➤ Rifampicine

La rifampicine bloque l'initiation de la transcription en inhibant sélectivement la synthèse d'ARNm par la liaison à la transcriptase (Tankovic, 1997). La résistance à cet antibiotique est liée à la sélection de mutants résistants au niveau de la sous-unité β de l'ARN polymérase ADN dépendant (Bismith et Leclercq, 2000).

➤ Acide fusidique

Inhibe la synthèse protéique en interférant avec une GTPase (facteur d'élongation G (EF-G), empêchant la progression de la chaîne polypeptidique au niveau du ribosome.

La résistance à cette molécule est secondaire soit à la sélection de mutants résistants au niveau du facteur d'élongation intervenant dans la synthèse protéique soit à une modification de la perméabilité d'origine plasmidique (Bismith et Leclercq, 2000 ; Daurel et Leclercq, 2008).

➤ **Mupirocine**

La mupirocine inhibe la synthèse protéinique en se liant de façon réversible, spécifique à l'isoleucyl **ARNt** synthétase des bactéries cette fixation stoppe l'élongation peptidique. Chez les *S. aureus* la résistance à la mupirocine se produit dans deux phénotypes :

- la résistance de haut niveau est médiée par des plasmides portant le gène *mupA*,
- la résistance de bas niveau se fait par mutations ponctuelles dans le gène *IleS* (**Hurdie**

Et al. 2004 ; Hurdie et al., 2005).

➤ **Sulfamides et triméthoprime**

Les sulfamides et le triméthoprime interfèrent avec la synthèse des acides nucléique et des protéines. Le mécanisme de résistance résulte de l'acquisition de plasmides codant pour une dihydroptéroate synthétase ou une dihydrofolate réductase. Une modification par mutation de la dihydroptéroate synthétase ou de la dihydrofolate réductase confère, respectivement, une résistance aux sulfamides ou au triméthoprime. (**Daurel et Leclercq, 2008**).



Chapitre III : Matériel et Méthode

III.1. Cadre et objectifs de l'étude:

Cette étude a pour objectif la caractérisation des infections par les souches de **SARM**, isolées des différents services du **EPS** et l'étude de leurs profils de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques.

D'autres isolats de *S. aureus*, impliqués dans diverses infections et isolés du **EPS**.

ont été également inclus dans cette étude.

Les milieux de culture, les solutions et les réactifs utilisés ainsi que leur composition sont donnés en Annexe I et II.

III.2. Nature des prélèvements:

- **Hémoculture**

Le sang est prélevé après une antiseptie soigneuse de la peau par ponction veineuse, directement dans des flacons d'hémoculture, ou flacon contenant un bouillon citré. Chez l'adulte, 10 ml sont prélevés et 1 à 2 ml chez l'enfant.

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).

- **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.

- **Liquide Céphalo-rachidien "LCR"**

Dans des conditions très rigoureuses d'asepsie, le liquide est prélevé au niveau lombaire, à l'aide d'une aiguille à ponction lombaire (**PL**) et recueilli dans des tubes stériles.

- **Liquides de ponctions**

Le prélèvement (liquide pleural, ponction d'ascite, liquide péritonéal, liquide synovial, dialysat) est réalisé stérilement à l'aide d'une seringue, sans bulle d'air et analysé rapidement.

- **Urines**

L'examen cytot bactériologique des urines (**ECBU**) permet de faire le diagnostic d'une Infection urinaire. Prélèvements se font généralement par le recueil des premières urines du matin, après nettoyage du méat urinaire avec une solution antiseptique. L'urine prélevée doit être traitée dans les 30 minutes qui suivent le prélèvement.

III.3. Isolement et purification:

L'isolement est pratiqué sur le milieu Chapman et sur gélose au sang cuit (**GSC**), et cela en déchargeant en stries condensées l'écouvillon de prélèvement sur toute la surface de la gélose, ou à l'aide d'une pipette Pasteur, à partir des prélèvements liquide. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures. Après une lecture morphologique, les différentes colonies suspectées sont ré-isolées sur le milieu Chapman afin d'obtenir des cultures pures.

Les souches de *S. aureus*, originaire du **EPS** (établissement public de santé) ont été réisolées sur gélose Chapman.

III.4. Technique de preparation des antibiogrammes:

III.4.1. Definition de l'antibiogramme:

Est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Ou est Méthode biologique basée sur la mise en culture des germes éventuellement présents dans un liquide biologique (sang, urine, liquide céphalorachidien) et permettant de déterminer quels antibiotiques peuvent entraver leur développement. La méthode la plus courante consiste à placer des disques imprégnés de divers antibiotiques sur une culture de la bactérie examinée et à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de culture autour du disque. Selon ce diamètre, on dira que la souche est, pour un antibiotique donné, sensible, résistante ou intermédiaire.

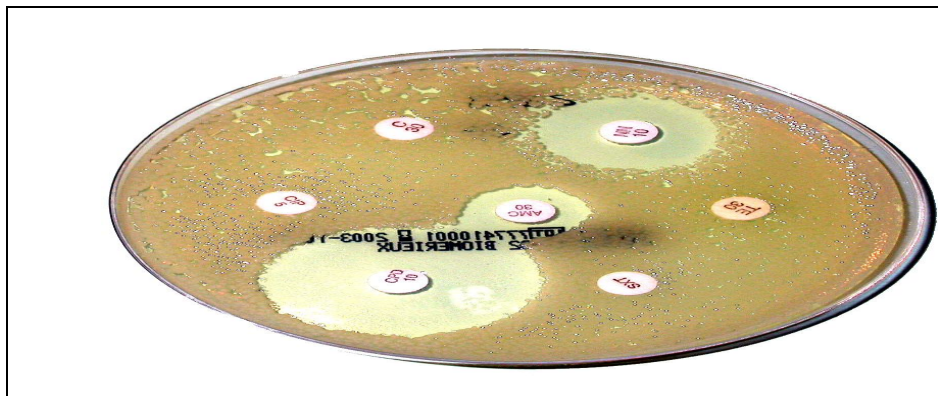


Figure7: Un antibiogramme, sur boîte

Pétri(https://www.usinenouvelle.com/mediatheque/3/1/3/000493313_image_896x598/antibiotique-antibiogramme.jpg)

III.4.2. Le principe:

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence d'un ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celles-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Petri. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante

III.4.3. les methodes :

D'étude des resistances

On se réfère à la **C.M.I.** (concentration minima inhibitrice), exprimée en $\mu\text{g/mL}$ ou en mg/L . La **C.M.I.** est la plus petite quantité d'AB qui inhibe le développement d'une bactérie. En pratique, 3 techniques sont utilisables :

- a) **C.M.I** en milieu liquide On utilise plusieurs tubes à essai avec différentes quantités d'AB : on peut alors voir quelle est la quantité minimale d'AB nécessaire pour tuer les bactéries.
- b) **C.M.I** en milieu solide On utilise des boîtes de Pétri (milieu solide). On place dans chaque boîte une quantité croissante d'AB avec des AB différentes. On regarde alors où les bactéries se sont développées. Cela permet d'étudier quel AB est actif et à quelle concentration.
- b) Méthode des disques On utilise une gélose recouverte de bactéries. Dessus, on place des

disques imprégnés d'AB. L'AB diffuse alors suivant un gradient inversement proportionnel à la distance (plus on est loin du disque, moins il y a d'AB). C'est la technique la plus employée actuellement. On obtient alors des courbes de concordance entre la distance et la **C.M.1**. Pour chaque nouvel AB, on met au point une telle courbe.

III.4.4. Matériel:

- une gélose Mueller-Hinton en boîte de Petri
- disques d'antibiotique, ou un distributeur permettant le dépôt standardisé - des disques sur la gélose.
- une souche pure de la bactérie à étudier
- un râteau ou un écouvillon
- une pipette de 1 Ml
- tube à hémolyse- pipette pasteur
- étalon de Mac Farland no 0.5 ($1.5 \cdot 10^8$ UFC/mL)
- Eau physiologique stérile

III.4.5. Synthèse des étapes :

- 1- Récupération les colonies bactériennes
- 2- Les remettre en suspension en milieu liquide
- 3- Homogénéiser le milieu
- 4- Répéter autant de fois que nécessaire pour arriver à une densité de 0.5 McFarland
- 5- Etaler quelque ml de milieu sur le gélose
- 6- Placer les disques l'antibiotique
- 7- Incuber 24h à 37
- 8- Mesurer l'efficacité des AB

III.5. Expérience: Antibiogramme:

Durant notre **TPE**, nous avons décidé de mesurer l'effet de différents antibiotiques sur les bactéries. Pour cela nous avons réalisé un antibiogramme dans le laboratoire de **SVT**.

Nous avons tout d'abord commandé un kit sur Sordalab dans lequel était fourni tout le matériel nécessaire à l'élaboration de l'antibiogramme, une boîte de pétri de bactérie, ainsi que divers antibiotiques comme de la pénicilline et de l'ampicilline. Avec ce matériel était fourni un protocole que l'on a modifié pour qu'il soit en accord avec nos conditions de travail et le matériel à disposition.

L'expérience s'est déroulée en quatre étapes :

-la préparation des boîtes : On fait fondre le milieu gélosé et on le répartit dans différentes boîtes

-le repiquage : On prélève une colonie de bactérie la boîte de pétri puis on l'étale sur les boîtes avec le milieu gélosé. On attend ensuite une journée que la colonie se développe.

-la préparation des suspensions bactérienne : On remplit des tubes d'eau stérile, on prélève avec une ôse des colonies de bactéries sur les boîtes de pétri repiquées puis on les plonge dans les tubes. Après agitation, les suspensions sont prêtes !

-Ensemencement des boîtes et réalisation des antibiogrammes : On dépose 1 mL de suspension dans chaque boîte de pétri. Après 20-30 minutes, on dépose les antibiotiques en les espaçant au maximum. Après 2-3 jours, on peut observer les résultats .

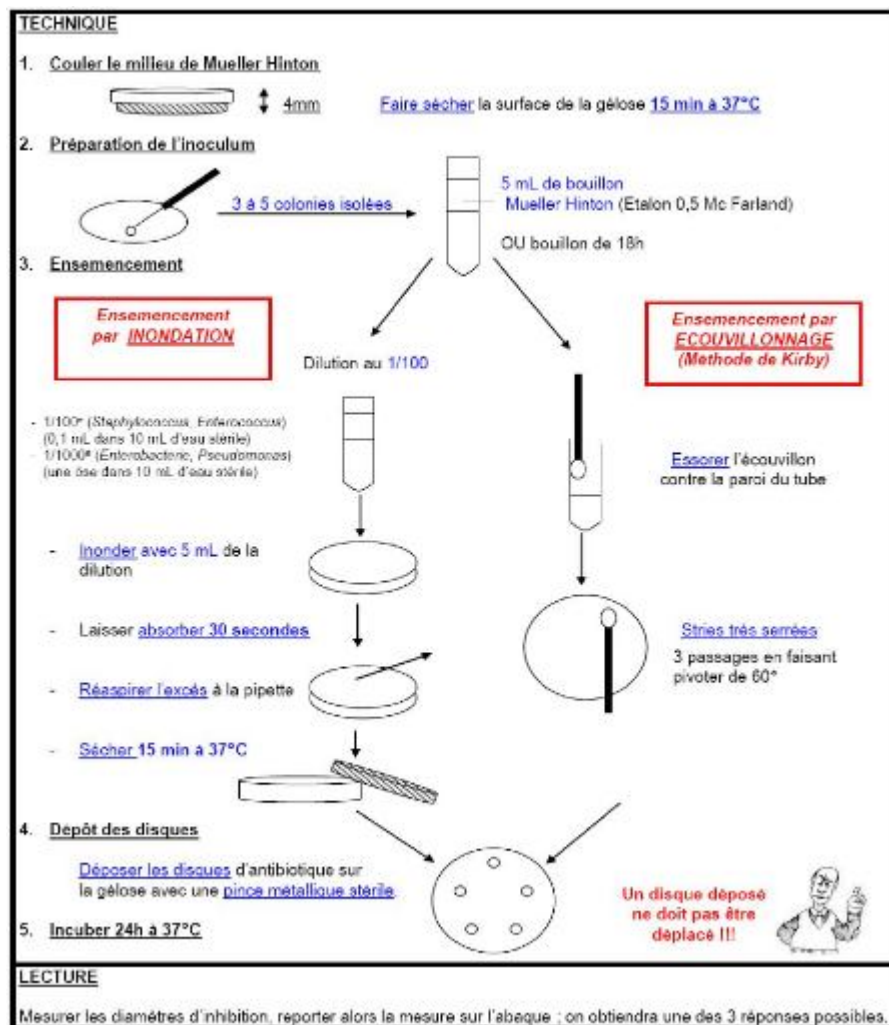


Figure 8 : Fiche Technique d'Antibiogramme (par Walid & Yacine BOUGATTOUCHA & BOUDELAA, 2010, l'examen cyto bactériologie des urines

III.5.1. Identification:

Staphylococcus aureus apparaît sous forme de colonies jaunes crémeuses bombées de 1 à 2 µm de diamètre dégradant le mannitol en acide lactique sur Chapman (abaissement du pH = acidification du milieu).

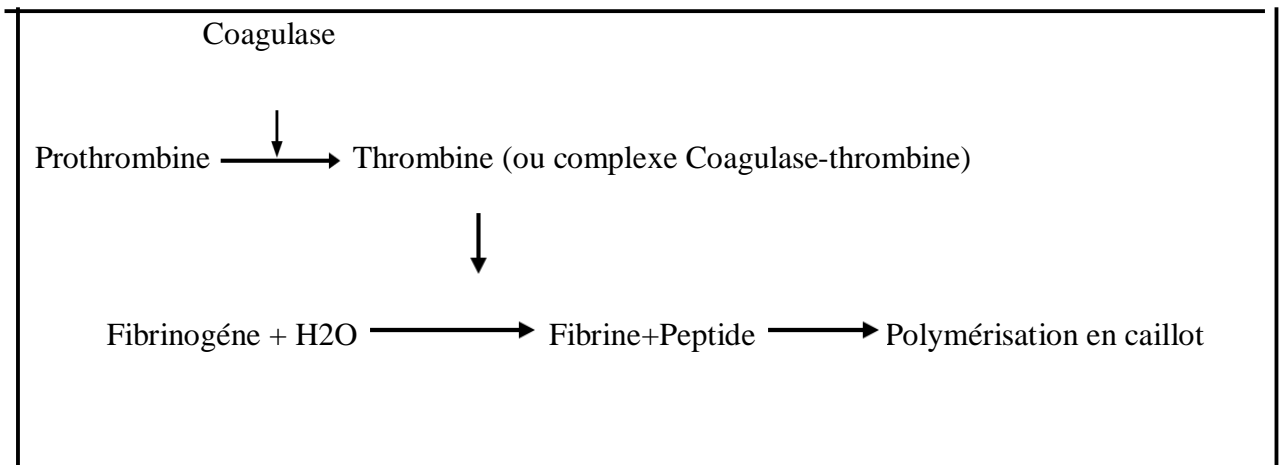
Les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards,

à savoir, coloration de Gram, test de catalase (l'Annexe III), test de coagulase et enfin par galeries biochimique API 20 Staph (Bio Mérieux).

III.5.2. Recherche de la coagulase:

La propriété de *S. aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable, la

staphylocoagulase ou coagulase qui agit en liaison avec la prothrombine selon la réaction suivante :



- A partir d'une culture sur Chapman, réaliser une subculture dans un tube de bouillon cœur cervelle (BHIB), et incuber à 37°C / 18 à 24 h.
- Reconstituer le plasma de lapin lyophilisé quelques minute avant de procéder au test.
- Mettre dans un tube à hémolyse 0,5ml de bouillon de culture et 0,5 ml du plasma de lapin.
- Incuber le tube à 37°C durant 2 à 24h ;
- Effectuer la lecture après 30 minutes, 1heure, 4heures et 24heures.

La souche de référence de **SARM** ATTC 43300 a été utilisée comme témoin positif, et de l'eau distillée stérile comme témoin négatif. Un résultat positif est rapporté lorsqu'il ya une prise en masse du plasma dans le tube à hémolyse.

III.5.3. Détermination du profil biochimique par Galerie API 20 Staph:

API®Staph BioMérieux est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcies sp.*, comprenant 20 tests biochimiques classiques, et permet de différencier entre espèces. Pour cela il faut procéder comme suit :

- Réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

- Préparer un inoculum bactérien d'opacité égale à 0,5 de McFarland, dans de l'eau physiologique stérile, à partir d'une culture pure de 18 heures sur gélose.
- À l'aide d'une pipette, remplir les tubes de la galerie avec la suspension bactérienne, à l'exception des cupules, sans pour autant dépasser le niveau des tubes.
- Remplir les cupules à l'huile de paraffine pour les tests ADH et URE, afin de créer des conditions d'anaérobiose.
- Ensuite, renfermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- La lecture peut s'effectuer directement par rapport aux résultats du tableau d'identification (**Annexe IV**), ou bien après transformation de ces résultats en code chiffré, lu sur un site web dédié à la lecture des galeries.

III.6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques:

III.6.1 Criblage de *S. aureus* résistante à la méthicilline:

Le criblage de *S. aureus* résistant à la méthicilline a été réalisé sur milieu Mueller Hinton additionné de 4% de NaCl à l'aide d'un disque de céfoxitine (30µg) en respectant les recommandations du CASFM (2015). Pour cela, il faut :

- Prélever à l'aide d'une anse de platine 3 à 4 colonies bien isolées à partir d'une culture pure et fraîche sur gélose.
- Décharger l'anse dans 5ml d'eau physiologique, bien homogénéiser la suspension bactérienne au vortex, pour obtenir un inoculum à 0,5 Mac Farland (10^8 UFC/ml).
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube pour le décharger.
- sur une boîte de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton additionné de 4% d'NaCl, Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

- Appliquer le disque de Céfoxitine (**FOX**) sur la boîte de Pétriensemencée à l'aide d'une pince stérile.
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Les souches de *S. aureus* présentant des diamètres des zones d'inhibition inférieurs à 22 mm sont considérées résistantes.

III.6.2. Antibiogramme complémentaire:

Toutes les souches de *S. aureus* résistantes à la céfoxitine (donc à la méthicilline) ont fait l'objet d'un antibiogramme complémentaire par la méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton. Les antibiotiques utilisés dans cet antibiogramme complémentaire, ainsi que les diamètres critiques des zones d'inhibition sont donnés par le tableau suivant.

Tableau I: Les Antibiotiques testés et les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* (CASFM, 2015).

Famille	Antibiotiques	Abréviations	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
				R	S
β- lactamines	Pénicilline	P	10 UI	< 26	≥ 26
	Oxacilline	OX	5 µg	< 20*	≥20*
	Céfoxitine	FOX	30 µg	< 22	≥25
Amiosides	Gentamicine	GMN	10 µg	<18	≥18
	Kanamicine	KMN	30 µg	<14	≥18
MLS	Clindamycine	CMN	10 µg	<19	≥22
	Erythromycine	E	15 µg	<18	≥21
	pristinamycine	PTN	15 µg	<19*	≥22*
	Lincomycine	L	10 µg	<17*	≥21*
	Clarithromycine	CLR	15 µg	<18	≥23

Glycopeptides	Vancomycine	VA	30 µg	#	#
Fluoroquinolones	ciprofloxacine	CIP	5 µg	<20	≥20
Autres	Rifampicine	RIF	5 µg	<23	≥26
	Tétracycline	TE	30 µg	<19	≥22
	Chloramphénicol	CHL	30 Mg	<18	≥18
	Acide fusidique	FA	10 µg	<24	≥24

UI: unité international ; **µg:** microgramme ;* : selon le CASFM 2013. # : La méthode des disques ne permet pas de déclarer la souche résistante, il faut déterminer la **CMI**.

III.6.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI):

La **CMI** est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle la croissance est inhibée. Les **CMI** des souches de **SARM** isolées, vis-à-vis de l'oxacilline, ont été déterminées par la méthode des spots sur gélose Mueller Hinton. Pour cela.

1. Préparer des boîtes de Mueller Hinton, 4 mm d'épaisseur, contenant des concentrations croissantes en Oxacilline, comme dans le tableau suivant (**tableau**
2. Préparer une suspension bactérienne à partir d'une culture fraîche, d'environ 10^8 UFC/ml.
3. A l'aide d'une micropipette, déposer trois spots de 10µl (10^4 UFC/ml) de la suspension bactérienne de la souche à tester, puis laisser sécher la boîte.
4. Refaire cet ensemencement sur les 8 concentrations différentes d'Oxacilline.
5. Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.
6. Pour la lecture, l'apparition d'une seule colonie sur une concentration donnée, permet de considérer que la souche est résistante à cette concentration.
7. Noter la **CMI** de chaque souche de **SARM**, comme la plus faible concentration d'antibiotique inhibant sa croissance.

Tableau II : Les concentrations d'oxacillines préparées pour les CMI.

Volume de Mueller Hinton (ml)	Solutions d'oxacilline (ml)	Concentrations finales ($\mu\text{g/ml}$)
100	0,02	2
100	0,04	4
100	0,08	8
100	0,16	16
100	0,32	32
100	0,64	64
100	1,28	128
100	2,56	256
100	5,12	512
100	10,24	1024

III.7. Analyse statistique:

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel XLStat (version 2009.1.02) en utilisant le test de χ^2 , ou le test exact de Fisher si nécessaire, pour comparer entre les différents facteurs épidémiologique et démographique. Pour des valeurs de $p \leq 0,05$, les tests ont été considérés comme statistiquement significatifs.



Chapitre IV : **Résultats et discussion**

IV.1.Répartition des infections par SARM dans les 2C.H.U

On aimerait attirer votre aimable attention qu'à l'issu de ce cycle on était préambitueuses de réaliser une étude concrète qui englobe la partie théorique mais aussi la partie expérimentale avec des constatations à travers lesquelles on pourrait observer des résultats dela théorie qui nous a été enseignée.

Dommmage la pandémie covid19 a fais obstacle et a sérieusement empêchée

l'aboutissement d'un certain nombre de point dans notre modeste étude, donc on a fournit un effort en basant sur : Le concept de la théorie d'échantillonnage et le principe de sondage dans le cas Newsweek et la campagne présidentielle américaine 2004 et la méthode de

John Kerry «...les sondeurs peuvent être plus confiants que le pourcentage « vrai » est proche du pourcentage observé. La marge d'erreur est une mesure de la façon dont près les résultats sont susceptibles d'être.... » (**Marge d'erreur qwe .Wiki .,2004**). Pour faire des études expérimentales approximatives fondées sur des résultats issues d'études similaires réalisées

Par des collègues des promotions antécédentes :

IDRI Lynda et AIT BOUDA Soraya"Caractérisation de la résistance des souches de Staphylococcus aureus aux antibiotiques isolées au niveau du CHU de. Sétif ét béjaia "
Année universitaire : 2015 / 2016 encadrées par Mr. DJOUDI Ferhat

Université A. MIRA - Bejaia

Où nous avons utilisés les résultats et la marge d'erreur de ces études comme référence et repère de départ tout en essayant d'arriver à tester nos propres résultats et discussions et au final ce modeste travail doit être suivi par des expériences complémentaires à fin de confirmer la fiabilité de nos résultats et de les par faire dans des circonstances que nous espérons bien meilleures.

Au cours de cette étude, 28 souches de *S. aureus* ont été impliquées dans diverses infections. Ces 28 souches ont été identifiées par la mise en évidence de la coagulase libre (Figure 9) et par la galerie biochimique API Staph (Figure 10).

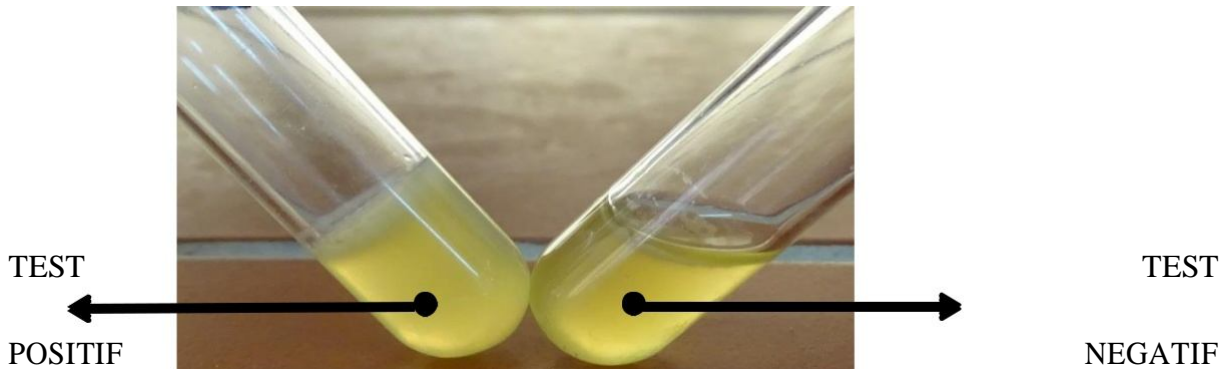


Figure 9: La mise en évidence de la coagulase libre chez les *S. aureus*.



Figure 10 : La mise en évidence des caractères biochimiques par la galerie API Staph.

12 souches sur les 28 étaient résistantes à la méthicilline, donc des SARM, ce qui représente un taux de résistance de 42,86%.

IV.1.1. Répartition des SARM en fonction de l'âge des patients

Les résultats de cette étude ont montré que les patients âgés de moins de 19 ans étaient les plus touchés par les infections par le SARM. 23 souches de SARM sur 28 ont été isolées chez cette catégorie d'âge, soit un taux de 81% du total. Alors que les personnes âgées (60-79) sont les moins touchées par ce type de pathogène (2,7%). La répartition de ces infections en fonction de l'âge des patients est donnée par la figure suivante.

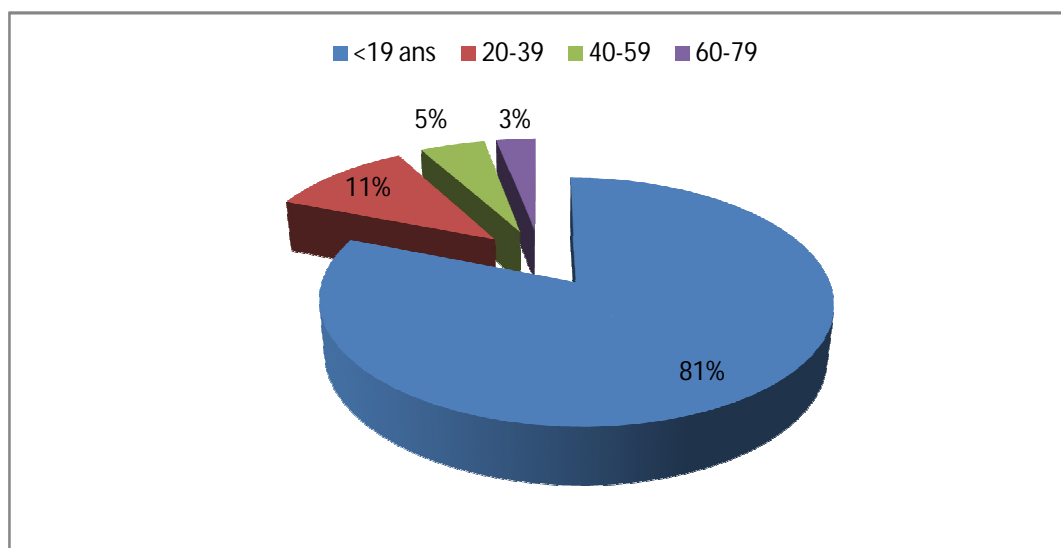


Figure 11: Répartition des souches **SARM** en fonction des tranches d'âge.

IV.1.2. Répartition des souches **SARM** en fonction du sexe

17 souches de **SARM** ont été isolées chez des patients de sexe masculin, soit un taux de 62,16%, cependant chez le sexe féminin, 11 isolats ont impliqués. Ces résultats sont illustrés dans le tableau III.

Tableau III : Répartition des **SARM** en fonction du sexe des patients.

SEXE	Nombre de SARM	Pourcentage des SARM
Masculin	17	62,16%
Féminin	11	37,84%

IV.1.3. Répartition des souches de **SARM** en fonction du type de prélèvement

Les résultats de cette étude ont démontré qu'une majeure partie des **SARM** ont été isolés à partir de prélèvements de pus et sérosités, 23 sur les 28 souches. Cependant, à partir d'hémocultures, 5 souches ont été isolées. La répartition des souches de **SARM** selon le type de prélèvement est donnée par la **figure 12**.

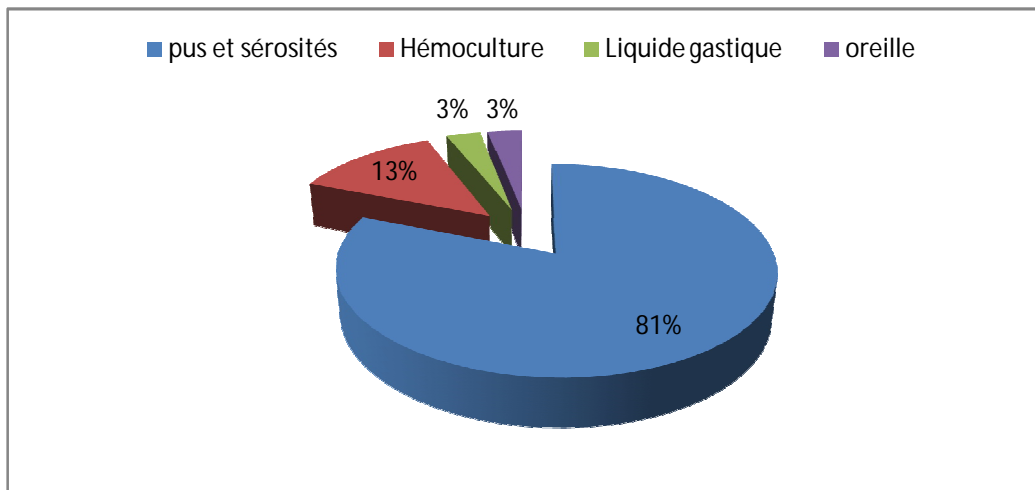


Figure 12 : Répartition des souches de **SARM** en fonction du type de prélèvement.

IV.1.4. Répartition des souches SARM en fonction du service d'hospitalisation

En étudiant la répartition des souches de **SARM** au sein des différents services, on a constaté que la majorité des prélèvements positifs au **SARM** provenaient du service de la pédiatrie avec un taux de 51%, suivi par le service de la chirurgie avec un taux de 32%. Moins d'un tiers des souches a été isolé dans les services restants (**Figure 13**).

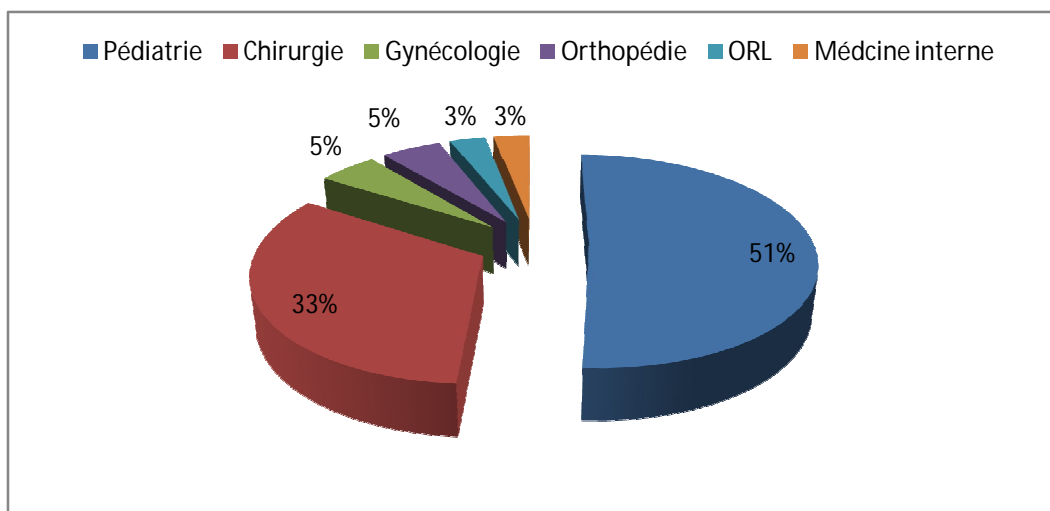


Figure 13: Répartition des souches **SARM** en fonction du service d'hospitalisation.

IV.1.5. Répartition des souches de SARM en fonction du type d'infection

Les **SARM** isolés étaient majoritairement responsable d'infections cutanées et des tissus mous avec près de 3 quarts des cas enregistrés durant cette étude, soit 74%. Ces infections sont réparties entre les furoncles, infection de la peau, infection sur cathéter,

abcès cutané, pied diabétique...etc. Cependant, environ 14% sont responsables de septicémies et les infections restantes étaient des ostéomyélites (6%), gastrites, otite et arthrite (Figure suivante).

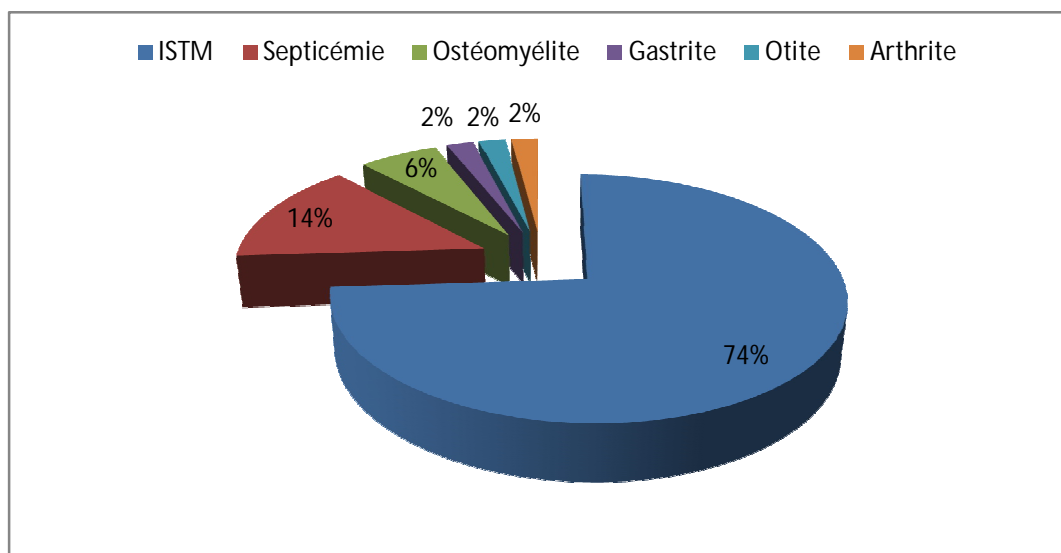


Figure 14 : Répartition des souches de **SARM** en fonction du type de l'infection.

IV.1.6. Répartition des souches de **SARM** en fonction de l'antibiothérapie

32,43% (n=9) des isolats de **SARM** ont été impliqués dans des infections chez des patients sous antibiothérapie, contre 67,57% (n=19) chez des patients sans antibiothérapie. Le schéma thérapeutique le plus utilisé pour traiter ces infections est la monothérapie dont la molécule de choix est l'oxacilline dans 96% des cas.

IV.1.7. Discussion

La recrudescence des infections par le **SARM** en milieu hospitalier est un phénomène mondial mais à des degrés variables selon les pays et les services, en fonctions des habitudes de prescription et des pratiques d'hygiène.

L'étude de la sensibilité à la céfoxitine a montré que les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline représentent un taux de 42,86 % de la totalité des souches de *S. aureus* isolées du C.H.U. Khelil-Amrane, ce qui nous situe parmi les pays de forte prévalence de **SARM**. Ce résultat est semblable à celui rapporté par Rebiahi (52%) en Algérie (**Rebiahi et al., 2011**). Cependant, ce résultat est loin de ceux rapportés par Mastouri (15,5%) en Tunisie, Mshana (16,3%) en Tanzanie. Ainsi que

Seydi qui a enregistré le taux le plus élevé au Sénégal avec 72% (Seydi et al., 2004; Mastouri et al., 2006 ; Mshana et al., 2009).

Au niveau de C.H.U. Beni-Messous un taux de prévalence de 24,04 % a été enregistré. Ce taux est très proche de celui signalé en Afrique du sud (26,9%) (Shittu et Lin, 2006). Mais il reste faible comparativement à ce qui a été enregistré aux USA par Skiest et ces collaborateurs (63%) (Skiest et al., 2007).

Ce taux de **SARM** relativement important, pourrait être expliqué d'une part, par l'accumulation de plusieurs mécanismes de résistance chez ces souches, due la flexibilité génétique de *Staphylococcus aureus* qui lui permet l'acquisition de plusieurs modifications et éléments génétiques (Hiramatsue et al., 2001). D'autre part, par une pression de sélection générée par une utilisation irrationnelle des antibiotiques.

Dans cette étude, le taux d'infection à **SARM** était plus élevé chez le sexe masculin (62,16 %) que le sexe féminin (37,84%) , des résultats similaires ont été rapportés par d'autres études précédentes effectuées en Algérie (Antri et al., 2010) ; au Taiwan (wang et al., 2010) et au USA (Srinivasan et al., 2009), contrairement à ce qui a été rapportée à Oman où est constatée une prédominance chez le sexe féminin (Pathare et al., 2015).

Cette prédisposition à l'infection chez le sexe masculin est expliquée par les différences physiologiques telles que la pilosité (Shallcross et al., 2010).

Les résultats de cette étude montrent que la majorité des patients infectés par le **SARM** (53,4%) sont âgés entre 1 et 19 ans, un résultat similaire a été déjà rapporté en France par Dufour et ses collaborateurs (Dufour et al., 2002). Ces résultats concordent avec la littérature qui souligne que l'âge est un facteur de risque infectieux aux deux extrémités de la

vie, mais l'analyse statistique n'a montré aucune différence significative.

Dans la présente étude, les **SARM** ont été isolés essentiellement de pus et sérosités (81,08%). Comme déjà rapporté par plusieurs auteurs (Akoua-Koffi et al., 2004 ; Mastouri et al., 2006 ; Benouda et Elhamzaoui, 2009 ; Elhemzaoui et al., 2009). Cependant, d'autres investigations ont rapporté une prévalence de **SARM** beaucoup plus

importante au niveau des hémocultures et des urines qu'au niveau des pus (**Belebas et al., 2001; Zahlane, 2007 ; Thabet et al., 2013**).

Dans 72,97% des cas les **SARM** sont en cause des infections superficielles des tissus mous, et une proportion non négligeable (14%) ont été responsable de septicémie. Ces résultats s'accordent avec les résultats rapportés par d'autres auteurs (**Shittu et Lin, 2006 ; Skiest et al., 2007; Srinivasan et al., 2009 ; Biedenbach et al., 2015**).

Ces résultats confirment également ceux décrits par Mastouri et ses collaborateurs, et montrent que les infections à *S. aureus* résistants à la méthicilline sont principalement cutanées et quand elles sont sévères une septicémie peut être observée (**Mastouri et al., 2006**).

On a constaté également que les souches de **SARM** ont été isolées essentiellement chez des patients hospitalisés dans le service de la pédiatrie (51,37%) et de la chirurgie (32,43%) contrairement à ce qui a été rapporté par Benouda et Elhamzaoui, où les **SARM** sont prédominants dans le service de la réanimation (**Benouda et Elhamzaoui, 2009**).

Dans la littérature, l'antibiothérapie constitue un facteur de risque d'infection par les **SARM**, cependant, notre étude n'a montré aucune relation significative entre l'antibiothérapie et l'infection par le **SARM** (**Daeschlein et al., 2006; Al-Rawahi et al., 2007**).

IV.2. Comparaison entre SARM communautaire et hospitalier

Parmi les 28 isolats de **SARM**, 16 (56,76%) ont été impliqués dans les infections d'origine hospitalières, alors que 12 souches (43,24%) ont été responsables d'infections communautaires.

IV.2.1. Selon le sexe et l'âge des patients

En comparant les infections à **SARM-C** et **SARM-H** en fonction du sexe des patients, on a constaté une prédominance du **SARM-C** chez le sexe masculin avec 68,75% des cas, contre 31,25% chez le sexe féminin, alors que les **SARM-H** ont été réparties d'une manière homogène entre les deux sexes sans aucune différence significative ($P=0,471$).

Environ 86 % de **SARM** hospitalier et 75% des **SARM-C** ont été isolé chez les jeunes enfants et une proportion non négligeable de **SARM-C** touches les adulte de 20-59ans. Cependant aucune infection communautaire n'a été enregistrée chez les personnes âgées de 60 ans ou plus (P=1,000).

Tableau IV: Répartition des **SARM** communautaire et hospitalier en fonction de l'âge et le sexe des patients.

	Sexe N (%)		Age N (%)			
	Féminin	Masculin	<19	20-39	40-59	60-79
SARM-C	5(31,25)	11(68,75)	12(75)	3(18,75)	1(6,25)	0(0)
SARM-H	9(42,85)	12(57,14)	18(85,72)	1(4,76)	1(4,76)	1(4,76)

IV.2.2. Selon le type de prélèvement

La totalité des **SARM** communautaire ont été isolés des pus et sérosités alors que les **SARM** hospitaliers ont été isolés principalement des pus (62%) ainsi que du sang (24%) (**Figure 15**). Cependant aucune différence significative n'a été confirmé par l'analyse statistique (P=1,000).

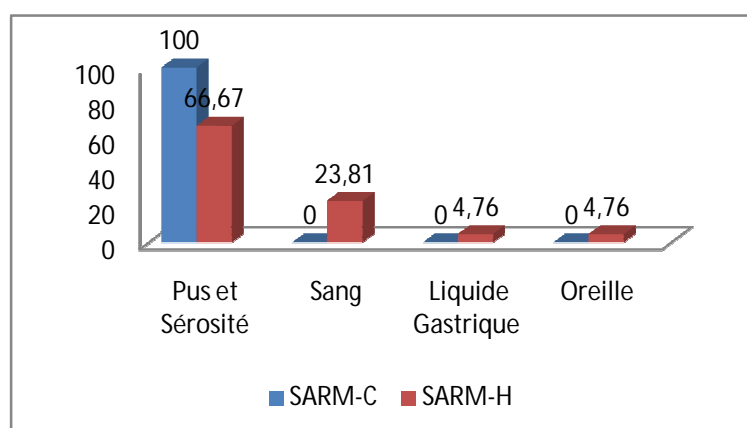


Figure 15 : Répartition des **SARM** communautaire et hospitalier en fonction du type de prélèvement.

IV.2.3. Selon le service

En étudiant la répartition des infections à **SARM-C** et **SARM-H** au sein des différents services, on observe une prédominance du **SARM-H** au niveau du service de la pédiatrie avec un taux de (66,66%) cependant, les **SARM-C** ont été prédominants dans le service de la chirurgie (43,75%). La figure suivante illustre cette répartition dans les 6 services étudiés.

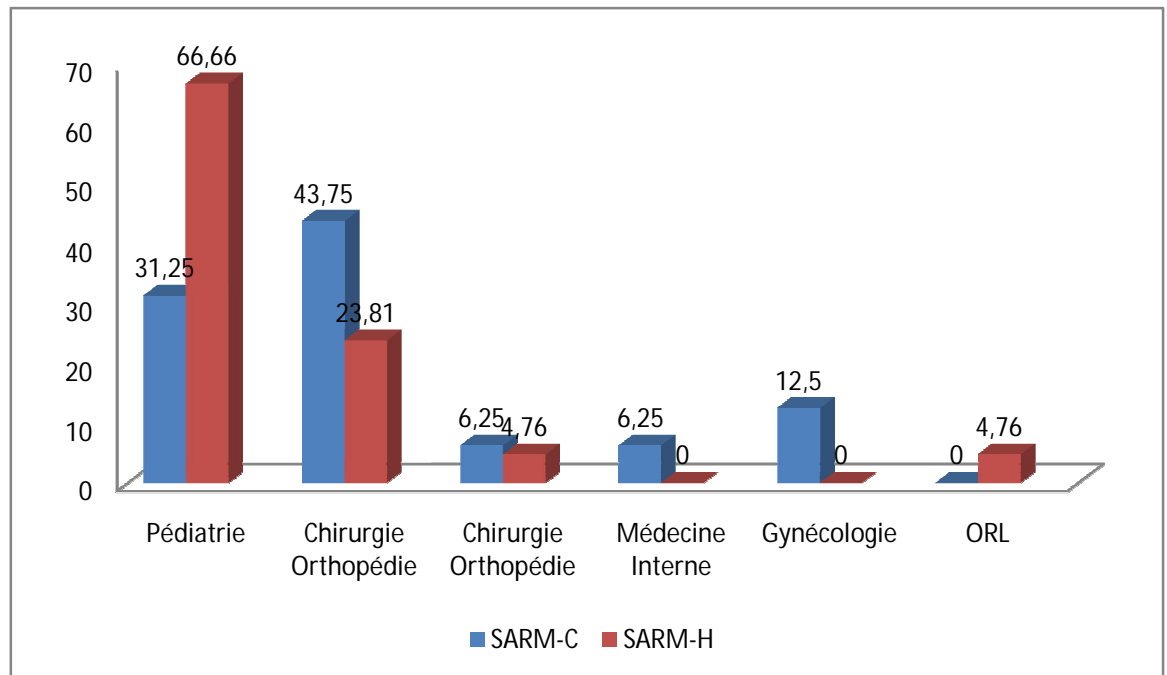


Figure 16: Répartition des **SARM** communautaire et hospitalier en fonction du service d'hospitalisation.

IV.2.4. Selon le type d'infection

La figure 17 indique que le taux des ISTM d'origine communautaire (14 ; 87,5%) est supérieur à celui des ISTM nosocomiale (13 ; 61,9%). Cependant, toutes les septicémies ont été causées par les **SARM** d'origine hospitalier. Mais, l'analyse statistique n'a pas confirmé ces résultats ($P=0,137$; $P=0,057$ respectivement).

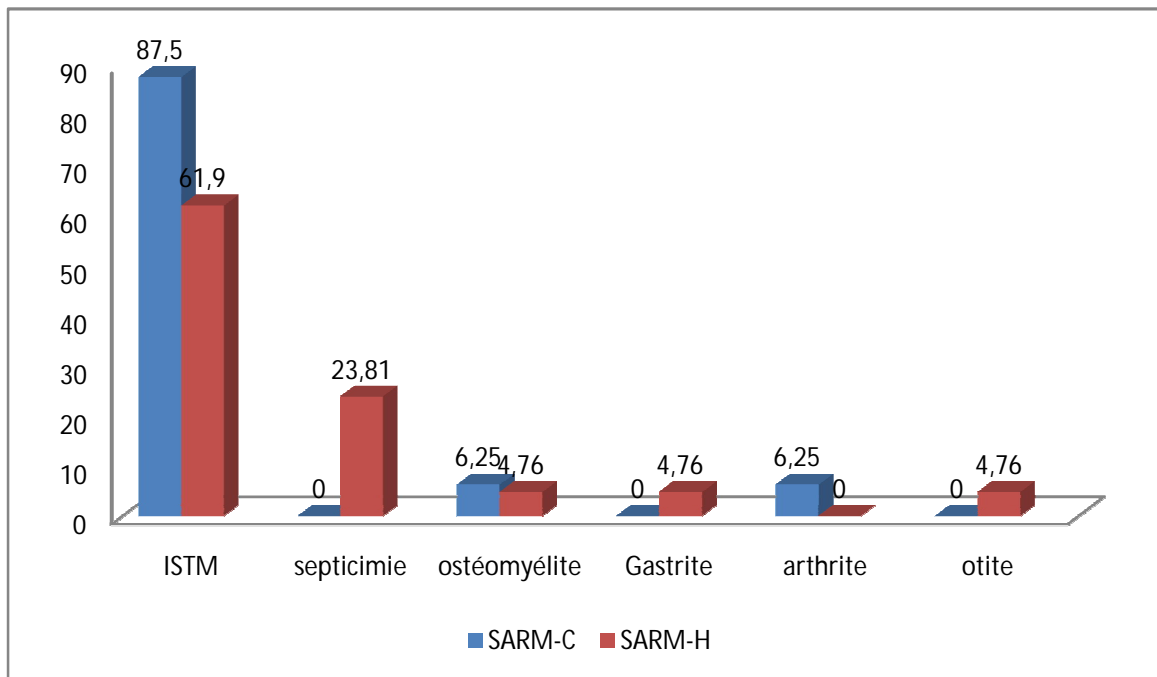


Figure 17: Répartition des **SARM** communautaire et hospitalier en fonction du type de l'infection.

IV.2.5. Selon l'antibiothérapie

Chez les patients qui ont été sous antibiothérapie, les **SARM-C** ont été prédominant avec un taux de 37,5% contre 28,5% de **SARM-H**, alors que chez des patients qui n'ont suivi aucun traitement antibiotique, les **SARM-H** ont été plus important, $P=0,565$ (**figure 18**).

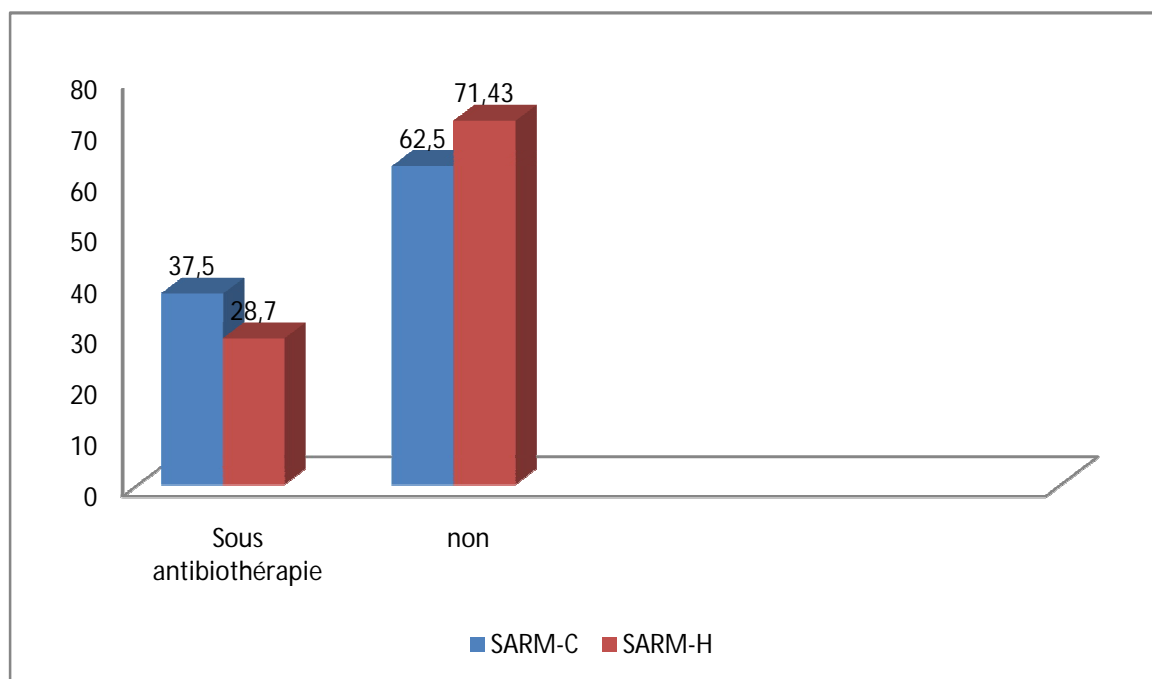


Figure 18: Répartition des **SARM** communautaire et hospitalier en fonction de l'antibiothérapie.

IV.2.6. Discussion

Les infections par le **SARM**, qu'elles soient acquises dans la communauté ou dans le milieu hospitalier sont en augmentation dans le monde. On tenant compte de la période séparant entre l'admission et l'apparition de l'infection pour distinguer entre ces deux types de **SARM**, on a constaté que sur les 28 infections enregistrées dans les deux unités de soins, 16 (56,76%) sont dues aux souches de **SARM-H** et 12 (43,24%) sont dues aux **SARM-C**. Ces résultats semblent corroborer avec d'autres données rapportées par plusieurs auteurs, comme en Algérie, (**Djouidi et al., 2014**) et aux USA (**Naimi et al., 2003; Mc Carthy et al., 2010**).

La présente étude indique que les **SARM** d'origine hospitalier ont été prédominant dans le service de la pédiatrie chez les enfants qui ont moins de 19 ans avec un taux de (66,66%) cependant, les **SARM-C** ont été prédominants dans le service de la chirurgie

(43,75%). Contrairement à ce qui a été rapportée par Naimi et ces collaborateurs qui ont signalées une prédominance des **SARM-C** dans le service de la pédiatrie (**Naimi et al., 2003**). Cette différence peut également être expliquée par le dissémination du **SARM-C** dans les structures de soins, comme il a déjà été rapporté (**Djouidi et al., 2014**)

Dans cette étude, le taux de **SARM-C** a été plus élevé que celui des **SARM-H** chez le sexe masculin, alors que chez le sexe féminin, les **SARM-H** ont été prédominant. Ces résultats sont similaires à ceux de plusieurs auteurs (**Mc Carthy et al., 2010 ; Al-Rawahi et al., 2007**). Cette prédisposition chez le sexe masculin peut être expliquée par l'activité importante et la promiscuité et le contact avec d'autres personnes infectées.

Dans la présente étude, les **SARM-C** sont principalement associées à des infections suppuratives. Ceci est en accord avec les résultats rapportés par **Mc Carthy et al. 2010** (76%), **Naimi et al., 2003** (75%), ainsi que d'autres auteurs (**Liu et al., 2008; Antri et al., 2011**). Cependant, les souches impliquées dans les septicémies sont toutes des **SARM-H** comme rapporté précédemment (**Antri et al., 2011 ; David et Daum, 2010**).

Sur l'ensemble des patients qui ont été sous un traitement antibiotique, la majorité ont été infecté par des **SARM-C** avec un taux de 37,5%. contrairement à ce qui a été déjà rapporté par Al-Rawahi et ces collaborateurs qui ont constaté une prédominance des **SARM-H** chez les patients qui ont été sous antibiothérapie (**Al-Rawahi et al., 2007**).

IV.3. Résistance des SARM aux autres antibiotiques

IV.3.1. Taux de résistance des SARM

Le tableau V et l'histogramme (**Figure 19**) illustre les profils de résistance des souches de **SARM** isolées. Une des caractéristiques des souches **SARM** isolées est la multirésistance aux autres familles d'antibiotiques autres que les **β -lactamines**. Cependant, la pristinamycine et la vancomycine ont été constamment actifs et peuvent être de bonnes alternatives thérapeutiques.

Tableau V: Fréquence de la résistance des **SARM** aux antibiotiques.

Antibiotiques testés	SARM-H (n=16)		SARM-C (n=12)		Total (n=28)	
	N	%	N	%	N	%
Tétracycline	15	71,43	9	56,2	24	64,86%
Erythromycine	8	38,09	6	37,5	14	37,84%
Gentamycine	4	19,05	3	18,75	7	18,92%
Ciprofloxacine	4	19,05	3	18,75	7	18,92%
Clarithromycine	3	14,29	3	18,75	6	16,22%
Clindamycine	2	9,52	3	18,75	5	13,51%
Lincomycine	2	9,52	2	12,5	4	10,81%
Kanamycine	3	14,29	0	0	3	8,10%
Acide fusidic	2	9,52	0	0	2	5,40%
Chloramphénicol	0	0	1	6,25	1	2,70%
Rifampicine	1	4,76	0	0	1	2,70%
Vancomycine	0	0	0	0	0	0%
Pristinamycine	0	0	0	0	0	0%

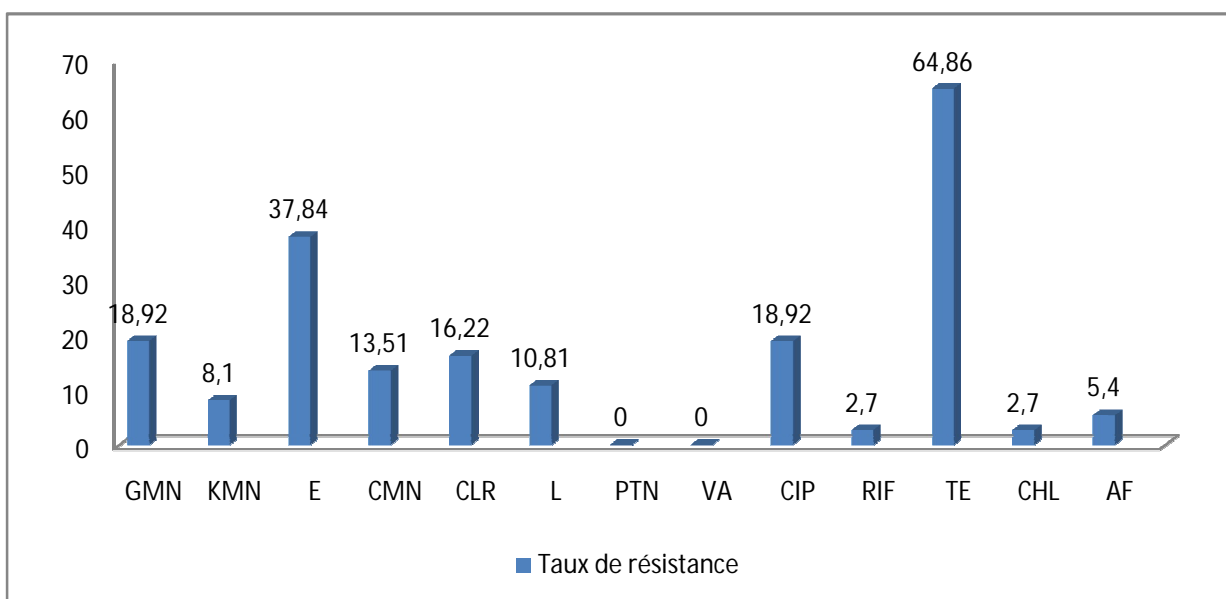


Figure 19: Fréquence de résistance des **SARM** aux antibiotiques.

FOX : Céfoxitine, **GMN** : Gentamycine, **KMN** : Kanamycine, **E** : Erythromycine,
CMN : Clindamycine,

CLR : Clarythromycine, **L** : Lincomycine, **PTN** : Pristinamycine, **RA** : Rifampicine, **VA** : Vancomycine, **CIP** : Ciprofloxacine, **TE** : Tétracycline, **CHL** : Chloramphénicol, **AF** : Acide Fusidic.

La résistance à la méthicilline (oxacilline) des 28 souches du *S. aureus* est croisée avec celle de toutes les bêtalactamines. La résistance à la tétracycline est la plus fréquente (64,86%), suivie par l'érythromycine avec un taux de 37,84% , la gentamycine et la ciprofloxacine avec un taux de 18,92% , Pour les autres antibiotiques, les taux sont variables et vont de la clarythromycine (16,22%), clindamycine (13,51%), lincomycine (10.81%), kanamycine (8,10%), et acide fusidique (5.4%),chloramphénicol et rifampicine(2,70%). Néanmoins, aucune des souches **SARM-C** n'était résistante à la Kanamycine, la rifampicine ni à l'acide fusidique.

Cependant, aucune résistance n'est enregistrée vis-à-vis de la vancomycine et de la pristinamycine. Les profils de résistance détaillés pour les 28 souches de **SARM** sont donnés dans l'**annexe V**.

IV.3.2. Profils de résistance des SARM

Les **SARM** méritent une attention particulière puisque environ 87% des souches isolées expriment une multirésistance (**Tableau VI**). On remarque une prédominance des profils multirésistants TE GMN KMN E FC ; TE CIP E CMN ; TE CMN E L RIF ; CIP GMN KMN

L et CIP GMN KMN E chez les souches nosocomiales. Alors que les profils les moins résistants CMN GMN E ; CMN E CLR ; E CLR ; TE CIP ; TE CHL et TE sont prédominants chez les souches communautaires.

Le profil de résistance P OX FOX TE été le profil le prédominant principalement chez les souches hospitalier et semblent endémiques dans les deux unités de soin.

Tableau VI : Phénotypes de résistance des souches **SARM** aux antibiotiques.

Profils de résistance	SARM-C	SARM-H	Souches
TE. GMN. KMN. E. FC.	0	1	32
TE. CIP. E. CMN.	1	1	11, 21
TE. CMN. E. L. RIF.	0	1	31
CIP. GMN. KMN. L.	0	1	28
GMN. E. TE. L.	1	0	30
CIP. GMN. KMN. E.	0	1	37
GMN. E. FC.	0	1	35
GMN. E. L.	1	0	27
CIP. TE. CLR.	1	0	12
E. TE. CLR.	0	3	2,8, 23
CMN. GMN. E.	1	0	26
CMN. E. CLR.	1	0	6
E. CLR.	1	0	19
TE. CHL.	1	0	34
TE. CIP.	1	1	4, 5
TE.	4	8	1, 3, 7, 9, 13, 14, 16, 17, 18, 20, 24,33.
E.	0	1	29
Ø	3	2	10, 15, 22, 25, 36.

FOX: Céfoxitine, GMN: Gentamycine, KMN: Kanamycine, E: Erythromycine, CMN: Clindamycine, CLR:

Clarythromycine, **L**: Lincomycine, **PTN**: Pristinamycine, **RA**: Rifampicine, **VA**:
Vancomycine, **CIP**:

Ciprofloxacine, **TE**: Tétracycline, **CHL**: Chloramphénicol, **AF**: Acide Fusidic, **Ø** :
Souches sensible à tous les antibiotique autre que les betalactamines.

IV .3.3. Les CMI des souches de SARM

Outre la confirmation du caractère résistant des souches testées, les **CMI** ont permis de connaître le niveau de cette résistance. Les isolats de **SARM** sont inhibés par des concentrations d'oxacilline différentes, allant de 2 µg/ml à 1024 µg/ml. Environ 81% des **SARM-C** présentent des **CMI** inférieur à 64 µg/ml, alors que plus de 19 % des isolats de **SARM-H** présentent des **CMI** très élevé (256-1024 µg/ml) (**tableau VII**).

Tableau VII : Les **CMI** des souches de **SARM** vis-à-vis de l'oxacilline.

CMI (µg/ml)	SARM-C	SARM-H	Pourcentage (%)
2	1	1	5,41
4	2	8	27,03
8	2	5	18,92
16	2	1	8,10
32	5	1	16,22
64	1	1	5,41
128	0	0	0
256	3	1	10,81
512	0	0	0
1024	0	3	8,10

IV.3.4. Discussion

La diffusion des **SARM** en milieu hospitalier ou communautaire pose un problème de santé publique, nécessitant la détermination et la compréhension des caractères de résistances aux antibiotiques, qui représentent un des buts essentiels de la bactériologie médicale, pouvant faire évoluer les stratégies thérapeutiques (**Aouti, 2009**).

L'analyse globale de la résistance des **SARM** aux antibiotiques confirme la multirésistance de ces germes qui sont connues par leur aptitude de résister à plusieurs autres familles d'antibiotiques (**Leclercq, 2002 ; Mastouri et al., 2006**).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des 28 souches de **SARM** a montré que la résistance à la méthicilline est souvent associée à celle des aminosides et des

macrolides. Pour les aminosides, le taux de **SARM** résistant à la gentamicine constaté dans cette étude est de 18,92 %. Cette résistance est nettement supérieure à celle signalée par Ouchenane au Liban (6,25%) et Srinivasan au Taiwan (5%), et elle reste proche du taux enregistré en Tunisie (18%) (**Mestouri et al., 2006; Saidani et al., 2006**). Mais inférieur à celles signalées au Maroc, Nigéria et l'Afrique du sud (64%, 75% et 97%) (**Shittu et Lin, 2006 ; Benouda et Elhamzoui, 2009 ; Fayomi et al., 2011**).

Un faible taux de résistance à la kanamycine a été enregistré (8,1%) comparativement à celui retrouvé en Türkiye (91,4%) (**Yildiz et al., 2014**) et au Maroc (94,3 %) (**Zahlane, 2007**) et même en Afrique du sud 97% (**Shittu et Lin, 2006**).

Pour la famille des macrolides, les **SARM** isolés sont résistants à l'érythromycine avec un taux de 37,84% qui a été relativement inférieur à celui signalé par Rebiahi (56%) et Richter (90%) (**Rebiahi et al., 2001 ; Richter et al., 2014**).

La résistance à cette molécule chez les **SARM** varie d'un pays à un autre allant de 7,6 % au Maroc (**Elazahari et al., 2010**) et 67,6% aux USA (**Biedenbach et al., 2015**) pour atteindre 100 % en Tunisie (**boukadida et al., 2003**). Ceci peut être expliqué par le fait que le traitement des infections à Staphylocoques fait appel essentiellement à ces antibiotiques, et la disponibilité de ces médicaments sur le marché algérien et leur accessibilité sans prescription médicale.

Avec des taux de résistance de 13,51% et de 10,81%, la clindamycine et la lincomycine respectivement ont été pondéralement actives sur les souches testées. Ce résultat semble identique à ce qui a été rapporté dans l'Ouest de l'Algérie par Rebiahi et ses collaborateurs (12 %) (**Rebiahi et al., 2011**).

Dans la présente étude, Environ 19% des isolats de **SARM** ont montré une résistance à la ciprofloxacine, ce taux est comparable à ce qui a été rapporté dans l'Afrique du Sud (18%), (**Shittu et Lin, 2006**) et supérieur à celui rapportée au Nigeria (12%) (**Fayomi et al., 2011**). Néanmoins, ce taux reste nettement inférieur à celui rapporté dans les autres pays, notamment la Tunisie (100%) (**Boukadida et al., 2003**), le Maroc (83,5%) (**Belebès et al., 2001**), la Türkiye (92,2%) (**Yildiz et al., 2014**) et la Tanzanie (54%) (**Mshana et al., 2009**).

Le taux de résistance le plus important signalé dans cette étude est de 64,86% vis-à-vis de la tétracycline, Ce résultat est similaires à ceux de plusieurs auteurs, comme (**Mastouri et al., 2006**), (**Mshana et al., 2009**) et (**Thabet et al., 2013**), avec des taux de 69%, 66% et 65,9% respectivement. Cependant, ce taux reste nettement supérieur à celui enregistré aux USA (4,1) (**Richter et al., 2014**).

L'efficacité de la rifampicine et du chloramphénicol a été remarquable, puisque ces molécules ont été actives sur 97,3 % des **SARM**. Ces données corroborent avec les taux signalés par Mastouri et ces collaborateurs, qui ont signalés des taux de 2% et 3% respectivement. (**Mastouri et al., 2006**).

Parmi les 28 souches de **SARM** étudiées aucune résistance à la pristinamycine n'a été détectée, ce constat est cohérent avec les résultats rapportés par plusieurs auteurs (**Boukadida et al., 2003; Mastouri et al., 2006 ; Zahlan, 2007 ; Elazhari et al., 2010**).

La vancomycine représente toujours l'un des traitements les plus probants face aux infections à **SARM**, mais cette utilisation systématique a conduit à l'émergence de souches GISA évoquant une crainte de développer un aspect épidémique. Contrairement à nos résultats, Rebiahi et ces collaborateurs ont rapporté 3 souches de **SARM** résistantes à la vancomycine (1,8%) à Tlemcen (ouest d'Algérie). Cependant, à la Libye, 11 souches résistantes à cet antibiotique (soit un taux de 17,7%) ont été rapporté (**Buzaid et al., 2011**).

Les résultats de cette étude révèlent que les **SARM-H** présentent une multirésistance élevée, contrairement aux **SARM-C**, cela s'explique par le fait que les **SARM-H** sont des porteurs des gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques portés par des plasmides et des transposons intégrés dans les cassettes *SCCmec* (**David et Daum, 2010**).

Le caractère multirésistant des **SARM** observé dans la présente étude limite le choix des antibiotiques pour le traitement. Dans les hôpitaux, la vancomycine reste l'antibiotique approprié pour le traitement des infections à **SARM**. Cependant, la sélection des souches résistantes aux glycopeptides est une préoccupation, en particulier avec l'isolement de certaines souches avec une sensibilité réduite à la vancomycine.



Conclusion

Conclusion

Les staphylocoques demeurent parmi les pathogènes les plus importants, responsables d'infections humaines graves. La méthicillino-résistance continue également à représenter le marqueur essentiel de l'antibio-résistance des *Staphylococcus aureus*.

L'identification des souches de *S. aureus* par les méthodes conventionnelles et la mise en évidence de leur résistance aux antibiotiques ont révélé l'importance de la fréquence des souches de *S. aureus* multirésistantes aux **β -lactamines** (méthicilline), avec une moyenne de 28,03 % des souches dans les deux hôpitaux, aux aminosides, aux macrolides, aux fluoroquinolones et à la tétracycline. Des molécules massivement utilisées en antibiothérapie. Cette situation semble être le reflet d'une utilisation irrationnelle d'antibiotiques et l'absence d'une politique nationale bien définie. Cet usage exerce une pression de sélection qui induit l'apparition de résistances multiples additionnelles. Cependant, aucune résistance n'est enregistrée vis-à-vis de la pristinamycine et de la vancomycine.

La prévalence de la résistance à la méticilline a été aussi élevée chez les souches hospitalières que chez les souches externes et jusqu'à présent, les souches de **SARM-C** ont été sensibles aux antibiotiques autres que les **β -lactamines**, permettant des options alternatives de traitement.

Cette étude a montré, également, l'importance de la multirésistance des **SARM** isolés causant des infections superficielles des tissus mous. Cependant, les **SARM** représentent une part non négligeable dans l'étiologie des bactériémies posant de sérieux problèmes thérapeutiques.

Aucun paramètre épidémiologique inclus dans cette étude ne constitue un facteur de risque pour les infections par le **SARM**, que ce soit d'origine communautaire ou hospitalier, comme il a été confirmé par l'analyse statistique.

Aujourd'hui plus que jamais, la maîtrise de la dissémination des **SARM** doit passer par l'éducation des personnels en matière d'hygiène, le respect des procédures de lavage des mains, ainsi qu'une politique cohérente d'hygiène notamment dans les services à forte prévalence. Une maîtrise de la diffusion des souches multirésistantes et de la pression générée par des prescriptions d'antibiotiques non justifiées semble urgente.

Ainsi, le contrôle régulier et la révision de toutes les prescriptions d'antibiotiques, sont utiles et constituent un des facteurs qui va contribuer à l'amélioration de la qualité de la prise en charge des patients..

L'actualisation des données locales, sur le profil épidémiologique de ce germe et leur sensibilité joue un rôle important dans la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques et dans la détermination d'une stratégie de contrôle du développement des **SARM** multirésistants. Ainsi, notre travail ouvre de nombreuses perspectives, parmi lesquelles:

- **étudier une population plus importante, pendant une période plus longue;**
- **étudier l'aspect génétique de cette résistance tout en explorant les mécanismes**
- **intervenant dans la régulation.**
- **mettre en place un réseau de surveillance d'infections.**

Références bibliographiques

A

- **Akoua-Koffi C, Guessennd N, Gbonon V, Faye-Ketté H. et Dosso M.** (2004). La méthicillino-résistance de *Staphylococcus aureus* isolés à Abidjan (1998-2001): un nouveau problème en milieu hospitalier. *Med Mal Infect.* **34**:132-136.
- **Al-Rawahi GN, Reylonds S, Porter SD, Forrester L, Kishi L, ChongT, Bowie WR, Doyle PW.** (2007). Community- associated CMRSA-10 (USA-300) is the predominant strain among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing skin and soft tissue infections in patients presenting to the emergency department of a Canada tertiary care hospital. *The journal of emergency medicine*; **1**: 6-11.
- **Anderson MJ, David ML, Scholz M, Bull SJ, Morse D, Hulse-Stevens M, Peterson ML.** (2015). Efficacy of skin and nasal povidone-iodine preparation against mupirocin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *S.aureus* within the anterior nares. *Antimicrob Agents Chemother* **59**: 2765–2773.
- **Antri K, Rouzic N, Dauwalder O, Boubekri I, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Tazir M, Remdani-Buoguessa N, Etienne J,** (2011). High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone ST80-IV in hospital and community settings in Algiers. *Clin Microbiol Infec.* **17**:526–32.
- **Antri K, Rouzic N, Boubekri I , Dauwalder O, Beloufa A, Ziane H, Djennane F, Neggazi M, Benhabyles B, Bes M, Tazir M, Etienne J, Remdani-Buoguessa N.** (2010). High prevalence of community and hospital acquired infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidine gene in algiers. *Path. Biol.* **58** : 15-20
- **Aouati, H.** (2009). isolement des souches de *Staphylococcus aureus* resistances à la méthecillines: etude de leur sensibilite aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, algerie: thèse : 006.
- **Armand-Lefevre L, Buke C, Ruppe E, Barbier F, Lolom I, Andremont A, et al.** (2010). Secular trends and dynamics of hospital associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect Dis*, **16**: 1435–41.
- **AUCKENTHALER R., BERGOGNE-BEREZIN .E. DELLAMONICA .P,**

Activité Antibactérienne. Spectre. Mode d'action. Cibles bactériennes In : **Antibiothérapie en pratique clinique. Masson, 1995, P17-32.**

- **Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H.** (1992). Bactériologie clinique. 2^{ème} Edition, Ellipses, Paris. 11-28.
- **Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H.** (2003) .Bactériologie clinique. 3^{ème} Edition .Ellipses, Paris.

B

- **Baron S.** (1996). Medical Microbiology, 4^{ème} edition.
- **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. *Méd Mal Infect.* **31**: 25–8.
- **Benouda A, Elhamzaoui S.** (2009). *Staphylococcus aureus* : épidémiologie et prévalence des souches résistantes a la méthicilline (**SARM**) au Maroc. *Rev Tun Infectiol.* 3 (1): 15-20.
- **Berche P, Gaillard JL, et Simowet M.** (1989). Bactériologie dans : Bactériologie des infection humaines .France .
- **Berche P.** (2002). Bactériologie systématique .P12-13
- **Biedenbach DJ, Hoban D., Sahm D., Reiszner E., Iaconis J.** (2015). Activity of ceftaroline and comparators against pathogens isolated from skin and soft tissue infections in Latin America-results of AWARE surveillance 2012. *Braz J Infect Dis.* **19(6)**: 596– 603.
- **Bismith R et Leclercq R.** (2000). *Staphylococcus aureus* et antibiotiques. In : Précis de bactériologie clinique. (ed. Freyney JRF, Hansen W, Bollet C), ESKA, Paris. 611-918.
- **BONNEFOY.C., GUILLET.F., LEYRAL.G., VERNE-BOURDIS.E.,**

microbiologie et

Qualité dans les industries agroalimentaire, Walters Kluwer, France, P 105, 2002.

- **Boukadida J, Ben Abdallah H, Boukadida N.** (2003). Profil et sensibilité aux antibiotiques de 115 staphylocoques impliqués dans des septicémies dans un hôpital général tunisien. *Bull Soc Pathol Exot*, **96, 4**, 283-285.
- **Buzaid N, Elzouki A-N, Taher I, Ghenghesh KS.** (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a tertiary surgical and trauma hospital in Benghazi, Libya. *J Infect Dev Ctries*, **5**: 723–6.

C

- **Chang S, Sievert DM, Hageman JC et al.** (2003). Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med*. **348**: 1342-1347.
- **Clarke SR, Foster SJ.** (2006). Surface adhesins of *staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol*. **51** :187-224.
- **Corne P.** (2004). *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique .Ecole doctorale : *Science Biologique et chimiques de la santé* .Paris, 16-19.
- **Couture B.** (1990). Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». *Vigot, Paris*. 15-32.

D

- **Daeschlin G, Assadian O, Daxboeck F, Kramer A** (2006). Multiplex PCR-ELISA for direct detection of MRSA in nasal swabs advantageous for rapid identification of non-MRSA carriers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. **25** : 328-30.
- **Daurel C et Leclercq R.** (2008). L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Rev Francoph Lab*. **407** : 81–90.

- **David MZ et Daum RS.** (2010). Community-associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microb Rev.* **23**: 616-687.
- **Del Giudice P, Tattevin P, Étienne J.** (2012). Infections à *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline communautaires. *Presse Med.* **41**: 713–72.
- **Djoudi F, Benallaoua S, Bonura C, Touati A, Mammina C.** (2014). *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez des mères et des enfants hospitalisés à Alger : prédominance du clone virulent européen. *Med Mal Infect.* **44** : 232-237.
- **Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM.** (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microb Rev.* **13**: 16-34.
- **Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, Etienne J, Richet H.** (2002). Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in France: Emergence of a Single Clone That Produces Panton-Valentine Leukocidin. *Clin Infect Dis.* **35**:819–24
- **Dumitrescu O, Dauwaldera O, Gilleta Y, Vandenescha F, Etiennea J, Linaa G, Tristana A.** (2008). Les infections communautaires à *Staphylococcus aureus* en pédiatrie: émergence des staphylocoques dorés résistants à la méthicilline d'origine communautaire. *Rev Francoph Labo.* **407** :71-80.
- **Dumitrescu O.** (2012). *Staphylococcus aureus* et maladies toxiques. *Rev Francoph Labo.* **439** : 7-9.

E

- **Elazhari M., Saile R., Dersi N., Timinouni M., El malki A., Zerouali K., Hassar M., Elhabchi D., Cohen N.,** (2010). Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* communautaire à Casablanca (Maroc). *Rev Tun Infect.* **4** : 134 – 140.
- **Elhamzaoui A, benouda F, allali R, Abouqual m, Elouennass M.** (2009). Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated in two university hospitals in Rabat, Morocco. *Méd mal Infect.* **39** : 891–895.

- **Eveillard M.** (2007). Politique de dépistage de *staphylococcus aureus* résistance à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de partage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Biologie cellulaire. Université d'Angers, France : thèse : 749.

F

- **Fauchere JL. et Avril JL.** (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. 213-217
- **Fayomi OD, Oyediran EI, Adeyemo AT, Oyekale OT.** (2011). Prevalence And Antibiotic Resistance Pattern Of Methicillin-Resistance *Staphylococcus aureus* Among In-Patients At A Tertiary Health Facility In Ido-Ekiti, Nigeria. *Internet J Lab Med* 4.
- **FOURNIER. V.**, La résistance bactérienne aux antibiotiques, PISTES, PARIS, P, 2003.

G

- **Garrity GM, Johnson KL, Bell J et Searles DB.** (2007). 2007. Bergey 's Manul of Systematic Bacteriology. 2^{ème} Edition. New York.
- **GARRITY. G. M., LILBURN .T.G., COLE. J.R., HARRISON. S.H., EUZÉBY .J. AND**
- **TINDALL .B.J.**, Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 March 6, Part 9- the Bacteria: Phylum” Firmicutes”: Class “Bacilli”,P 30-45, 2007.
- **Gordon L, Cloeckert A, Doubet B, Schwarz S, Bouju-Albert A, Ganiere JP, Le Bris H, Le Fleche –Mateos A, Giraud E.** (2008). Complete sequence of the florcorrying
- **Greninger AL, Chatterjee SS, Chan LC, Hamilton SM, Chambers HF et Chiu CY.**(2016). Whole-Genome Sequencing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Resistant to Fifth-Generation Cephalosporins Reveals Potential Non-*mecA* Mechanisms of Resistance *journal. pone.* **2:** 11-18.

- **Grohs P. (2008).** Evolution de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques: la méthicilline est-elle encore un marqueur de multirésistance. *Path Biol in press.* 67

H

- **Hardy K, Hawkey P, Gao F, et Oppenheirn B,** (2004). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. *Br J Anesth.* **92:** 121-130.
- **HART. T., SHEARS.P.,** Atlas de poche de microbiologie, 1^{ère} édition, Médecine-Sciences Flammarion, Paris, P71, 1997.
- **HELENE.M.,** Cours de Bactériologie, Service de Bactériologie, Université Pierre et Marie Curie, P29-40, 2002 – 2003.
- **Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T.** (2001). The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* **9:** 486-493.
- **https://www.usinenouvelle.com/mediatheque/3/1/3/000493313_image_896x598/antibiotique-antiobiogramme.jpg**
- **Hurdle, JG., O’Neil, AJ., Ingham, E., Fishwick, C., Chopra, I.** (2004). Analysis of mupirocin resistance and fitness in *Staphylococcus aureus* by molecular genetic and structural modeling techniques. *Antimicrob Agents Chemother.* **48 :** 4366-4376.
- **Hurdle JG, O’Neil AJ, Mody L, Chopra I, Bradley SF.** (2005). *In vivo* transfer of high-level mupirocin resistance from *Staphylococcus epidermidis* to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with failure of mupirocin prophylaxis. *J Antimicrob Chemother.* **56 :** 1166-1168.

L

- **Lavigne JP.** (2007). Effet des antibiotiques et mécanisme de résistance .Faculté médecine Montpellier Nîmes. p 2-3.
- **Leclercq R.** (2002). Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. *Ann Fr Anesth Réanim.* **21**: 375-383.
- **Le Minor L. et Veron M.** (1990). Bactériologie Médicale «Staphylococcus et Micrococcus» J. Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773794.
- **Liu C, Graber CJ, Karr M, Diep BA, Basuino L, Schwartz BS, Enright MC et al.** (2008). A population-based study of the incidence and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in san francisco, 2004-2005. *Clin Infect Dis.* **46** : 1637-1646.
- **Lowy FD.** (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* **339**: 520-532
- **Lowy FD.** (2003). Antimicrobiol resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* **111**: 1265-1273.

M

- **Malachowa N, DeLeo FR.** (2010). Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci CMLS.* **67**: 3057–71.
- **Marie-Claude M.** (2012). Infection nosocomiale à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez un patient adulte hospitalisé : quel antibiotique choisir?. *B.Pharm., M.Sc*
- **Mark A. Holmes, Ruth N. Zadoks.** (2011). Methicillin Resistant *S. aureus* in Human and Bovine Mastitis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* **16**: 373–382.
- **Mastouri M, Nour M, Ben Nejma M, Bouallegue O, Hammami M, Khedher M.** (2006). Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Pathologie Biologie* **54**: 33–36.

- **Mc Carthy NL, Sullivan PS, Gaynes R, Rimland D.** (2010). Health care-associated and community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections : A comparison of definitions. *AM J infect control.* **38**: 600-6.
- **McCallum N, Berger-Bachi B, Senn M.** (2010). Régulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *International journal of medical microbiology.* **300** : 118-129.
- **Mshana SE, Kamugisha E, Miramb M, Chalya P, Rambau P, Mahalu W, et al.** (2009). Prevalence of clindamycin inducible resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Bugando Medical Centre, Mwanza, Tanzania. *Tanzan J Health Res.***11**: 59-64.

N

- **Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J,**
- **Johnson SK, Vandenesch F, Fridkin S, O'Boyl C, Danila RN et Lynfield R.** (2003). Comparison of community and health care associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA.* **290** : 2976-2984.
- **Nauciel C, Vilde JL.** (2005). Bactériologie médicale. Edition Masson.
- **NAUCIEL.C., VILD.G.L.,** Bactériologie médicale, 2^{ème} édition, Masson, PARIS, P, 2005

P

- **par Walid & Yacine BOUGATTOUCHA & BOUDELAA, 2010, l'examen cytobactériologie des urines**
- **Pathare NA, Tejani S, Asogan H, Al Mahruqi G, Al Fakhri S, Zafarulla R, Pathare AV.** (2015). Comparison of methicillin resistant *staphylococcus aureus* in healthy community hospital visitors [CA-MRSA] and hospital staff [HA-MRSA]. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 7(1).
- **Périchon B et Courvalin P.** (2009). Van A-type vancomycine-résistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents.* **18** : 25-28.

- **PHILIPPON.A., PROTS.L.**, Cours de Bactériologie Générale, Faculté de médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Paris, P 7-9, 2002.
- **Piemont Y, Rifal S et Monteil H.** (1998) .les exofoliatines de *staphylococcus aureus*. *Bull Inst Pasteur.* **86** : 263-296.
- **Pittet D, Sax H.** (2000). Alerte rouge : Staphylocoque doré de sensibilité diminuée à la vancomycine. *Swiss Noso.* **7** : 2.

Q

- **Quincampoix JC, Mainardi JL.** (2001) Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation* **10** : 267-275.

R

- **Rashidieh B, Etemadiafshar S, Memari G, Mirzaeichegeni M, Yazdi S, Farsimadan F et Alizadeh S.** (2015). A molecular modeling based screening for potential inhibitors to alpha hemolysin from *Staphylococcus aureus*. *Bioinformation* **11(8)**: 373-377.
- **Rebiahi SA.** (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Université de tlemcen. Algérie.
- **Rebiahi SA, Abdelouahid DE, Rahmoun M, Abdelali S, Azzaoui H.** (2011). Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). *Méd Mal Infect.* **41**:646–51.
- **Richter SS, Diekema DJ, Heilmann KP, Dohrn CL, Crispell EK, Riahi F, McDanel JS, Satola SW, Doernb GV.** (2014). Activities of Vancomycin, Ceftaroline, and Mupirocin against *Staphylococcus aureus* Isolates Collected in a 2011 National Surveillance Study in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **58** : 740–745.
- **ROUGIER.A.**, cour de bactériologie, 1TSBioT, PARIS, P 1-3, 2010.

S

- **Saidani M, Boutiba I, Ghozzi R, Kammoun A, Ben Redjeb.** (2006). Profil bactériologique des bactériémies à germs multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Med Mal Inf.* **36**:163-166.
- **Seydi M, Sow AI, Soumaré M, Diallo HM, Hatim B, Tine R, et al.** (2004). *Staphylococcus aureus* bacteremia in the Dakar Fann University Hospital]. *Méd Mal Infect.* **34**: 210–5.
- **Shallcross LJ, Williams K, Hopkins S, Aldridge W, Johnson AM, Hayward AC.** (2010). Panton-Valentine leukocidin associated staphylococcal disease : a cross-sectional study at London hospital, England. *Clin Microbiol Infect.* **16** : 1644-1648.
- **Shittu AO, Lin J.** (2006). Antimicrobial susceptibility patterns and characterization of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in KwaZulu-Natal province, South Africa. *BMC Infect Dis.* **6**:125.
- **SINGLETON.P.**, traduit de l'anglais par Dusart.J., bactériologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie, 6^{ème} édition, Dunod, Paris, P14-33, 2005.
- **Skiest J, Brown K, Travis WC, Holly H, Huda R et Elliott A.** (2007). Prospective comparison of methicillin-susceptible and methicillin-resistant community-associated *Staphylococcus aureus* infections in hospitalized patients. *J Infect.* **54**: 427-34.
- **Song JH, Hsueh PR, Chung DR, Ko KS, Kang CI, Peck KR, et al.** (2011). Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: an ANSORP study. *J Antimicrob Chemother.* **66**: 1061–9.
- **Srinivasan A, Seifried S, Zhu L, Srivastava DK, Flynn PM, Shenep JL, Bankowski MJ, et Hayden RT.** (2009). Panton–Valentine Leukocidin-Positive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Children With Cancer. *Pediatr Blood Cancer.* **53**: 1216–1220.

T

- **Tankovic J, Aubry-Damon H et Leclercq R.** (1997). Résistance aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. *Méd Mal Infect.* **27**: 207-16.
- **Tattevin P.** (2011). Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire. *Med Mal Infect.* **41**: 167–175.
- **Thabet L, Zoghlami A, Boukadida J, Ghanem A, Messadi AA.** (2013). Etude comparative de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées au service de Réanimation de brûlés durant deux périodes (2005-2008, 2008-2011) et dans deux structures hospitalières (Hôpital Aziza Othmana, Centre de traumatologie et grands brûlés ben Arous). *La Tunisie Médicale.* **91**: 138-142.

W

- **Wang JT, Wang JL, Fang CT, Chie WC, Lai MS, Lauderdale TL, Weng CM, Chang SC.** (2010). Risk factors for mortality of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bloodstream infection: With investigation of the potential role of community-associated MRSA strains, *J Infect.* 1-9.
- **Winston LG et Chambers HF.** (2009). Antimicrobial resistance in staphylococci : Mechanisms of resistance and clinical implication. Antimicrobial drug resistance, *Clin Epidemiol Aspect.* **2**: 735-748.

Y

- **Yıldız Ö, Çoban AY, Şener AG, Coşkuner SA, Bayramoğlu G, Güdücüoğlu H, Özyurt M, Tatman-Otkun M, Karabiber N, Özkütük1 N, Aktepe O, Öncü S, Arslan U et Bozdoğan B.** (2014). Antimicrobial susceptibility and resistance mechanisms of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from 12 Hospitals in Turkey. *Ann. Clin Microbiol Antimicrob.* **13** : 44-49

Z

- **Zahlane KH.** (2007). Staphylocoque: état actuel de l'épidémiologie et de l'antibiorésistance au CHU de Rabat. *Maroc Médical.* **4**: 279-285.

Annexes

ANNEXE I: Milieux de culture

□ **Gélose Chapman**

Peptone.....	11,0 g
Extrait de viande.....	1,0 g
Chlorure de sodium.....	75,0 g
Mannitol.....	10,0 g
Agar	15,0 g
Rouge de phénol	

pH = 7,6

Préparation : 111 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20 min.

□ **Gélose au sang (Columbia)**

Mélange spéciale de peptones.....	23,0 g
Amidon.....	1,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Agar.....	0,7 g

pH = 7,3

Préparation : 42.5 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20 min. Le sang est ajouté stérilement dans le milieu stérile en surfusion.

□ **Gélose Mueller-Hinton**

Infusion de viande de bœuf.....	300 ml
Peptone de caséine.....	17,5 g
Amidon de maïs.....	1,5 g
Agar.....	10,0 g

pH= 7,4

Préparation : 37 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15 min.

□ **Gélose Mueller-Hinton additionnée de 4% NaCl**

M H Agar.....	37,0 g
NaCl.....	40,0 g
Eau distillée.....	1000 ml

Ph= 7,4

Préparation : 37 g par litre d'eau distillée additionné de 40g d'NaCl. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15 min.

□ **Bouillon cœur cerveau (BHIB)**

Infusion de cervelle de veau.....	200g
Infusion de coeu de bœuf.....	50g
Peptone de gélatine.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate disodique.....	2,5g
Glucose.....	2g

pH=7,4

Préparation : 37 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20 min.

□ **Gélose pour la conservation**

Peptone.....	10,0 g
Extrait de viande.....	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Agar.....	10,0 g

pH= 7,3

Préparation : Prêt à l'emploi en petits tubes fins.

ANNEXE II: Solutions et Réactifs□ **Sérum physiologique :**

Chlorure de Sodium.....	9 g
Eau distillée	1000 ml

□ **Plasma du lapin :**

Plasma de lapin lyophilisé (1 flacon).....	10 ml
Diluant (oxalate de sodium).....	1 ampoule: 10 ml

Préparation :

10 ml de solvant additionné stérilement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé. Agiter pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse.

□ **Réactifs de la coloration de Gram****-Violet de gentiane**

Phénol.....	2,0 g
Violet de gentiane.....	1,0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

-Lugol:

Iodure de potassium.....	2,0 g
Iode métalloïde.....	1,0 g
Eau distillée	300ml

-Alcool (éthanol)**-Fuschine de ziehl:**

Fuchine basique.....	1,0g
Phénol.....	5,0 g
Éthanol à 90°	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

ANNEXE III : Coloration de Gram et Test de catalase



Coloration de Gram

- ✓ Réalisation d'un frottis bactérien sur une lame bien dégraissée ;
- ✓ Fixation des bactéries par passage de la lame dans la flamme de bec Bunsen ;
- ✓ La lame est recouverte par le premier colorant, violet de gentiane pendant 1 min ;
- ✓ Traitée la lame par le lugol, qui fixe la premier colorant pendant 30 sec ;
- ✓ Décoloration par l'alcool durant 30 sec ;
- ✓ Rincée la lame rapidement par l'eau, est faire le deuxième colorant, la fuchsine pendant 1 min ;
- Séchée la lame a l'aire libre, puis observée au microscopiques optiques à l'objectif $\times 100$, avec l'huile à immersion.



Test de la catalase

- ✓ Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée ;
- ✓ A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter 2-3 colonies identiques ;
- ✓ Observer immédiatement ;
- ✓ L'apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase (+) ;
- ✓ Pas de bulles : catalase (-).

ANNEXE IV: Tableau de lecture de la galerie Api Staph

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-
GLU	D-glucose	Témoin positif		Jaune
FRU	D-fructose	Acidification à partir du carbohydate		
MNE	D-mannose			
MAL	Maltose			
LAC	Lactose			
TRE	D-tréhalose			
MAN	D-mannitol			
XLT	Xylitol			
MEL	D-melibiose			
NIT	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 10 mn	
			Incolore/rose	Rouge
PAL	β -naphtyl ac.phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A + ZYM B / 10 mn	
			Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			Incolore/ rose	Violet/rose
RAF	Raffinose	Acidification à partir du carbohydate	Rouge	Jaune
XYL	Xylose			
SAC	Saccharose			
MDG	α -méthyl-D- glucosamine			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/violet

ANNEXE V

Profils de résistance aux antibiotiques des 37 souches de **SARM**

Code	AGE			TYPE	Colonne2	CMI																
	SEXE	(ans)	SERVICE			P	FOX	OXA	GMN	KMN	CMN	E	PTN	L	CIP	VA	RIF	TE	CHL	FC	CLR	(µg/ml)
1	M	11	PED	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	2
2	M	10	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	4
3	M	7jours	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	8
4	F	6	ORL	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	2
5	M	6	PED	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	32
6	F	12	CHI	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	32
7	F	7	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	4
8	M	9 mois	CHI	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	4
9	M	12	CHI	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	32
10	F	11	CHI	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	16
11	F	15	CHI	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S	256
12	M	3mois	CHI	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	R	64
13	M	12	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	8

				A																	
14	F	12	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	4
15	F	1	PED	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	8
16	M	7 jours	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	8
17	M	6	CHI	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	16
18	M	2	CHI	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	8

19	M	4	CHI	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	4
20	M	4	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	8
21	M	8	PED	CA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S	256
22	M	7 jours	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	8
23	F	3	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	32
24	M	1mois	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	4
25	F	11	PED	HA-MRSA	Beni-Messous	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	4
26	M	25	Gynéco	CA-MRSA	Kelil-AMRANE	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	N.T	256
27	M	1mois	PED	CA-MRSA	Kelil-AMRANE	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	N.T	32
28	M	28	orthopédie	HA-MRSA	Kelil-AMRANE	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	N.T	1024
29	F	35Jours	PED	HA-MRSA	Kelil-AMRANE	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	N.T	4
30	M	36	MIH	CA-MRSA	Kelil-AMRANE	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S	R	S	S	N.T	16
31	M	41	CHI	HA-MRSA	Kelil-AMRANE	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	N.T	1024
32	M	62	CHI	HA-MRSA	Kelil-AMRANE	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R	N.T	1024
33	F	45	orthopédie	CA-MRSA	Kelil-AMRANE	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	N.T	32

34	M	jours	CHI	MRSA	AMRAN E	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	N.T	
35	F	2mois	PED	HA- MRSA	Kelil- AMRAN E	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	N.T	64
36	F	33	Gynéco	CA- MRS A	Kelil- AMRAN E	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	N.T	4
37	F	25 jours	PED	HA- MRSA	Kelil- AMRAN E	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	N.T	4

Résumé

But de l'étude : Cette étude consista à évaluer la sensibilité aux antibiotiques et estimer la prévalence des **SARM** au niveau d'EPS. **Méthodes :** 28 souches non-dupliquées de *S. aureus* ont été isolées à partir de différents échantillons pathologiques. L'identification des souches a été faite par les tests classiques (coagulase et gallerie API-Staph), la sensibilité aux antibiotiques a été déterminée en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé, l'évaluation des **CMI** à l'oxacilline effectuée par la technique de dilution en milieu solide, et une analyse statistique a été réalisé afin de déterminer les facteurs de risque. **Résultats:** 28 infections par *S. aureus* résistance à la méthicilline ont été rapportées, avec un taux de **SARM-H** plus élève que les **SARM-C**. Les taux de résistance à la tétracycline, érythromycine, gentamycine et la Ciprofloxacine étaient respectivement de : 64,86%, 37,84%, 18,94% et 18,94. Cependant, aucune souche n'a exprimé de la résistance à la vancomycine ni à la pristinamycine. Aucun des paramètres épidémiologie analysés n'était un facteur de risque d'infection par **SARM**. **Conclusion :** Les souches résistantes compliquent la prise en charge correcte des patients et limitent les choix de traitement. D'où l'importance des mesures d'hygiène ainsi que l'utilisation rationnelle des antibiotiques.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, antibiorésistance, méthicilline, **SARM** communautaire, **SARM** hospitalier.

Summary

Purpose of the study: this study consists to evaluate the antibiotics sensitivity and to esteem the prevalence of MRSA at EPS **Methods:** in this purpose, 28 of non-duplicated strains of *S. aureus* were isolated from different pathologic samples. Identification of strains performed by classic tests (coagulas and APIstph), and sensitivity to antibiotics was determined by diffusion in solid medium method (Muller-Hinton). Evaluation of **CMI** was performed by dilution technique in solid medium for the oxacillin and a statistic analysis realized with XLSTAT software to determine risks factors. **Results:** 28 methicillin resistant *S. aureus* infections to were detected, revealing a high rate of HA-MRSA, compared to CA-MRSA. Resistance rates to tetracycline, erythromycin gentamicin and ciprofloxacin were respectively, 64,68 ; 37,84; 18,94 and 18,94. However, no strain showed resistance to vancomycin and pristinamycin. And no epidemiologic parameter was a risk factor for MRSA infection. **Conclusion:** these high resistances rates complicate the correct support of patients and make difficult the treatment of first intention.

Key words: *Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance, methicillin, HA-MRSA, CA-MRSA.