

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عمار ثلجي بالأغواط
Université Amar Thelidji Laghouat
كلية العلوم
Faculté des sciences
قسم البيولوجيا
Département de biologie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : SNV

Filière : Science Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Isolement et caractérisation des Staphylocoques
multirésistants impliqués dans les infections
nosocomiales au niveau de l'hôpital de Ghardaïa

Présenté par :

M^{elle} SOUATI Assia

Devant le jury :

M^r KRANTAR Kamel	MAA	Université de Laghouat	Président
M^r ZERROUKI Mohamed Houcine	MAA	Université de Laghouat	Examinateur
M^r GACEM Mohamed Amine	MCA	Université de Laghouat	Promoteur
M^r DJELLID Youssef	MAA	Université de Ghardaïa	Co-promoteur

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes CHERS PARENTS qui m'ont soutenu dans toute ma vie, je leur exprime ma profonde gratitude pour leur amour et soutien moral ainsi que pour leur encouragement durant tout mon parcours vers un avenir meilleur.

Et surtout je dédie ce travail à mon cher mari YOUSSEF qui m'a supporté vaillamment pas à pas tout au long de mon parcours scientifique

À mes chers frères NASRO et MOHAMED que j'adore au fond du cœur et à ma chère sœur FATIMA ZOHRA

À Mon cher oncle ALI et ses enfants KHADIDJA et YASSMINE et HAMZA

ET ma chère cousine NADIA

À Mes chères copines IMANE ET SOUAD

À mes oncles et tantes

À toute ma famille

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier Allah le tout-puissant et miséricordieux de m'avoir donné la santé, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Mes remerciements sont adressés à Mr Krantar Kamel Maître-assistant à l'Université de Laghouat de nous avoir honoré de présider ce jury.

Je remercie vivement Mr Zerrouki Mohamed Houcine Maître-assistant à l'Université de Laghouat d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier mon directeur de mémoire Mr Gacem Mohamed Amine, Maître de Conférence à l'Université de Laghouat pour l'orientation, la confiance et la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Je tiens à remercier mon Co-directeur de mémoire Mr Djellid Youssef, Maître assistant à l'Université de Ghardaïa pour son aide, ses orientations et ses précieux conseils.

Je tiens à remercier également l'équipe du laboratoire de l'hôpital de Ghardaïa et à toute le gérant du laboratoire Essalam-Ghardaïa Mr Yassine pour leur accueil et coordination afin de faciliter la réalisation de ce mémoire.

Un grand remerciement à ma famille et mes amis pour leur soutien, et leurs encouragements par ces derniers j'ai pu surmonter tous les obstacles.

Enfin, je tiens également à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

TABLE DES MATIÈRES

Dédicace	2
REMERCIEMENTS	3
TABLE DES MATIERES	4
LISTE DES ABREVIATIONS	6
LISTE DES TABLEAUX	7
LISTE DES FIGURES	8
RESUME	9
ABSTRACT	10
ملخص	11
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	2
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	2
1.1. Histoire et découverte	2
2. <i>Taxinomie</i>	2
3. Caractères bactériologiques	4
3.1. Morphologie	4
3.1.1. Morphologie des colonies de <i>S. aureus</i>	5
3.1.2. Habitat	6
3.2. Caractères biochimiques	7
3.3.1. Les composants de la paroi et la capsule	11
3.3.2. Les protéines de surfaces	11
3.3.3. Les protéines sécrétées ou toxines	15
4. Résistance aux antibiotiques	20
4.1. Définition de l'antibiotique	20
4.2. Mode d'action des antibiotiques	20
4.2.1. La Résistance	21
4.2.1.1. L'Antibiorésistance	21
a. Types de résistance	21
4.2.1.2. Support génétique de l'antibiorésistance	22
a. Les Transposons	22
b. Les plasmides	22

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	24
1. Rappel des objectifs	24
2. Lieu d'étude	24
3. Matériel biologique	26
4. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	26
4.1. Isolement	26
4.2. Purification des souches isolées	26
4.4. Identification biochimique	26
4.5. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	27
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION	29
1. Echantillonnage et répartition des prélèvements	29
2. Isolement de <i>Staphylococcus aureus</i>	31
3. Révélation de la résistance des isolats vis-à-vis des antibiotiques testés	34
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	39
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	40
Annexes	8

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

SCN : Staphylocoques à coagulase négative

H : Heure

Min : minute

ATB : antibiotique

pH : potentiel hydrogène

MH : médecine hommes

MF : médecine femmes

MI : médecine interne

LCR : liquide céphalorachidien

ECBU : étude céto-bactériologique des urines

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Origine des espèces et sous-espèces appartenant au genre <i>Staphylococcus</i>	3
Tableau 2. Caractéristiques des différents antibiotiques testés	28
Tableau 3 . Répartition des prélèvements selon le service, le sexe, l'âge et le type de l'échantillon biologique	29
Tableau 4 . Répartition des souches de <i>S. aureus</i> par services hospitaliers	33
Tableau 5 . Profils de résistance et de sensibilité des souches isolées envers les différents antibiotiques	35

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Observation microscopique de <i>S. aureus</i> après coloration de Gram (Gr ×100.....	5
Figure 2. Morphologie des colonies de <i>S. aureus</i> après culture sur gélose au sang.....	5
Figure 3. Révélation des souches <i>S. aureus</i> à coagulase positif.....	8
Figure 4. Mise en évidence des souches de <i>S. aureus</i> à DNase thermostable positive	9
Figure 5. <i>S. aureus</i> à catalase positive.....	9
Figure 6. Fermentation du mannitol par des souches de <i>S. aureus</i> sur gélose Chapman	10
Figure 7. Structure des MSCRAMM chez <i>S aureus</i>	12
Figure 8. Phénomène de transpeptidation de l'adhésine chez les <i>S. aureus</i>	13
Figure 9. Expression des facteurs de virulence chez <i>S. aureus</i>	19
Figure 10. Schéma représentant les différentes cibles d'action d'un antibiotique sur la cellule bactérienne.	20
Figure 11. Cibles bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	23
Figure 12. Protocole suivi durant isolement et d'identification des souches de <i>S.aureus</i>	25
Figure 13. Répartition des prélèvements par service.....	30
Figure 14. Nombre d'échantillons prélevés selon l'âge	31
Figure 15. Aspect des colonies <i>S. aureus</i> sur la gélose Chapman.....	32
Figure 16. Observation microscopique des isolats de <i>S. aureus</i> (Objectif x100).....	32
Figure 17. Test de la catalase des isolats de <i>S. aureus</i>	32
Figure 18. Test de l'oxydase des isolats de <i>S. aureus</i>	33
Figure 19. Test de la Coagulase des isolats de <i>S. aureus</i>	33
Figure 20. Révélation de la résistance des isolats vis-à-vis des antibiotiques testés.....	34
Figure 21. Nombre de souches sensibles et résistance en fonction de l'antibiotique testé. ...	36

RESUME

De nombreuses études se concentrent sur les *Staphylococcus aureus* ce qui justifie l'immense rôle qu'elle joue cette espèce bactérienne en pathologie infectieuse humaine et vétérinaire. La recrudescence de la multirésistance aux agents antimicrobiens constitue un problème majeur de santé publique dans le monde en raison des fréquences qui ne cessent d'augmenter et provoquent des impasses thérapeutiques dans le prochain avenir.

Cette étude vise à isoler les souches de *S. aureus* à partir de différents services hospitaliers de l'hôpital de Ghardaïa et d'évaluer leur sensibilité envers 14 antibiotiques de différentes familles communément utilisés dans l'antibiothérapie.

L'isolement de *S. aureus* est effectué à partir de plusieurs services hospitaliers en couvrant diverses tranches d'âges et différents liquides biologiques (urines, liquide céphalorachidien et pus). L'identification des souches est réalisée via les méthodes classiques d'identification des bactéries (macroscopique, microscopique, biochimique et enzymatique).

Les résultats montrent une variabilité de résistance entre les souches étudiées envers les antibiotiques testés avec absence d'une multirésistance.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, pathologie, multirésistance, Ghardaïa, antibiothérapie.

ABSTRACT

Many studies of *Staphylococcus aureus* are justified by the immense role it plays in human and veterinary infectious diseases. The resurgence of multi-resistance to antimicrobial agents is a major public health problem in the world due to the ever-increasing frequencies and causing therapeutic deadlocks in the near future.

This study aims to isolate strains of *S. aureus* from different departments of Ghardaïa hospital and evaluate their sensitivity to 14 different antibiotics of different families commonly used in antibiotic therapy.

The isolation of *S. aureus* was performed from several hospital departments, covering various age groups and different biological samples (urine, cerebrospinal fluid and pus). The identification of the strains has been carried out via the classical approaches of identification of bacteria (macromorphological, micromorphological, biochemical and enzymatic methods).

The resistance profile of the isolates has been studied against fourteen antibiotics via the standard technique of diffusion of the antibiotic in agar. The results show variability in resistance between strains studied against antibiotics tested with the absence of multi-resistance.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, pathology, multi-resistance, Ghardaïa, antibiotictherapy.

ملخص

العديد من الدراسات حول المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) تبرر الاهتمام بهذا النوع البكتيري لتسببه في الكثير من الأمراض المعدية البشرية والبيطرية. تعد عودة المقاومة المتعددة للعوامل المضادة للميكروبات مشكلة صحية عامة رئيسية في العالم بسبب النسب المتزايدة باستمرار والتسبب في حدوث مشاكل علاجية في المستقبل القريب.

تهدف هذه الدراسة لعزل سلالات *S. aureus* من عدة أقسام على مستوى مستشفى غرداية وتقييم حساسيتها لـ 14 مضاد حيوي من مختلف العائلات المستخدمة عادة في العلاج بالمضادات الحيوية.

تم عزل *S. aureus* من العديد من أقسام المستشفى، والتي تغطي مختلف الفئات العمرية وسوائل الجسم المختلفة (البول، السائل النخاعي و القيح). تم تحديد السلالات من خلال الأساليب الكلاسيكية لتحديد البكتيريا (الطرق الماكرو و الميكرومورفولوجية، الكيمائية الحيوية والإنزيمية).

تمت دراسة ملف مقاومة العزلات عن طريق قياس حساسيتها اتجاه 14 مضاداً حيوياً من خلال تقنية انتشار المضاد الحيوي في وسط الزرع الصلب. أظهرت النتائج تبايناً في المقاومة بين السلالات التي تمت دراستها ضد المضادات الحيوية التي تم اختبارها مع عدم وجود مقاومة متعددة.

الكلمات المفتاحية: المكورات العنقودية الذهبية، علم الأمراض، المقاومة المتعددة، غرداية، العلاج بالمضادات الحيوية.

Introduction

INTRODUCTION

Les staphylocoques sont des cocci Gram positif, non capsulés, très résistants et peu exigeants dans les culture *In Vivo*. Les principales espèces sont *Staphylococcus aureus* ; *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis* et *S. capitis* (Delaras, 2004).

Les infections staphylococciques sont observées dans de multiples situations cliniques, aussi bien en pathologie communautaire qu'en pathologie nosocomiale. Les espèces du genre *Staphylococcus* sont les germes les plus souvent incriminés dans les infections nosocomiales (15,7 %)(Sulaiman, 2016).

Les infections dues au *Staphylococcus* sont devenues de plus en plus difficiles à traiter en raison de l'émergence d'une résistance aux antibiotiques, cette résistance apparaît plus ou moins rapidement selon la plasticité génétique de la bactérie et la nature chimique des antibiotiques telle que la méticilline (SARM). Actuellement, une résistance envers la majorité des bêta-lactamines est enregistrée (Bhat & Tenguria, 2014).

En Algérie, un nombre important de travaux scientifique a rapporté le rôle que joue l'environnement hospitalier dans le développement des infections nosocomiales dues au *Staphylococcus*. En outre, l'environnement hospitalier est un réservoir de microorganismes résistants, ce qui ouvre la voie pour des infections difficiles à traiter pour les patients.

Notre travail a pour objectif de déterminer le degré du risque des infections nosocomiales dues aux *Staphylococcus* chez les patientes hospitalisées au niveau des différents services de l'hôpital de Ghardaïa. Une identification des souches isolées est mise en évidence. Les souches identifiées comme étant des *Staphylococcus aureus* sont soumis à un criblage afin d'évaluer leurs résistances aux antibiotiques.

Pour se faire, une synthèse bibliographique représentant la première partie de l'étude est réalisée afin de regrouper les informations essentielles sur les *Staphylococcus aureus* et leur résistance aux antibiotiques.

Dans la seconde partie de notre étude, la méthodologie est représentée par les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivie des principaux résultats et leurs discussions. L'étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. *Staphylococcus aureus*

1.1. Histoire et découverte

Les staphylocoques furent observés pour la première fois à la fin des années 1800 par Robert Koch et Louis Pasteur. Durant la même période Rosenbach isolat pour la première fois en culture pure *Staphylococcus aureus* (Corne, 2004). *S. aureus* est une bactérie à la fois commensale et pathogène opportuniste (Gordon et Lowy, 2008). Cette espèce bactérienne peut coloniser l'Homme et de multiples espèces animales à savoir : le porc, le sanglier ainsi que le cerf rouge (Gordon et Lowy, 2008 ; Burns *et al.*, 2014 ; Porrero *et al.*, 2014). Chez l'Homme, *S. aureus* est peut-être isolée à partir des fosses nasales, des aisselles ou encore à partir du système gastro-intestinal (Wertheim *et al.*, 2005).

Le nez est l'organe le plus colonisé chez l'être humain. Le portage de la bactérie peut être temporaire ou permanent (Wertheim *et al.*, 2005). Le portage permanent peut aller jusqu'à 50% de la population, en revanche, le portage temporaire est à peu près 60% de la population. Il est à noter que la durée du portage ne dépasse généralement pas une semaine (Smith *et al.*, 2001 ; Amir *et al.*, 2006 ; Lister et Horswill, 2014).

Staphylococcus aureus est le staphylocoque le plus virulent en raison de ses facteurs de virulence (Gordon et Lowy, 2008 ; Nguyen *et al.*, 1999). Lorsque l'opportunité se présente, cette espèce peut causer diverses infections telles que des endocardites, des ostéomyélites, des infections de la peau, des pneumonies, et des intoxications alimentaires (Gordon et Lowy, 2008).

L'espèce *S. aureus* a permis la découverte du premier antibiotique. C'est en 1928, qu'Alexander Fleming, biologiste britannique, revint de son voyage pour découvrir des cultures de *S. aureus* contaminées par la moisissure filamenteuse *Penicillium notatum*, cette dernière a pu inhiber la croissance du staphylocoque doré. C'est ainsi qu'il découvrit la pénicilline (Yu *et al.*, 1986).

2. Taxinomie

Plus de 50 espèces et sous-espèces sont répertoriées au sein du genre *Staphylococcus* (Tableau 1) (Le Loir et Gautier, 2010). D'un point de vue taxinomique, le genre

Staphylococcus fait partie du phylum des *Firmicutes* (regroupant les bactéries à Gram positif), à la classe des *Baccilli*, et à l'ordre des *Bacillales*. Les espèces du genre *Staphylococcus* appartiennent à la famille des *Staphylococcaceae*, cette dernière abrite quatre autres genres à savoir : *Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Macrococcus* et *Salinicoccus*.

Morphologiquement, les *Staphylococcus* sont des coques d'un diamètre allant de 0,8 à 1 µm, groupés en amas, immobiles, non sporulés, aéro-anaérobies facultatives avec une catalase positive et une oxydase négative (Le Loir & Gautier, 2010).

Tableau 1. Origine des espèces et sous-espèces appartenant au genre *Staphylococcus* (Stepan *et al*, 2004 ; Le Loir & Gautier, 2010 ; NCBI : www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy)

Nom	Coagulase	Réservoirs
<i>Staphylococcus agnetis</i>	- / +	Bovin
<i>S. arlettae</i>	-	Caprin, volaille
<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i> subsp. <i>aureus</i>	+	Ovin, homme, animaux et environnement
<i>S. auricularis</i>	-	Homme
<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i> subsp. <i>ureolyticus</i>	-	Homme, Caprin
<i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i> subsp. <i>utilis</i>	-	Produits carnés Aliments
<i>S. chromogenes</i>	-	Animaux, lait
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i>	-	Homme, animaux
<i>S. condimenti</i>	-	Sauce soja
<i>S. devriesei</i>	-	Bovins, lait
<i>S. epidermidis</i>	-	Homme, animaux, environnement
<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i> subsp. <i>linens</i>	- -	Cheval, bétail fomage
<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>	-	Cheval, bétail
<i>S. felis</i>	-	Chat
<i>S. fleurettii</i>	-	Fromages au lait de chèvre
<i>S. gallinarum</i>	-	Volailles, oiseaux
<i>S. haemolyticus</i>	-	Homme, animaux domestiques, environnement
<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	-	Homme
<i>S. hyicus</i>	+	Animaux, aliments
<i>S. intermedius</i>	+	Mammifères, oiseaux
<i>S. kloosii</i>	-	Animaux sauvages
<i>S. leei</i>	+	Homme

Tableau 1 (suite)

Nom	Coagulase	Réservoirs
<i>S. lentus</i>	-	Animaux
<i>S. lugdunensis</i>	-	Homme
<i>S. lutrae</i>	+	Loutre
<i>S. massiliensis</i>	-	Homme
<i>S. microti</i>	-	Rongeurs
<i>S. muscae</i>	-	Mouche, porc
<i>S. nepalensis</i>	-	Chèvre
<i>S. pasteurii</i>	-	Homme, animaux, aliments
<i>S. piscifermentans</i>	-	Poisson fermenté
<i>S. pseudintermedius</i>	-	Animaux
<i>S. pseudolugdunensis</i>	-	Homme
<i>S. pettenkoferi</i>	-	Homme
<i>S. pulvereri</i>	-	Homme, animaux
<i>S. rostri</i>	-	Porc
<i>S. saccharolyticus</i>	-	Homme
<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>	+	Animaux, homme
subsp. <i>saprophyticus</i>	-	Animaux
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	+	Chiens
subsp. <i>schleiferi</i>	-	Homme
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>Carnaticus</i>		Produits carnés
subsp. <i>lentus</i>	-	Animaux
subsp. <i>rodentium</i>		Rongeurs, animaux
subsp. <i>sciuri</i>		Homme, animaux
<i>S. simiae</i>	-	Singe
<i>S. simulans</i>	-	Homme, mammifères
<i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>		Surface fromage affiné
subsp. <i>succinus</i>	-	Ambre
<i>S. vitulinus</i>	-	Animaux, aliments
<i>S. warneri</i>	-	Homme, primates

3. Caractères bactériologiques

3.1. Morphologie

Sous la microscopie, les staphylocoques apparaissent en amas irréguliers ou regroupés par deux (diplocoques) ou encore par quatre (tétraèdres) (Figure 1). Ces petits amas forment souvent des grappes. En effet, le nom staphylocoque est dérivé du grec «staphyle» qui signifie tout simplement grappe de raisin.



Figure 1. Observation microscopique de *S. aureus* après coloration de Gram (Gr $\times 100$) (Spicer, 2003).

3.1.1. Morphologie des colonies de *S. aureus*

Le *S. aureus* est une bactérie à croissance aéro-anaérobie facultative, et sa croissance sur milieu ordinaire est facile (bactérie non exigeante), les colonies peuvent apparaître après 24 à 48 h d'incubation. Les colonies observées sont alors lisses, opaques, convexes et rondes (à bord net). Leur diamètre est compris entre 1 et 3 mm et elles peuvent être pigmentées (Figure 2). En effet, les pigments dorés sont l'origine du nom « aureus » (Spicer, 2003).



Figure 2. Morphologie des colonies de *S. aureus* après culture sur gélose au sang (Spicer, 2003)

Il est à noter que le *S. aureus* peut également croître en milieu hostile comme par exemple la gélose Chapman (milieu sélectif hypersalé), ce qui facilite l'isolement des souches (Breche *et al.*, 1988).

3.1.2. Habitat

a. Chez l'être vivant

L'omniprésence de *S. aureus* chez l'Homme et l'animal est une réalité. En effet, *S. aureus* fait partie de la flore commensale normale des mammifères et des oiseaux, cependant, certaines espèces de staphylocoques ont un hôte préférentiel. *S. aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères (marins et terrestres) (Hennekine *et al.*, 2003).

Chez l'Homme, *S. aureus* est repéré sur la surface de la peau et des muqueuses, en outre, il colonise principalement les fosses nasales, les glandes de la peau, le cuir chevelu, les mains, la bouche, les dents et le périnée (Porrero *et al.*, 2014 ; Wertheim *et al.*, 2005 ; Lister et Horswill, 2014).

La présence de ce micro-organisme n'induit pas forcément une pathologie infectieuse car il existe des porteurs sains dans la population. La fréquence du portage sain chez les humains est approximativement de 30%, cette fréquence diffère selon la localisation comme par exemple : le nez (23 à 46 %) (Amir *et al.*, 2006), la bouche (24 à 36 %) (Smith *et al.*, 2001) et l'âge (jusqu'à 64 % chez les enfants) (Waston *et al.*, 2006).

S. aureus peut infecter les lésions cutanées, les glandes mammaires et les muqueuses intestinales ou génitales. Certains facteurs de risque de portage de *S. aureus* sont identifiés, il s'agit des phototypes blancs, le sexe masculin, les diabétiques, les insuffisants hépatiques, les personnes présentant des problèmes cutanés, les sujets séropositifs pour le VIH ou encore les personnes sous dialyse (Williams, 1963 ; Nguyen *et al.*, 1999 ; Yu *et al.*, 1986).

b. Dans l'environnement

Le *S. aureus* est une bactérie ubiquitaire. Il possède des capacités d'adaptation et de résistance au stress, il est capable de survivre dans un large éventail d'habitats environnementaux. La bactérie peut être isolée de façon sporadique dans le sol, l'eau douce, le sable des plages, l'eau de mer, et la surface des plantes. Concrètement, elle est largement présente dans les poussières dispersées dans l'air et les surfaces (Dworkin *et al.*, 2006).

Les difficultés d'éradication de ce micro-organisme posent un problème en milieu hospitalier, les personnes hospitalisées peuvent être infectées par des *S. aureus* qui sont d'origine humaine. Ces personnes se retrouvent contaminées par contact direct, par des aérosols, ou bien à partir de surfaces contaminées. Une étude a montré que durant une période de 18 mois, 64% des échantillons d'air prélevés dans un bloc opératoire en activité étaient contaminés par *S. aureus* (Edmiston *et al.*, 2005).

c. Dans les aliments et leur environnement de production

S. aureus peut se retrouver dans les aliments comme par exemple : le lait, les produits laitiers et la viande. La contamination des aliments peut être due principalement à la contamination de la matière première ou d'origine humaine lors des manutentions et le conditionnement des aliments dans l'industrie agro-alimentaire (Callon *et al.*, 2007). Ces contaminations sont souvent liées au manque d'hygiène du matériel et/ou du personnel.

3.2. Caractères biochimiques

La différenciation des espèces staphylococciques repose sur l'analyse des séquences de l'ARNr 16s ; l'hybridation des acides nucléiques (ADN-ADN) et d'autres techniques de biologie moléculaire. Par plusieurs critères distinctifs, les *S. aureus* peuvent se différencier des autres espèces de staphylocoques. Les *S. aureus* possèdent une coagulase, une désoxyribonucléase (DNase), une activité catalase positive et peuvent fermenter le mannitol (Verdier *et al.*, 2012).

a. La coagulase ou staphylocoagulase

La staphylocoagulase libre est le produit du gène *coa*. Ce gène induit la production d'une protéine extracellulaire. Elle fait partie des SERAM (secretable expanded repertoire adhesive molecules) qui sont des nouvelles adhésines (Boden et Flock, 1989).

La coagulase est une protéine de 60kDa qui se lie avec la prothrombine sur un site de liaison situé en N-terminal. Elle forme avec la prothrombine un complexe nommé staphylothrombine. Ce complexe induit une polymérisation du fibrinogène en fibrine et ainsi la formation d'un thrombus (Kawabata *et al.*, 1985).

Le test de coagulas est utilisé en tube comme marqueur de l'identification de *S. aureus* en routine dans les services de biologie. Ce test consiste à mélanger la souche à tester (0,5 ml)

et le plasma de lapin (0,5 ml). L'incubation est effectuée à 37°C, pendant 4h puis 24h. le résultat est considéré comme positif (coagulase positive) après apparition d'un caillot (Figure 3) (Verdier *et al.*, 2012). Les chercheurs ont admis que la virulence n'était pas forcément liée a la coagulase, la coagulase permet aux *S. aureus* de résister aux anticorps et à la phagocytose par les leucocytes lorsqu'ils sont localisés dans un caillot (Baddour *et al.*, 1994).



Figure 3. Révélation des souches *S. aureus* à coagulase positif (Robert, 2013).

b. La DNase thermostable

La DNase thermostable est le produit du gène *nuc*. Elle est aussi nommée la thermonucléase, c'est une endonucléase capable de couper les acides désoxyribonucléiques (ADN) en nucléotides ou polynucléotides. La thermonucléase est caractéristique des souches de *S. aureus*, elle n'est pas détruite à par les températures élevées (15 minutes à 100°C). La recherche de cette enzyme se fait sur un milieu ADN-bleu de toluidine, les souches de *S. aureus* qui détiennent une DNase thermostable forment une zone de couleur rose supérieure à 1 mm (Figure 4) (Delarras, 2007).



Figure 4. Mise en évidence des souches de *S. aureus* à DNase thermostable positive (Robert, 2013).

c. La catalase

Comme tous les staphylocoques, le *S. aureus* possède une catalase positive. Cette activité enzymatique permet la dégradation du peroxyde d'oxygène. Pour réaliser ce test, il suffit de prélever quelques colonies de bactéries et de les mettre en présence de peroxyde d'oxygène. La présence de bulles de dioxygène confirme l'activité enzymatique de la bactérie (Figure 5). La catalase est très utile en pratique pour différencier les bactéries à Gram + (Verdier *et al.*, 2012).



Figure 5. *S. aureus* à catalase positive (Robert, 2013).

d. La fermentation du mannitol

L'espèce *S. aureus* est capable de fermenter le mannitol. La fermentation du mannitol est détectée par un changement de couleur du milieu de culture. Par exemple, pour le milieu Mannitol Salt Agar®, un virage de couleur du rouge vers la couleur jaune indique une

fermentation du mannitol (Figure 6). Ce changement de couleur se produit grâce à un indicateur coloré. Dans ce milieu, l'indicateur est le rouge de phénol (Robert, 2013).



Figure 6. Fermentation du mannitol par des souches de *S. aureus* sur gélose Chapman (Robert, 2013).

3.3. Facteurs de virulence et physiopathologie

La pathogénicité de *S. aureus* est liée à la synthèse des virulences, ils sont ordonnés en trois classes. Ces trois classes sont les composants de la paroi, les protéines de la surface et les protéines sécrétées par la bactérie. La diversité de ces facteurs de virulence est due à la très grande plasticité génomique de la bactérie grâce aux plasmides, aux transposons et aux bactériophages. En effet, ces facteurs sont soit directement codés par un chromosome ou codés par des éléments génétiques mobiles (transposons, plasmides) (Jarraud *et al.*, 2000).

Il faut aussi préciser que l'expression de la majorité de ces facteurs de virulence est régulée par de nombreux systèmes dont le plus général est appelé "Accessory Gene regulator (*Agr*)" (Yarwood, Schlievert, 2003).

Le système *Agr* met en jeu un mécanisme de déclenchement par un seuil « quorum sensing »: il code pour un peptide (peptide auto-inducteur) qui est sécrété dans l'espace extracellulaire et son accumulation agit comme un signal sur la densité cellulaire conduisant à l'activation du système *Agr* (Yarwood, Schlievert, 2003).

Le système *Agr* possède un polymorphisme génétique avec quatre groupes alléliques identifiés (Jarraud *et al.*, 2000). Ce polymorphisme pourrait expliquer la diversité des infections entraînées par *S. aureus*. Par exemple, le système *agr* type IV est retrouvé dans les souches productrices d'exfoliatines alors que les souches produisant TSST-1 ont un système *Agr* de type III (Jarraud *et al.*, 2002).

3.3.1. Les composants de la paroi et la capsule

a. Le peptidoglycane

Le peptidoglycane est un composant de la paroi bactérienne, il contient plusieurs protéines de liaison qui vont permettre l'adhésion des cellules aux surfaces infectées. Les protéines de surfaces associées au peptidoglycane sont regroupées sous le nom de MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) (Kayser *et al.*, 2005).

b. La capsule

La majorité des isolats cliniques de *S. aureus* exprime des capsules, cependant la bactérie perd sa capsule après culture. La capsule est un facteur de virulence car elle empêche l'action des neutrophiles lors du phénomène d'opsonisation. La capsule est formée d'exo polysaccharides et rentre dans la formation des biofilms. 90 % des souches cliniques ont des polysaccharides capsulaires (Thakker *et al.*, 1998).

3.3.2. Les protéines de surfaces

L'adhésion à la surface d'une cellule cible est essentielle pour la bactérie, c'est la première étape d'une infection. Les protéines de surfaces peuvent intervenir dans l'adhésion, la colonisation, la diffusion et l'invasion (Kayser *et al.*, 2005).

a. Les MSCRAMM

Les MSCRAMM sont des facteurs d'adhésion et elles sont fixées au peptidoglycane de la paroi bactérienne. La liaison entre ces protéines et le peptidoglycane se fait de façon covalente. Ils existent plusieurs types de MSCRAMM (Figure 7) (Foster et Hook, 1998).

Selon la figure 7, la séquence consensus LPXTG (leucine-proline- acide aminé X-thréonine- glycine) se trouve en C-terminal, Elle est entourée de régions hydrophobes nommées W et M. La région d'ancrage dans la membrane cytoplasmique de la bactérie se

fait par la région M car elle est riche en acides aminés chargés positivement. En position N-terminale, le peptide signal (S) a la capacité de hisser la protéine synthétisée au niveau de la membrane plasmique.

La figure 7 permet de voir les points communs structuraux entre les MSCRAMM. Le FnBPA (fibrinogen binding protein A) ou la protéine de liaison à la fibronectine, le Cna (collagen binding protein) ou la protéine de liaison au collagène, et le ClfA (clumping factor A) ou la protéine de liaison au fibrinogène (Foster et Höök, 1998).

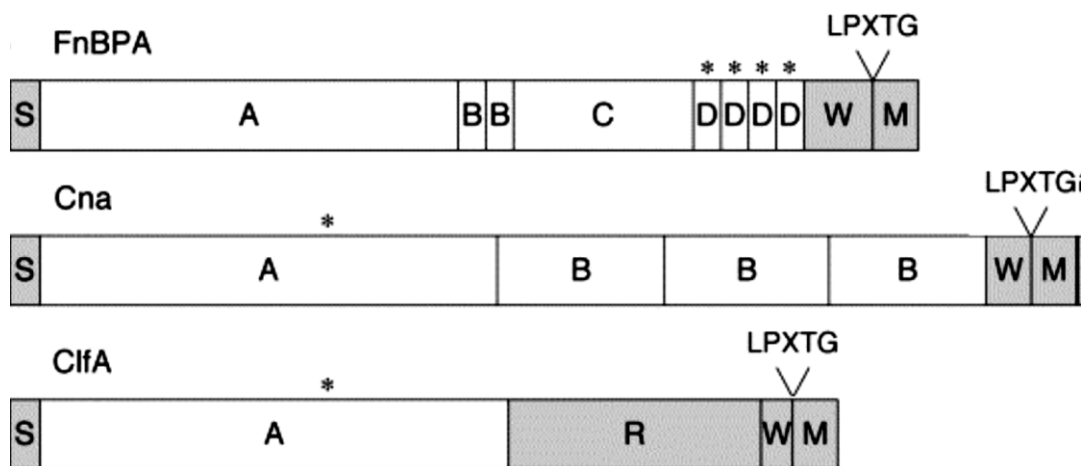


Figure 7. Structure des MSCRAMM chez *S aureus*(Foster et Höök, 1998)

L'ancrage des adhésines à la paroi de la bactérie se fait par un mécanisme de transpeptidation (Figure 8) (Mazmanian *et al.*, 1999). L'enzyme sortase s'attaque au motif LPXTG et coupe les protéines entre la thréonine et la glycine, puis catalyse la formation de la liaison amide entre le groupe carboxyl de la thréonine et le groupe aminé des molécules de peptidoglycane de la paroi, cela permet la maturation des adhésines.

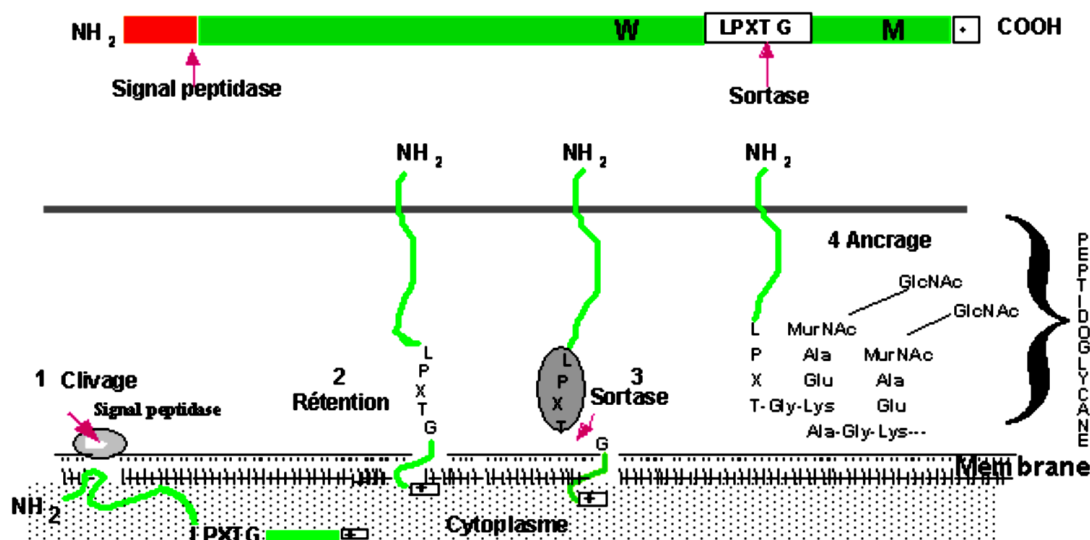


Figure 8. Phénomène de transpeptidation de l'adhésine chez les *S. aureus* (Bisognano, 2001)

a.1 La protéine de liaison à la fibronectine ou FnBP

Les protéines de liaison à la fibronectine les plus connues sont FnBPA et FnBPB. Il faut préciser que la fibronectine est une glycoprotéine qui se trouve dans la matrice extracellulaire (sous forme insoluble) et dans le plasma (sous forme soluble). FnBPA et FnBPB contribuent à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques et aux biomatériaux comme les cathéters durant leur contact prolongé avec le sang (Menziez, 2003). Elles jouent un rôle important dans l'initialisation des infections sur les corps étrangers (Eveillard, 2007).

a.2 La protéine de liaison au collagène

La plus étudiée est la protéine de liaison au collagène *Cna*. Elle permet l'attachement au collagène lors d'infection articulaire ou osseuse. La liaison au collagène est un facteur de virulence important (Eveillard, 2007).

a.3 La protéine de liaison au fibrinogène ou Clf (clumping factor)

Les protéines de liaison au fibrinogène les plus décrites sont le ClfA et ClfB. Le fibrinogène est une glycoprotéine présente dans la matrice extracellulaire (insoluble) et dans le plasma (soluble). Les protéines de liaison au fibrinogène ont un rôle et un pouvoir de virulence dans les infections des plaies et des corps étrangers. Elles sont la cause de l'agrégation des bactéries en présence de plasma (Hassen *et al.*, 2006).

b. Les SERAM

Les SERAM sont les nouvelles adhésines (Boden et Flock, 1989). Le terme regroupe plusieurs protéines comme Eap (extra cellular adherence protein), Efb (extra cellular fibrinogen binding protein), Emp (extra cellular matrix binding protein) ainsi que la coagulase. Des chercheurs ont constaté que ces protéines peuvent établir des liaisons non covalentes, de type hydrophobe, avec des protéines de la matrice extracellulaire. Les SERAM peuvent se fixer au fibrinogène, à la fibronectine, à la prothrombine, au collagène, à la laminine, aux sialoprotéines, à l'élastine et à la vitronectine (Chavakis *et al.*, 2005). Elles sont aussi décrites comme ayant des propriétés immunomodulatrices et impliquées dans la pathogenèse des maladies endo et extravasculaires aiguës ou chroniques (Chavakis *et al.*, 2005).

b.1 La protéine Eap

La protéine *Eap* possède la capacité de se fixer aux produits de dégradation de la matrice extracellulaire. Ainsi, *S. aureus* s'attaque aux tissus lésés et il masque les récepteurs des leucocytes pour limiter leur infiltration. En résumé, *Eap* inhibe la réaction inflammatoire qu'elle a elle-même provoque (Chavakis *et al.*, 2002 ; Hassen *et al.*, 2006).

b.2 La protéine Efb

Des chercheurs considèrent que la protéine *Efb* interagit avec le fragment C3 du complément, cette interaction contrecarre l'activation du complément et l'opsonisation (Lee *et al.*, 2004). De plus, elle se lie aux plaquettes via le fibrinogène ou via les récepteurs GPIIb/IIIa et inhibe ainsi l'agrégation plaquettaire (Shannon et Flock, 2004).

c. La protéine A ou Spa (Surfactant protein A)

Spa est une exo-protéine de 42kDa, elle possède la particularité d'être à la fois sous forme sécrétée ou associée à la paroi. Comme les MSCRAMM, elle est ancrée dans la paroi de la bactérie par le motif LPXTG du côté C-terminal. La protéine A est le produit codé par le gène *spa*. Elle est considérée comme une des protéines de surface majeure chez *S. aureus*. Elle possède de nombreux rôles dans les interactions avec l'hôte cible lors d'une infection. Ses nombreuses fonctions sont liées à la structure de la protéine A qui est constituée de cinq domaines homologues extracellulaires désignés E, D, A, B et C (Ruppitsch *et al.*, 2006). En effet, c'est à partir de ces 5 domaines que Spa se joint à différentes cibles comme par

exemple à la fraction Fc des immunoglobulines G (IgG) et/ou à la fraction Fab des immunoglobulines M (IgM). Elle inhibe l'opsonophagocytose. Elle est aussi capable d'activer le complément et/ou se fixer sur les facteurs de von Willebrand (glycoprotéine du plasma intervenant dans l'adhésion des plaquettes avec l'endothélium vasculaire) provoquant des endocardites infectieuses. D'autre part, elle peut aussi stimuler les lymphocytes B, cette activation entraîne selon la concentration de Spaune anergie ou une apoptose des lymphocytes B (Silverman et Goodyear, 2003).

3.3.3. Les protéines sécrétées ou toxines

S. aureus produit des toxines, des protéines et des enzymes qui ont différentes cibles. En effet, certaines toxines ont plus un tropisme membranaire, d'autres une activité superantigénique ou un rôle d'extension du foyer infectieux (Bisognano, 2000).

a. La staphylokinase

La staphylokinase induit l'extension car elle permet, indirectement, aux bactéries de s'essaimer dans l'organisme en formant des localisations secondaires. Cette enzyme actionne le mécanisme de transformation du plasminogène en plasmine et provoque la dissolution du thrombus contenant les *S. aureus* et par conséquent leur dissémination.

D'autres activités ont été recensées comme la neutralisation des IgG et du fragment C3b du complément évitant ainsi la phagocytose (Foster, 2005) ou comme la fixation aux peptides bactéricides (α -defensines) des neutrophiles pour empêcher leurs propriétés défensives (Bokarewa *et al.*, 2006).

b. La FAME (fatty acid modifying enzyme)

Cet enzyme fonctionne en collaboration avec une lipase. Elle aide la bactérie à infiltrer dans l'organisme cible à travers les différentes barrières lipidiques. 80 % des souches de *S. aureus* expriment cette enzyme (Shannon et Flock, 2004).

c. Les sérines protéases

Les sérines protéases sécrétées par *S. aureus* ont comme propriété de contrôler l'adhésion de la bactérie. Il en existe quatre types à savoir : la sérine protéase (SspA ou protéase V8), la cystéine protéase 1 (SspB ou staphopain B), la cystéine protéase 2 (ScpA) et la métalloprotéase (auréolysine ou Aur). Elles ont en commun la même cascade enzymatique (elles s'activent entre elles) (Shannon et Flock, 2004).

d. Le groupe des hémolysines

Les hémolysines sont des toxines à tropisme membranaire, elles participent dans la formation de pores dans les membranes et conduisent à la fuite électrolytique. Ils en existent quatre groupes distincts : l'hémolysine α , l'hémolysine β , l'hémolysine δ et les toxines synergohyménotropes (Shannon et Flock, 2004).

d.1 L'hémolysine α ou toxine α

S. aureus excrète l'hémolysine α (gène *hla*) sous forme de monomère. Sept de ces monomères s'amalgament en un heptamère lytique dans la membrane des globules rouges, des plaquettes, des fibroblastes, des lymphocytes, etc. Les cellules cibles se retrouvent donc criblées de pores et l'imperméabilité de la membrane n'est plus assurée (Dinges *et al.*, 2000).

d.2 L'hémolysine β

Elle est impliquée dans l'altération des membranes riche en sphingomyéline car elle a une activité sphingomyélinase. Elle est codée par le gène *hlb* (Dinges *et al.*, 2000).

d.3 L'hémolysine δ

Statistiquement, 97 % des souches de *S. aureus* sécrètent ce peptide (gène *hlg*) composé de 26 acides aminés. Son rôle est lié directement à sa structure en hélice contenant des domaines hydrophobes. Ainsi, elle est à l'origine de la formation de pores hydrophobes de forme cylindrique dans la membrane (Dinges *et al.*, 2000).

d.4 Les toxines synergohyménotropes (la Leucocidine de Panton Valentine)

La Leucocidine de Panton Valentine (LPV) est la toxine la plus connue et la plus importante, 2 à 3 % de souches de *S. aureus* ont la capacité d'exprimer cette toxine. La LPV est composée de deux protéines qui se différencient par leur rapidité d'éluion en chromatographie : le composant de classe S pour « slow » (LukS-PV) et le composant de classe F pour « fast » (LukF-PV). Ces deux composés sont non associés mais agissent de façon concomitante (Amagei *et al.*, 2000).

Le mécanisme d'action de la LPV est aujourd'hui connu, LukS-PV et LukF-PV agissent en synergie. La composante LukS-PV (hydrophile) va être reconnue par les récepteurs de la membrane cellulaire puis la composante LukF-PV va s'oligomériser en

octomère au contact de LukS-PV. Ces assemblages forment un complexe moléculaire s'intégrant dans la double couche phospholipidique des cellules cibles et créent un pore. Ce pore conduit à des fuites d'ions, des relargages de cytokines et enfin, la mort de la cellule (Eveillard, 2007).

La LPV est très impliquée en pathologie. La destruction des phagocytes, des polynucléaires neutrophiles et des monocytes entraîne une aggravation et une extension des lésions. Elle est incriminée dans les lésions dermonécrotiques sévères car c'est un facteur de virulence important. Les principales pathologies causées par la LPV sont les infections cutanéomuqueuses (furoncle à répétition et les pneumopathies nécrosantes hémorragiques) (Amageiet al., 2000).

e. Les exfoliatines

Il existe quatre exfoliatines (ET) chez le *S. aureus*, elles provoquent le syndrome d'exfoliation généralisé (ou syndrome de la peau ébouillantée) ainsi que l'impétigo bulleux staphylococcique. ETA (gène *eta*), ETB (gène *etb*) et plus rarement ETD (gène *etd*) sont les exfoliatines les plus rencontrées lors d'une infection à *S. aureus*. Les données scientifiques sur les exfoliatines sont encore limitées mais il est rapporté qu'elles agissent en intra-épidermique en coupant la desmogléine entre la couche épineuse (*Stratum spinosum*) et la couche granuleuse (*stratum granulosum*) de la peau, elles entraînent des lésions bulbeuses (Amageiet al., 2000).

f. Les entérotoxines

Les entérotoxines ou Staphylococcal enterotoxin (SE) sont décrites pour certaines souches de *S. aureus* mais aussi de *Streptococcus pyogenes*. Actuellement, une vingtaine d'entérotoxines ont été découvertes. Ce sont de petites protéines impliquées dans les TIAC. (Alomar, 2007).

g. La toxine du choc staphylococcique (TSST1)

Cette toxine est rencontrée dans les toxémies staphylococciques et plus particulièrement lors d'un choc toxique staphylococcique caractérisé par une hypotension, une hypo-albuminémie, une fièvre, un œdème important et des dysfonctionnements organiques multiples (Alomar, 2007).

h. L'ACME (arginine catabolic mobile element)

L'ACME est un nouveau facteur de virulence rencontré dans les souches USA300 de *S. aureus* (souche de SARM d'origine communautaire, largement répandue aux États-Unis). ACME permet à la bactérie de survivre, de croître et de disséminer plus rapidement. Il reste encore beaucoup de recherche à faire sur L'ACME et sa virulence est encore à préciser (Diep *et al.*, 2008).

Le système régulateur est essentiel pour la survie de la bactérie, elle permet de changer de stratégie d'infection selon la densité bactérienne. En faible densité bactérienne, le système de régulation est mis au repos, induisant l'expression des facteurs de virulence impliqués dans l'adhésion. Lors de la phase exponentielle de croissance, la population staphylococcique va dépasser un seuil de population bactérienne et le système de régulation va s'enclencher. Cette activation est suivie par une inhibition de la production d'adhésines et d'exo-protéines ainsi qu'une stimulation de l'expression des facteurs d'invasion et de dissémination (hémolysines, entérotoxines, lipases, etc.) (Ferry *et al.*, 2005).

Le système de régulation le plus connu est le système *agr* mais on en dénombre seize en 2004 (Cheung *et al.*, 2004). Il faut préciser que ce sont des systèmes à deux composants qui sont des systèmes enzymatiques capables de traduire les signaux extracellulaires et d'agir en conséquence directement sur la transcription des gènes (Figure 9).

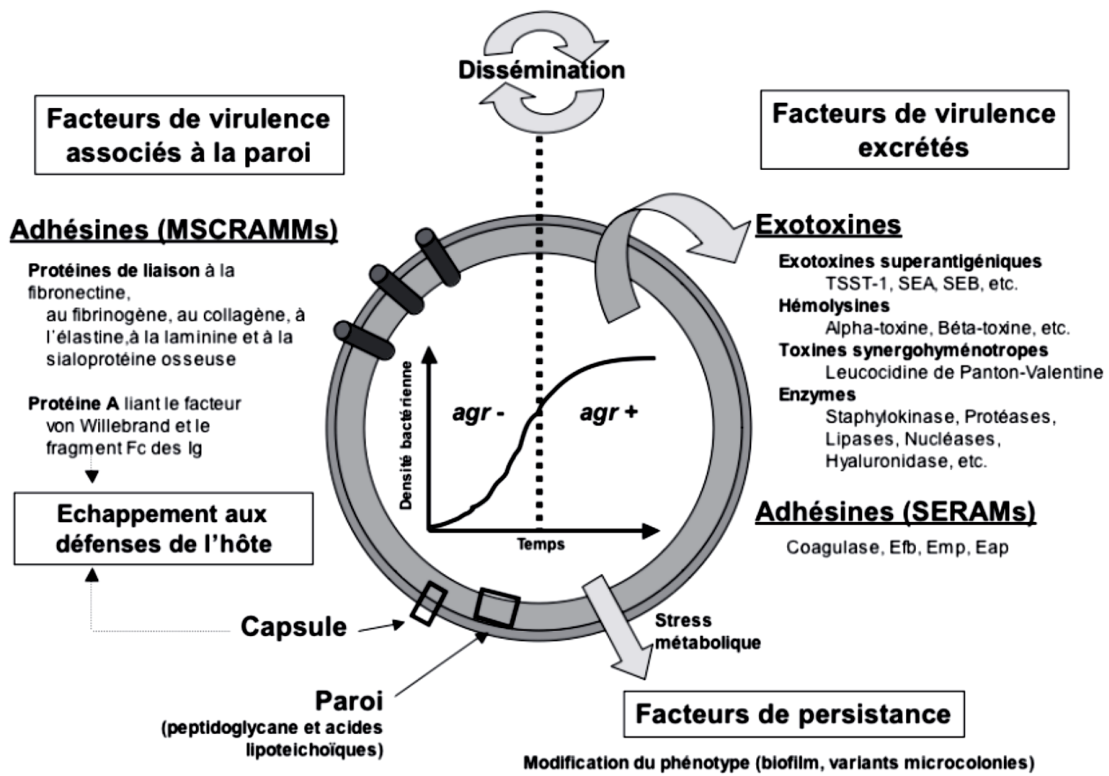


Figure 9. Expression des facteurs de virulence chez *S. aureus* (Ferry *et al.*, 2005).

4. Résistance aux antibiotiques

1. Définition de l'antibiotique

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement, capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe). L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit des types de bactéries différentes, plus son spectre est large. Les antibiotiques sont caractérisés par : l'activité antibactérienne (spectre d'activité), la toxicité sélective (mode d'action), l'activité en milieu organique et la bonne absorption et diffusion dans l'organisme (Mehdi, 2008)

2. Mode d'action des antibiotiques

À la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques s'agissent en général de façon très spécifique pour certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés (Figure 10)

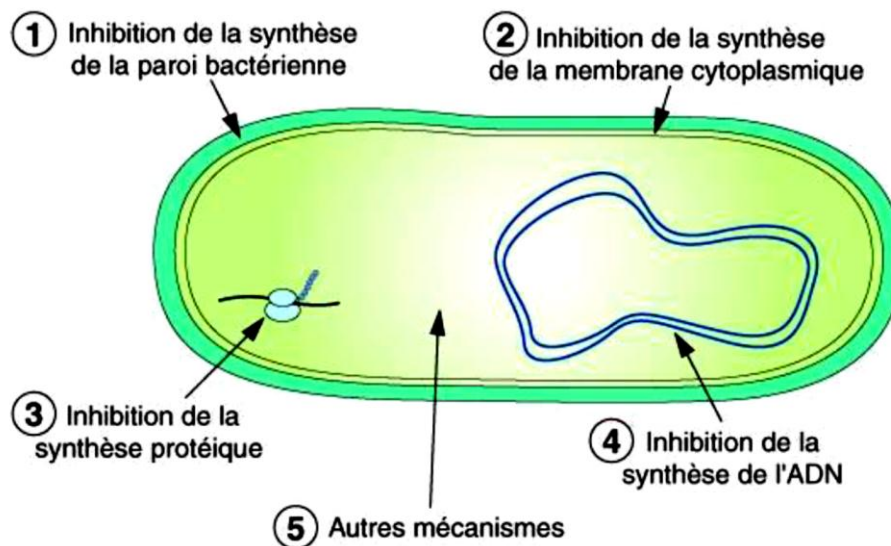


Figure 10. Schéma représentant les différentes cibles d'action d'un antibiotique sur la cellule bactérienne (Sekhri, 2011).

2.1. La Résistance

Une bactérie est dite résistante à un antibiotique, lorsque le taux nécessaire à inhiber sa croissance *in vitro* est supérieur aux taux qui peuvent être couramment atteints *in vivo*. On parle alors de résistance bactérienne quand un microorganisme s'adapte au milieu et réussit à modifier son métabolisme pour continuer à se développer en présence de l'antibiotique qui devrait le détruire (Guillot, 1989).

2.1.1. L'Antibiorésistance

Est un phénomène qui ne connaît pas de frontière, c'est également un phénomène qui concerne à la fois la santé humaine, la santé animale et les écosystèmes. La lutte contre l'antibiorésistance nécessite donc une action globale "une seule santé et une Seule planète", c'est-à-dire une approche intégrée dans la santé qui mette l'accent sur les interactions entre les animaux et les humains et leurs environnements, elle encourage les collaborations, les synergies et l'enrichissement croisé de tous les secteurs et acteurs, dont les activités peuvent avoir un impact sur la santé. Cette approche associée "one Health", est préconisée par l'OMS depuis 2015 (WHO, 2015), et soutenue depuis septembre 2016 par le groupe des vingt (G20), l'assemblée générale de L'Organisation des Nations Unies (ONU) et l'Union Européenne (UN).

a. Types de résistance

La progression de la résistance bactérienne aux antibiotiques cause des infections difficiles à traiter et pose un problème de santé publique. Les bactéries résistantes sont souvent la cause des infections nosocomiales, elles aggravent le pronostic des malades, prolongent l'hospitalisation et augmentent les coûts de traitement (Veyssier *et al.*, 1998). Deux types de résistance bactérienne sont distingués à savoir, la résistance naturelle et celle acquise.

– Résistance Naturelle

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe (Yala *et al.*, 2001).

– Résistance Acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène est obtenu soit par mutation au niveau du chromosome soit par transfert d'ADN plasmidique conjugatifs ou encore des transposons (Yala *et al.*, 2001).

2.1.2. Support génétique de l'antibiorésistance

a. Les Transposons

Ce sont des fragments d'ADN "sauteurs" qui peuvent s'intégrer soit dans le chromosome soit dans des plasmides, en allant de l'un à l'autre (Yala *et al.*, 2001).

b. Les plasmides

L'information génétique est portée par des plasmides, transférables à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation (Yala *et al.*, 2001).

Sur le plan biochimique, 4 grands mécanismes d'action sont mis en jeu lors de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques (Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001) :

- Stratégie dite « offensive » par inactivation enzymatique de l'antibiotique ;
- Stratégie dite « d'évitement » par modification de la molécule cible de l'antibiotique ;
- Stratégie dite « de contournement » par shunt des voies métaboliques classiques ;
- Stratégie dite « d'expulsion » par diminution de la perméabilité de l'antibiotique et par accélération du mécanisme d'efflux.

Les divers mécanismes de résistance des bactéries en vers les antibiotiques sont présentés dans la figure 11.

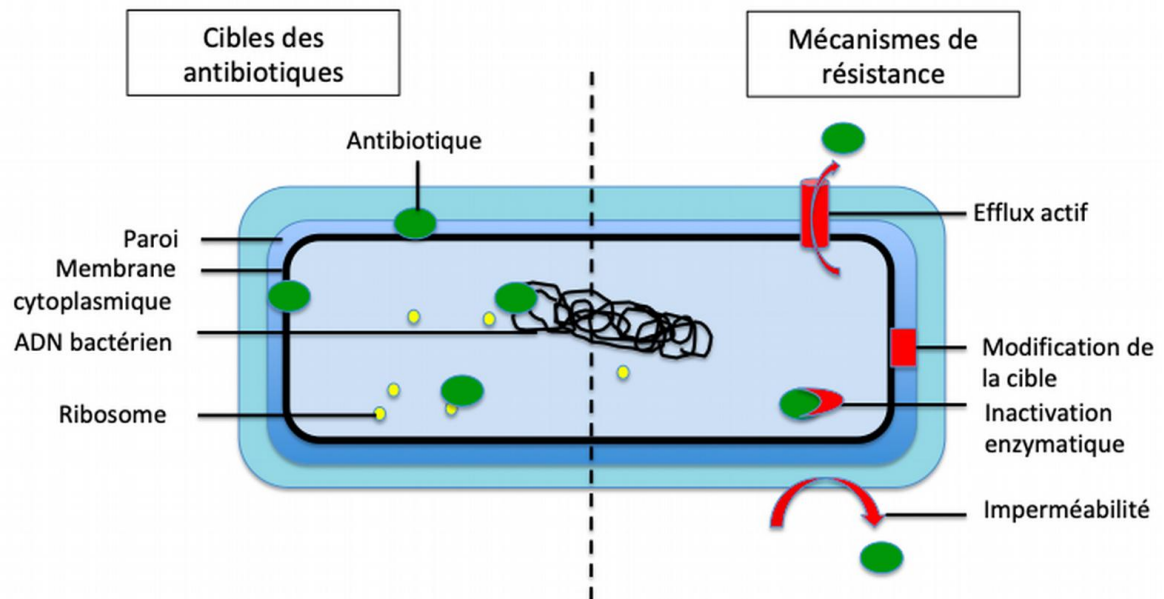


Figure 11. Cibles bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques (<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques.>)

CHAPITRE II

Matériel et méthodes

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

1. Rappel des objectifs

Le premier objectif de cette étude consiste à isoler des souches de *S. aureus* à partir de divers prélèvements biologiques : urines, pus, sang, et liquide céphalo-rachidien (LCR).

Le second objectif se concentre sur l'évaluation de la résistance des souches isolées vis-à-vis quatorze (14) antibiotiques.

2. Lieu d'étude

Cette étude est réalisée au sein du laboratoire de bactériologie situé dans l'hôpital de Ghardaïa (TERICHIN Brahim). Les expériences sont accomplies après 4 mois d'étude (Février à Mai 2022). Les prélèvements à analyser proviennent des différents services hospitaliers (médecine hommes, médecine femmes, médecine interne et pédiatrie).

Le protocole expérimental est présenté dans la figure 12.

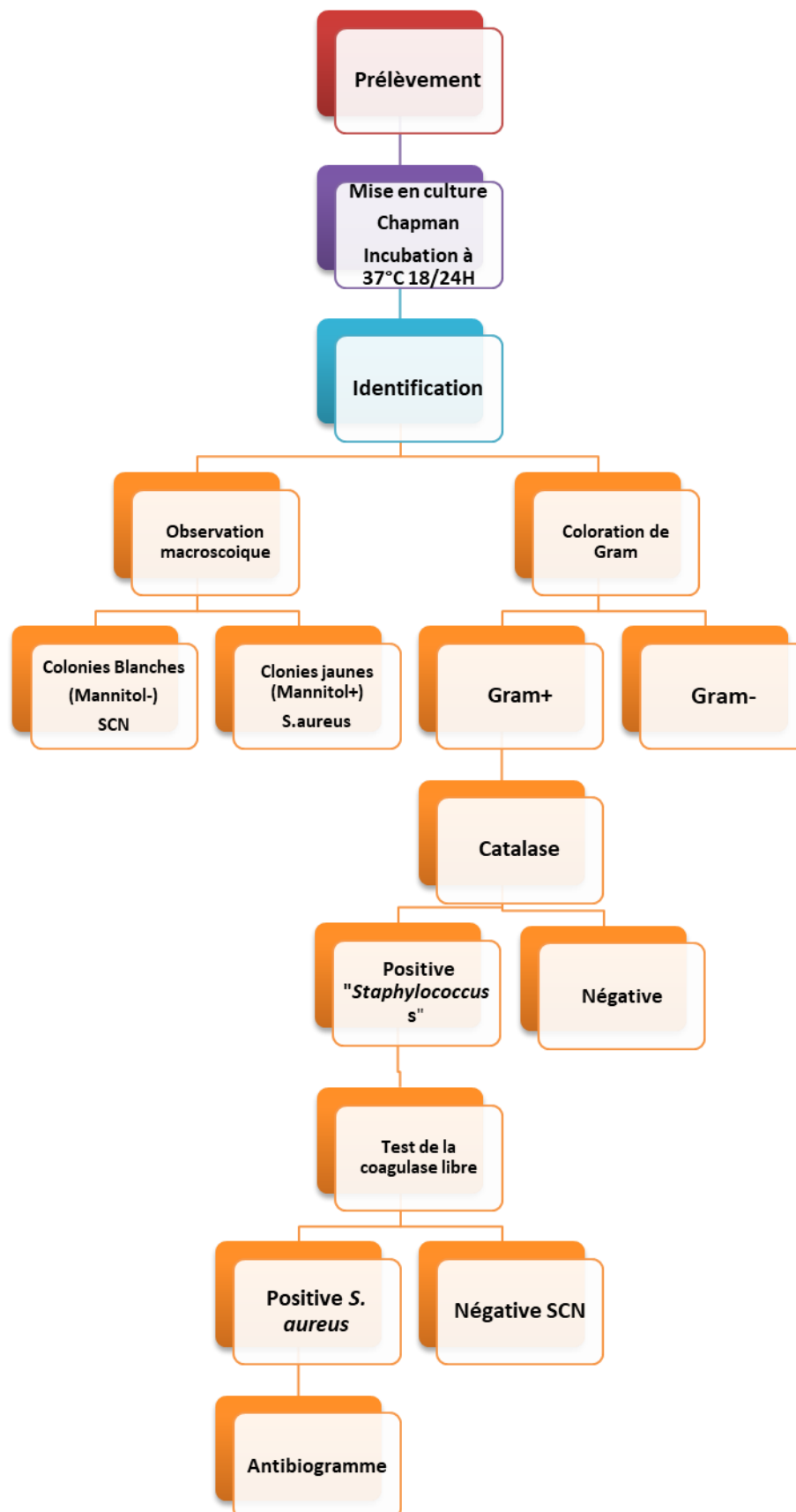


Figure 12. Protocole suivi durant isolement et d'identification des souches de *S. aureus*.

3. Matériel biologique

Les prélèvements à analyser sont prélevés aseptiquement par un personnel spécialisé. Ils proviennent de cinq différents services hospitaliers, à savoir la médecine femmes, la médecine hommes, la médecine interne, la pédiatrie et les urgences

4. Recherche de *Staphylococcus aureus*

4.1. Isolement

L'isolement des staphylocoques est réalisé sur gélose Chapman par écouvillonnage suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 et 48 heures (Marchal et Bourdon, 1973).

4.2. Purification des souches isolées

Les colonies bactériennes présentant un aspect caractéristique de celui des staphylocoques sont réensemencées à l'aide d'une pipette Pasteur sur milieu Chapman gélosé, l'ensemencement se fait par stries selon la méthode des quatre cadrant à fin d'obtenir des colonies bien isolées. Une coloration de Gram est refaite chaque fois pour contrôler la pureté des souches.

La conservation des isolats est réalisée dans des tubes de gélose nutritive (GN) de conservation par pique centrale. Les tubes sont tout d'abord incubés à 37 °C pendant 48 heures puis conservés au réfrigérateur à 4°C.

4.3. Aspect microscopique (Coloration de Gram) (annexes).

Les *S.aureus* apparaissent sous microscope sous forme de cocci Gram positives, groupés en grappes de raisin

4.4. Identification biochimique

Après avoir effectué les observations macroscopiques des colonies et celles microscopiques obtenu après coloration de Gram, l'identification biochimique est effectuée sur la base de quelques tests biochimiques (Guiraud,1998 ; Freney *et al.*,2007) .

4.4.1. Identification du genre

a. Test de la catalase

Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques. À partir d'une colonie pure, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur puis déposé sur une lame, la réaction positive est obtenue après l'ajout d'une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (10 volumes)

La réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène). Ce test peut être réalisé en tube contenant 0.5 ml de H₂O₂; sur lequel des colonies bactériennes sont introduites. Le résultat est identique à celui obtenu lors du test sur lame (Denis *et al.*, 2007).

b. Test d'oxydase

Phénylène diamine oxydase communément appelée oxydase, est une enzyme permettant d'oxyder les dérivés méthylés du paraphénylène diamine (famille des cytochromes). Le N diméthylparaphénylène diamine prend une coloration rose une fois oxydé. Le teste consiste à prélever une colonie pure puis l'écraser sur un disque d'oxydase. L'apparition d'une coloration rose sur le disque atteste la présence de l'enzyme recherchée (Larpent *et al.*, 1997).

c. Test coagulase

Afin de faire la différence entre *S. aureus* et les *Staphylococcus coagulase négative* SCN. La technique adoptée est celle décrite par Forbes *et al.* (2007) :

- Verser 0,5 ml de suspension bactérienne (eau physiologique avec quelques colonies bactériennes l'ensemble est homogénéisé) dans un tube à hémolyse, ensuite verser 0.5ml de plasma (sérum) de lapin.
- Homogénéiser et incuber à 37°C.

Lecture : Faite au bout d'1 h à 2h voir 24h. La réaction est considérée comme positive, lorsque le plasma est coagulé et que le tube peut être retourné sans se renverser donc la bactérie est *S. aureus* ; en revanche si réaction négative la bactérie est SCN.

4.5. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique par diffusion de l'antibiotique contenu dans les disques placés sur le milieu gélosé (NCCLS, 2000).

4.5.1. Antibiogramme

La suspension bactérienne prélevée doit subir une homogénéisation puis un ajustement jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0,5 McFarlan. L'ajustement s'opère en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau physiologique stérile.

Le milieu Mueller-Hinton gélosé (MH) (Annexe I) est coulé sur les boîtes de Pétri (90 mm), l'épaisseur ne doit pas être moins de 4 mm. L'ensemencement de l'inoculum doit se faire dans les 15 mn qui suivent sa préparation.

L'ensemencement se fait par écouvillonnage après avoir trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée du milieu Mueller-Hinton.

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

4.5.2. Antibiotiques testés

La sensibilité des différents isolats est déterminée vis-à-vis des quinze antibiotiques (tableau 2)

Tableau 2. Caractéristiques des différents antibiotiques testés

Antibiotique testé	Charge de disque (mg)
Chlorophénicol C	30
Acide fusidique FA	10
Péniciline P	10
Tétracycline TE	30
Vancomycine VA	30
Amikacine AK	30
Gentamicine CN	10
Céfoxitine FOX	30
Clindomycine CD	2
Cyprofloxacine CIP	5
Teicoplanine TEC	30
Erythromycine E	15
Kamanycline K	30
Oxacilline OX	1
Oflaxacine OF	5

CHAPITRE III

Résultats et discussion

CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Echantillonnage et répartition des prélèvements

Durant cette étude, un total de 43 prélèvements est effectué à partir des différents services de l'hôpital de Ghardaïa, les échantillons obtenus sont prélevés des deux sexes sans négligé l'âge des patients (tableau3).

Tableau 3. Répartition des prélèvements selon le service, le sexe, l'âge et le type de l'échantillon biologique

Isolat	Service	Sexe	L'âge	Echantillon biologique
200	MF	F	18ans	ECBU
202	MH	H	21ans	ECBU
213	MH	H	15ans	ECBU
214	MH	H	22ans	ECBU
215	MF	F	41ans	ECBU
216	MH	H	10ans	ECBU
217	MI	H	68ans	ECBU
218	MI	F	19ans	ECBU
219	MF	F	70ans	ECBU
220	MF	F	43ans	ECBU
221	MH	H	65ans	ECBU
222	MH	H	71ans	ECBU
223	MH	H	22ans	ECBU
224	Pédiatrie	Enf	9ans	ECBU
225	MH	H	38ans	ECBU
226	MH	H	19ans	ECBU
227	MH	H	65ans	ECBU
228	MF	F	47ans	ECBU
229	MH	H	39ans	ECBU
230	MH	H	23ans	ECBU
231	Pédiatrie	Enf	1ans	ECBU
232	MH	H	86ans	ECBU
233	MF	F	51ans	ECBU
234	MF	F	60ans	ECBU
235	MF	F	32ans	ECBU
236	MF	F	28ans	ECBU
237	MF	F	25ans	ECBU
238	MF	F	ans38	ECBU
239	MF	F	33ans	ECBU
240	MF	F	36ans	ECBU
241	MF	F	51ans	ECBU
242	urgence	F	75ans	ECBU
243	MF	F	27ans	ECBU

Tableau 3. (suite)

Isolat	Service	Sexe	Age	Echantillon biologique
244	MF	F	20ans	ECBU
245	Pédiatrie	Enf	6ans	ECBU
246	MH	H	90ans	ECBU
247	MF	F	44ans	PUS
248	MF	F	29ans	ECBU
249	MF	F	24ans	ECBU
250	MH	H	42ans	LCR
251	MF	F	27ans	ECBU
252	MF	F	45ans	ECBU
253	MF	F	60ans	ECBU

MF : médecine femmes , MH : médecine hommes, MI : médecine interne

Selon le tableau 3, 43 prélèvements sont effectués à partir des urines (ECBU), un seul un prélèvement du liquide céphalo-rachidien (LCR) et un autre de pus.

Les pourcentages des prélèvements par service sont présentés dans la figure 13

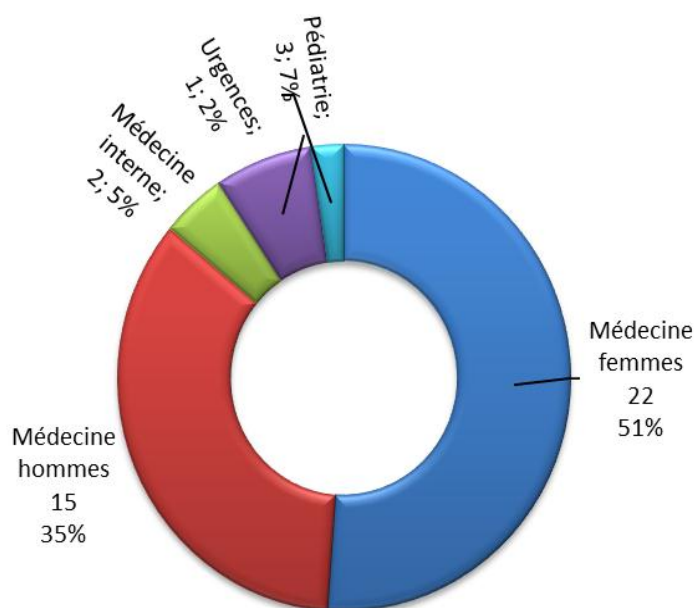


Figure 13. Répartition des prélèvements par service

Comme il est mentionné clairement dans la figure 12, plus que la moitié (51%) des prélèvements proviennent du service de médecine femmes, suivi par la médecine hommes (35%), tandis que les trois autres services à savoir : la pédiatrie, la médecine interne et les urgences participent minoritairement dans la portion des prélèvements effectués avec 3.7 %, 2.5% et 1.2%, respectivement.

Le nombre de prélèvements exécutés en fonction de tranche d'âge est présenté dans la figure 14.

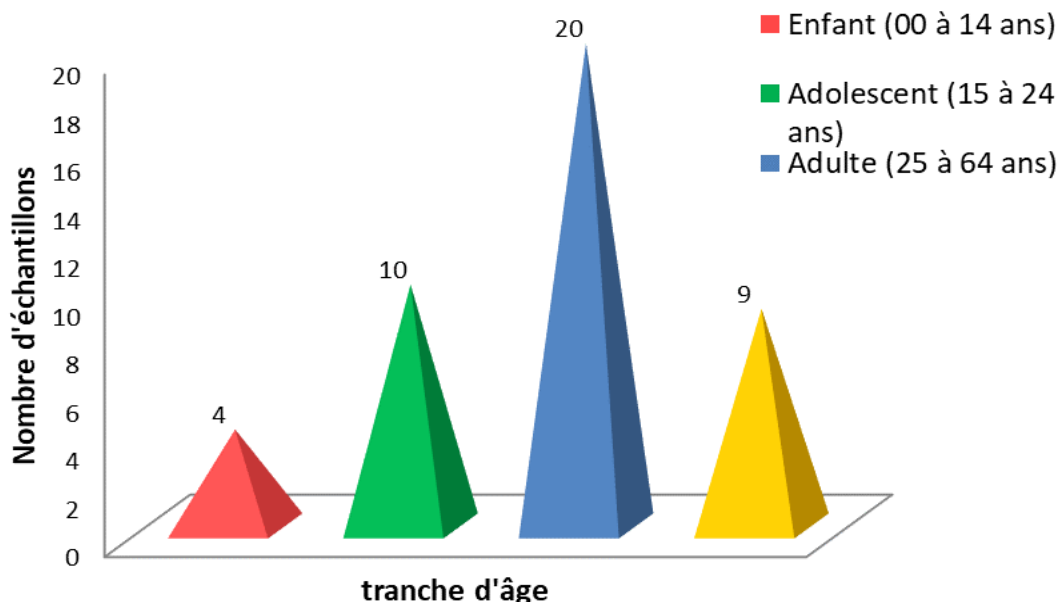


Figure 14. Nombre d'échantillons prélevés selon l'âge

Parmi les 43 prélèvements réalisés, environ la moitié (20 prélèvements) ont été pris des sujets adultes et âgés entre 25 et 64 ans, suivis par les adolescents avec 10 prélèvements. Les patients âgés (plus de 65 ans) participent avec 9 prélèvements et en dernier lieu, les enfants (moins de 14 ans) avec uniquement 4 prélèvements.

2. Isolement de *Staphylococcus aureus*

Parmi les 43 prélèvements effectués, 15 sont révélés positifs, soit un taux de 34.9 %. Nous considérons comme positifs les colonies montrant les caractéristiques de *Staphylococcus aureus* sur gélose Chapman: colonies jaunes doré, bombées, arrondies, opaques, de petite taille (1 à 2 μm de diamètre), et dégradant le mannitol (Carbonnelle et *al.*, 1990 ; Figure 15).

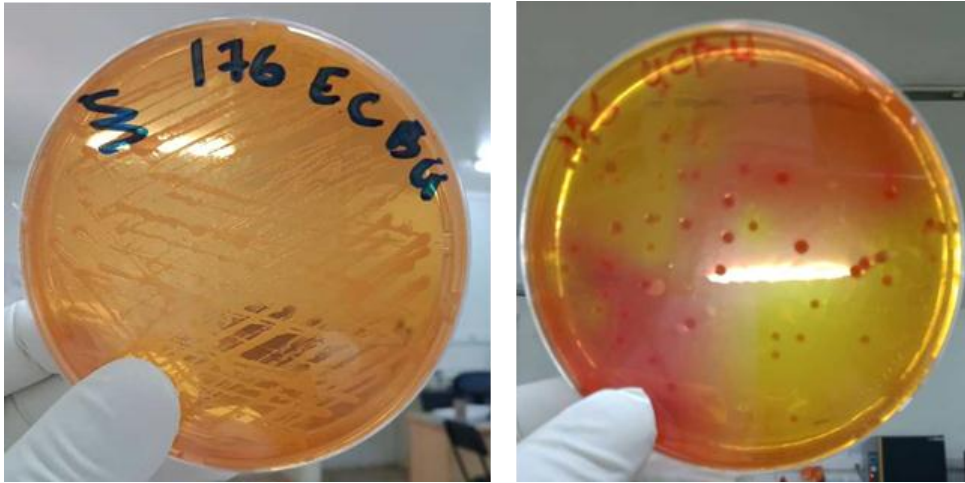


Figure 15 Aspect des colonies *S. aureus* sur la gélose Chapman.

1. Identification de *Staphylococcus aureus*

Les isolats isolés sont des cocci Gram+ regroupés en grappes de raisins ils renferment une catalase positif, une coagulase positif avec absence d'oxydase (figures 16, 17, 18, 19).

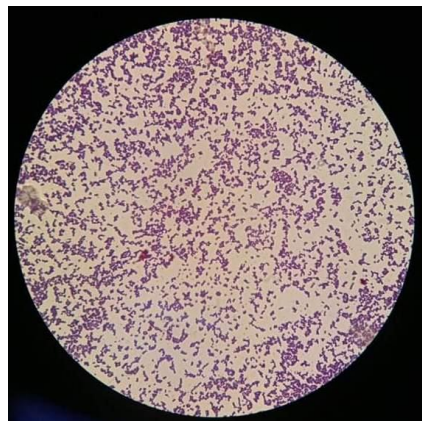


Figure 16. Observation microscopique des isolats de *S. aureus* (Objectif x100)

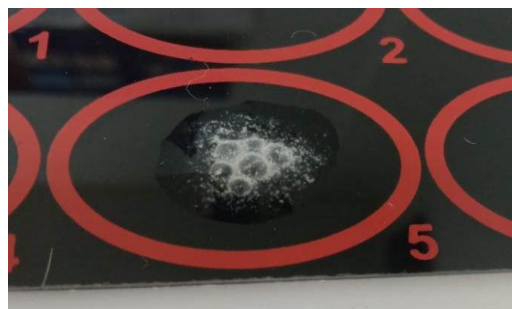


Figure 17. Test de la catalase des isolats de *S. aureus*



Figure 18. Test de l'oxydase des isolats de *S. aureus*



Figure 19. Test de la Coagulase des isolats de *S. aureus*

A partir des 43 prélèvements, 15 isolats de *S. aureus* sont identifiés soit un pourcentage de 34.9%. La répartition des isolats par service est démontré dans le tableau 4.

Tableau 4. Répartition des souches de *S. aureus* par services hospitaliers

Service	Nombre de souches	Pourcentage %
Médecine femmes	7	46.66
Médecine hommes	3	20
Médecine interne	2	13.33
Pédiatrie	1	6.66
Urgences	2	13.33

Suivant le tableau 04, enivrent la moitié des souches de *S.aureus* ont été isolés à partir du service de la médecine femmes (46.66%) suivi par le service de la médecine hommes avec 20%. Les deux services de médecine interne et les urgences ont enregistré un pourcentage d'isolement de 13.33% pour chacun. En dernier lieu, le service de pédiatrie a enregistré un taux de 6.66%

3. Révélation de la résistance des isolats vis-à-vis des antibiotiques testés

Ces essais ont été menés dans le but d'étudier la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de différents services hospitaliers vis-à-vis 15 antibiotiques de différentes familles.

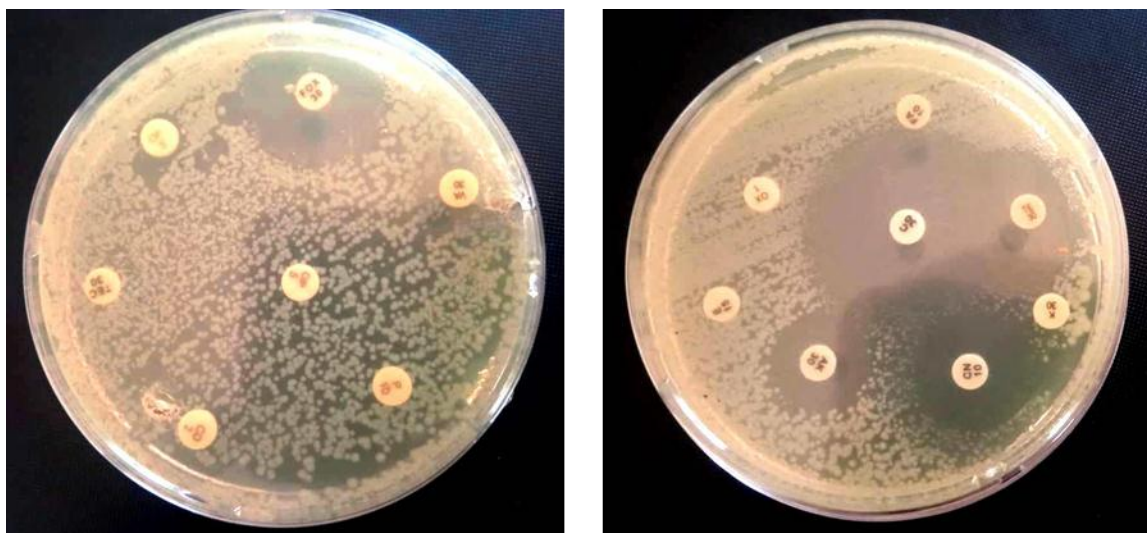


Figure 20. Révélation de la résistance des isolats vis-à-vis des antibiotiques testés.

Les résultats de la résistance et la sensibilité des souches *S.aureus* par rapport aux différents antibiotiques testés figurent dans le tableau suivant. Les résultats exprimés dans ce tableau sont représentés par des histogrammes (Tableau 5 ; Figure 21 ; Figure 22).

Tableau 5. Profils de résistance et de sensibilité des souches isolées envers les différents antibiotiques

Famille	Antibiotique	Souche											
		165	176	184	200	202	228	PP44	243	239	240	222	235
Phénicolés	Chlorophénicol C 30 mg	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	Céfoxitine FOX 30 mg	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
Béta lactamines	Penicilline P 10 mg	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	Oxacilline OX 1 mg	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acide fusidique	Acide fusidique FA 10 mg	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
Tétracyclines	Tétracycline TE 30 mg	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R
	AmikacineAK 30 mg	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S
Aminosides	Kanamycine K 30 mg	R	S	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R
	Gentamycine GN 10 mg	R	S	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S
Quinolones	Cyprofloxine CIP 30 mg	R	S	S	S	R	S	R	S	S	R	R	R
	TeicoplamineTEC 30 mg	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
Macrolides	Clindomycine CD 2 mg	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	S	S
	Erythromycine E 15 mg	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R
Fluoroquinolones	Ofloxacin OF 5 mg	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R

Le nombre total des souches sensibles ou résistantes envers chacun des antibiotiques testés est présenté dans la figure 22

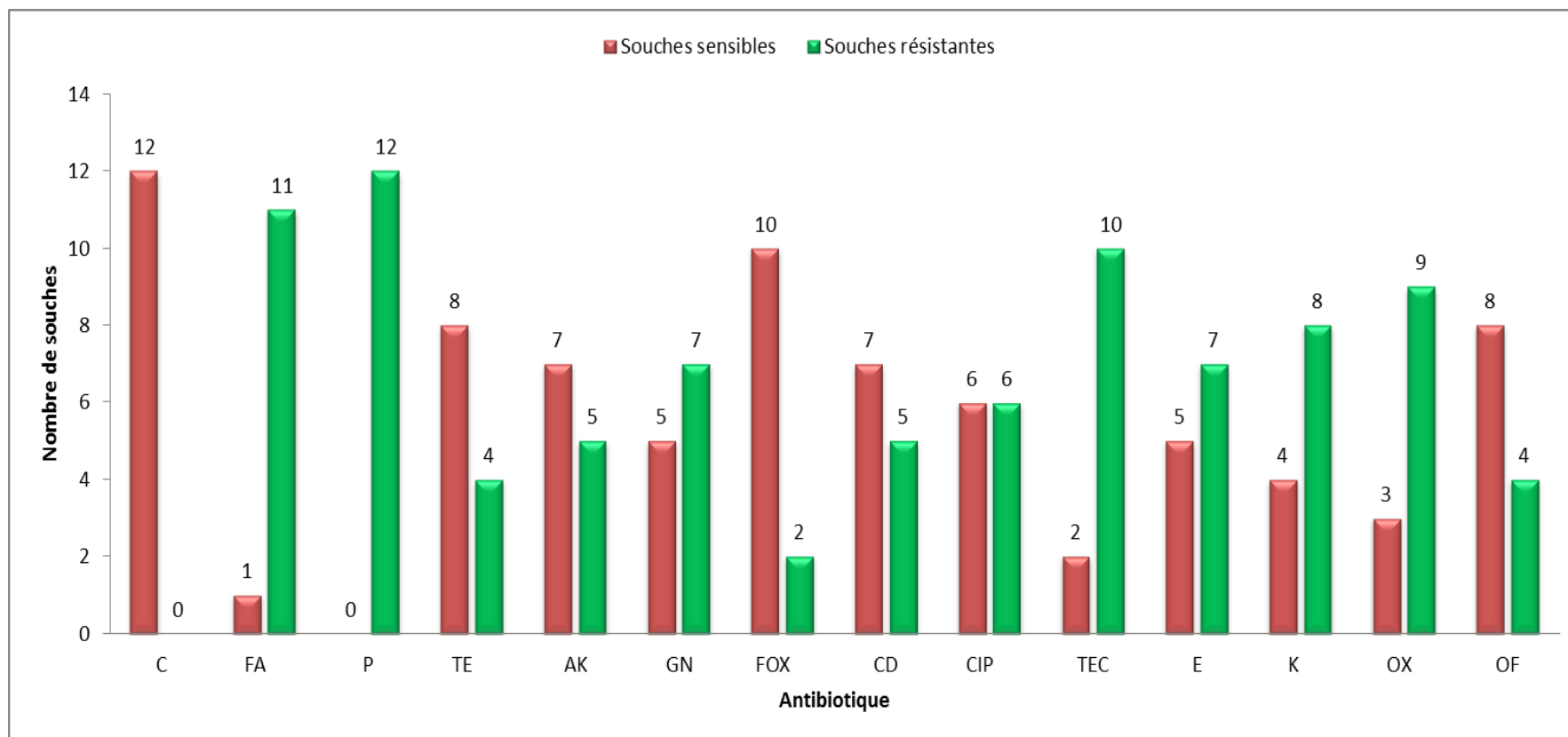


Figure 21. Nombre de souches sensibles et résistance en fonction de l'antibiotique testé.

C : Chlorophénicol ; **FA** : Acide fusidique ; **P** : Penicilline ; **TE** : Tétracycline ; **AK** : Amikacine ; **GN** : Gentamycine ; **FOX** : Céfoxitine ; **CD** : Clindomycine ; **CIP** : Cyprofloxine ; **TEC** : Teicoplanine ; **E** : Erythromycine ; **K** : Kamamycine ; **OX** : Oxacilline ; **OF** : Ofloxacine.

Cette étude a été menée dans le but d'étudier la résistance des souches *Staphylococcus aureus*, isolées à partir de différents services hospitaliers, vis-à-vis 15 antibiotiques de différentes familles.

À l'issue des tests de résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques, les résultats ont montré une hétérogénéité pour l'ensemble des antibiotiques, les plus forts taux de résistance ont été enregistrés avec la Pénicilline (100%), l'acide fusidique (91.7%), Teicoplanine (83.3 %) et oxacilline (75%). Ces résultats sont semblables à ceux rapportés par Touatia en 2016, avec un taux de résistance à la pénicilline et l'oxacilline de 100% et Allioua (2015) qui a signalé un taux de résistance à la pénicilline de 87,5%.

Quant aux β -lactamines, Les souches testées ont montré une résistance élevée à la Pénicilline et l'oxacilline ; cependant une sensibilité notable a été enregistrée pour la Céfoxitine (83.3%) les résultats sont semblables à ceux trouvés par David (2013).

Cette résistance est due à la production d'une pénicillinase un β -lactamase qui hydrolyse le cycle de B- lactame des pénicillines et les rendant inactives, ou une modification de la cible, la synthèse d'une protéine de liaison à la pénicilline PLP2 a qui est codé par le gène *mec A* (Batard et al. 2005).

Concernant les aminosides, les isolats ont montré une résistance variable ; pour la gentamicine un taux de résistance de 58.3%, l'amikacine 41.7%, ces résultats sont proches à ceux enregistrés en France en Tunisie et au Maroc (David (2013)).

La résistance acquise à cette famille d'antibiotiques est due à trois (03) mécanismes, le premier consiste en des mutations aux niveaux des gènes codent pour les protéines ribosomales, cela est noté chez les souches de *S. aureus* résistantes à la streptomycine. Le second est le résultat des mutations touchant la perméabilité de l'antibiotique et le 3^{ème} est induit par la production d'enzymes inactivatrices (Chambers, 2009).

Pour les macrolides, 41.7% des isolats sont résistants à la clindomycine et 58.3% pour l'érythromicine ; ce taux de résistance à l'érythromicine correspond à d'autres études de Allioua (2010) et de Aouatien (2009). Selon Kasten (1999), plusieurs mécanismes peuvent assurer une résistance à ces antibiotiques le plus connu est une modification de la cible ribosomale. L'enzyme impliquée est la méthylase qui empêche la fixation des antibiotiques au groupe MLS.

Concernant les quinolones, 50% des souches sont résistantes à la Cyprofloxine et 83.3% sont résistantes à la Teicoplamine. Ce résultat est, d'une part, supérieure à ceux obtenus par Akoua *et al.* (2004) et inférieur à ceux rapportés par Shittu *et al.* (2006). Selon Hooper(2002), cette résistance est dû principalement à des mutations ponctuelles dans les gènes codants les protéines cibles des quinolones.

Selon Pesavento *et al.*, (2007), la nourriture est un facteur important dans le transfert de la résistance aux antibiotiques. Les souches de *S. aureus* sont connues pour être fréquemment résistantes aux antimicrobiens à cause de leur capacité à produire une barrière d'exopolysaccharides d'un coté et de l'autre, leur localisation au sein des micro-abcès, qui limitent l'action des antibiotiques (Gundogan *et al.*, 2005).

Conclusions et perspectives

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Vivant entre le commensalisme et la pathogénicité, les staphylocoques ont développé des stratégies puissantes pour faire de l'environnement hospitalier une niche écologique pour leur développement. Différents facteurs favorisent ce développement, en effet, l'utilisation excessive des antibiotiques et la formation de biofilm confèrent à ces bactéries un potentiel de créer une sélection des souches résistantes impliquées dans les maladies nosocomiales.

Au cours de cette étude, nous avons pu détecter une prévalence importante de *Staphylococcus aureus* au niveau des services hospitalier. Les résultats obtenus ont montré une variabilité de résistance des souches isolées envers les différents antibiotiques ; allant des B-lactamines, aminosides et macrolides, jusqu'aux quinolones. Néanmoins aucune souche multiresistante n'a été enregistrée.

Comme perspectives pour cette étude :

- Elargir la zone d'étude et le nombre d'échantillons
- Appliquer des techniques moléculaires dans les investigations et la détermination des isolats sensibles aux antibiotiques pour mieux guider l'antibiothérapie et préserver l'efficacité des antibiotiques.

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allioua A. (2015). Les staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* résistants à la pénicilline. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Faculté des sciences. Annaba. p221.
- Alomar Jomaa.(2007). Etude des propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. Institut national polytechnique de Lorraine – Nancy, France.
- Amagai, M., Matsuyoshi, N., Wang, Z. H., Andl, C., & Stanley, J. R. (2000). Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. *Nature medicine*, 6(11), 1275-1277.
- Amir, L. H., Garland, S. M., & Lumley, J. (2006). A case-control study of mastitis: nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *BMC Family Practice*, 7(1), 1-9.
- Baddour, L. M., Tayidi, M. M., Walker, E., McDevitt, D., & Foster, T. J. (1994). Virulence of coagulase-deficient mutants of *Staphylococcus aureus* in experimental endocarditis. *Journal of medical microbiology*, 41(4), 259-263.
- Bhat, J. A., & Tenguria, R. (2014). Significance of MRSA in nosocomial infections. *IJAS International Journal of Applied Science-Research and Review*, 1(1), 27-36.
- Bisognano, C. (2000). Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de *Staphylococcus aureus* : étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires. *Thèse de doctorat*. Genève.
- Bodén, M. K., & Flock, J. I. (1989). Fibrinogen-binding protein/clumping factor from *Staphylococcus aureus*. *Infection and immunity*, 57(8), 2358-2363.
- Bokarewa, M. I., Jin, T., & Tarkowski, A. (2006). *Staphylococcus aureus*: staphylokinase. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 38(4), 504-509.
- Breche P., Gaillard J., Simonet M. 1988. Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 267-277.
- Burns, A., Shore, A. C., Brennan, G. I., Coleman, D. C., Egan, J., Fanning, S., ... & Leonard, F. C. (2014). A longitudinal study of *Staphylococcus aureus* colonization in pigs in Ireland. *Veterinary microbiology*, 174(3-4), 504-513.
- Callon, C., Gilbert, F. B., De Cremoux, R., & Montel, M. C. (2008). Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of *S. aureus* contamination from milk to cheese in goat cheese farms. *Food Control*, 19(2), 143-150.

- Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R. 1990. Bactériologie médicale «Techniques usuelles» 3ème tirage SIMEP. Paris. 105-108.
- Chavakis, T., Hussain, M., Kanse, S. M., Peters, G., Bretzel, R. G., Flock, J. I., ...&Preissner, K. T. (2002). Staphylococcus aureus extracellular adherence protein serves as anti-inflammatory factor by inhibiting the recruitment of host leukocytes. *Nature medicine*, 8(7), 687-693.
- Chavakis, T., Wiechmann, K., Preissner, K. T., & Herrmann, M. (2005). *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium. *Thrombosis and haemostasis*, 94(08), 278-285.
- Cheung, A. L., Bayer, A. S., Zhang, G., Gresham, H., & Xiong, Y. Q. (2004). Regulation of virulence determinants in vitro and in vivo in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 40(1), 1-9.
- Corne, P. (2004). *Staphylococcus aureus dans un service de réanimation: étude génétique, phénotypique et épidémiologique* (Doctoral dissertation, Montpellier 1).
- Delarras, C. (2007). Microbiologie pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. 1er éd., Éditions Tec & Doc - EM Inter – Lavoisier, Paris, 2007, p476.
- Diep, B. A., Stone, G. G., Basuino, L., Graber, C. J., Miller, A., des Etages, S. A., ... & Chambers, H. F. (2008). The arginine catabolic mobile element and staphylococcal chromosomal cassette mec linkage: convergence of virulence and resistance in the USA300 clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of infectious diseases*, 197(11), 1523-1530.
- Dinges M.M., Orwin P.M., Schlievert P.M. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13, 16–34.
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., & Stackebrandt, E. (2006). *The Prokaryotes, A handbook on the Biology of Bacteria, Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass*. Springer, New York.
- Edmiston Jr, C. E., Seabrook, G. R., Cambria, R. A., Brown, K. R., Lewis, B. D., Sommers, J. R., ... & Towne, J. B. (2005). Molecular epidemiology of microbial contamination in the operating room environment: Is there a risk for infection?. *Surgery*, 138(4), 573-582.
- Eveillard, M. (2007). *Politique de dépistage de Staphylococcus aureus résistant à la méticilline à l'admission: adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).
- Ferry, T., Perpoint, T., Vandenesch, F., & Etienne, J. (2005). Virulence determinants in *Staphylococcus aureus* and their involvement in clinical syndromes. *Current infectious disease reports*, 7(6), 420-428.

- Forbes, B. A., E Sahm, D. & Weissfeld, A. S., 2007. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 12 th ed. Saint Louis: Mosby Elsevier.
- Foster, T. J. (2005). Immune evasion by staphylococci. *Nature reviews microbiology*, 3(12), 948-958.
- Foster, T. J., & Höök, M. (1998). Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends in microbiology*, 6(12), 484-488.
- Goodyear, C. S., & Silverman, G. J. (2003). Death by a B cell superantigen: in vivo VH-targeted apoptotic supraclonal B cell deletion by a staphylococcal toxin. *The Journal of experimental medicine*, 197(9), 1125-1139.
- Gordon, R. J., & Lowy, F. D. (2008). Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical infectious diseases*, 46 (Supplement_5), S350-S359.
- Gundogan N., Citak S., Yucel N., Devren A. 2005. A note on the incidence and the antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. *Meat Sci.* 69, 807–810.
- Haggar, A., Hussain, M., Lönnies, H., Herrmann, M., Norrby-Teglund, A., & Flock, J. I. (2003). Extracellular adherence protein from *Staphylococcus aureus* enhances internalization into eukaryotic cells. *Infection and immunity*, 71(5), 2310-2317.
- Hansen, U., Hussain, M., Villone, D., Herrmann, M., Robenek, H., Peters, G., ...& Bruckner, P. (2006). The anchorless adhesin Eap (extracellular adherence protein) from *Staphylococcus aureus* selectively recognizes extracellular matrix aggregates but binds promiscuously to monomeric matrix macromolecules. *Matrix biology*, 25(4), 252-260.
- Hennekinne, J. A., Kerouanton, A., Brisabois, A., & De Buyser, M. L. (2003). Discrimination of *Staphylococcus aureus* biotypes by pulsed-field gel electrophoresis of DNA macro-restriction fragments. *Journal of Applied Microbiology*, 94(2), 321-329.
- Jarraud S., Lyon G.J. Figueiredo A.M. (2000). Exfoliatin-producing strains define a fourth agr specificity group in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 182, 6517-6522.
- Kawabata, S. I., Morita, T., Iwanaga, S., & Igarashi, H. (1985). Staphylocoagulase-binding region in human prothrombin. *The Journal of Biochemistry*, 97(1), 325-331.
- Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zinkernagel, R. M. (2005). *Medical Microbiology*. New York: Thieme.
- Kloos, W. E., Zimmerman, R. J., & Smith, R. F. (1976). Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Applied and environmental microbiology*, 31(1), 53-59.
- Lee, L. Y., Höök, M., Haviland, D., Wetsel, R. A., Yonter, E. O., Syribeys, P., ...& Brown, E. L. (2004). Inhibition of complement activation by a secreted *Staphylococcus aureus* protein. *Journal of Infectious Diseases*, 190(3), 571-579.

- Ligon, B. L. (2004, January). Penicillin: its discovery and early development. In *Seminars in pediatric infectious diseases* (Vol. 15, No. 1, pp. 52-57). WB Saunders.
- Lister, J. L., & Horswill, A. R. (2014). Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 178.
- Marco Silva, G. *Staphylococcus aureus* [en ligne], http://7staphylococcus-aureus.blogspot.fr/2007/11/diagnostico-laboratorio_14.html, consulté en Juin 2022.
- Martin E C, Dumitrescu O, Lesprit P. (2019). La résistance aux antibiotiques. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>.
- Mazmanian, S. K., Liu, G., Ton-That, H., & Schneewind, O. (1999). Staphylococcal sortase, an enzyme that anchors surface proteins to the cell wall. *Science*, 285(5428), 760-763.
- Menzies, B. E. (2003). The role of fibronectin binding proteins in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infections. *Current opinion in infectious diseases*, 16(3), 225-229.
- Nguyen, M. H., Kauffman, C. A., Goodman, R. P., Squier, C., Arbeit, R. D., Singh, N., ... & Yu, V. L. (1999). Nasal carriage of and infection with *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *Annals of internal medicine*, 130(3), 221-225.
- Pesavento G., Ducci B., Comodo N., Lo Nostro. 2007. A Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Food Control* 18, 196–200.
- Porrero, M. C., Mentaberre, G., Sánchez, S., Fernández-Llario, P., Casas-Díaz, E., Mateos, A., ... & Domínguez, L. (2014). Carriage of *Staphylococcus aureus* by free-living wild animals in Spain. *Applied and environmental microbiology*, 80(16), 4865-4870.
- Ruppitsch, W., Indra, A., Stöger, A., Mayer, B., Stadlbauer, S., Wewalka, G., & Allerberger, F. (2006). Classifying spa types in complexes improves interpretation of typing results for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 44(7), 2442-2448.
- Schwarz S., Chaslus-Dancla E. 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *J. Vet. Res.* 32, 201-25.
- Sevin, E., Larmaraud-Sevin, O., & Legrand, P. (1999). Approche moléculaire de la résistance à la méticilline de *Staphylococcus aureus*. *Revue française des laboratoires*, 1999(315), 25-31.
- Shannon, O., & Flock, J. I. (2004). Extracellular fibrinogen binding protein, Efb, from *Staphylococcus aureus* binds to platelets and inhibits platelet aggregation. *Thrombosis and haemostasis*, 91(04), 779-789.

- Sekhri A.N. (2011).Fréquence et marqueurs épidémiologiques de Klebsiella Pneumoniae dans les services a haut risqué infectieux au niveau du CHU Benbadis de Canstantine.universitéMentouri Constantine.187p
- Smith, A. J., Jackson, M. S., &Bagg, J. (2001).The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. *Journal of medicalmicrobiology*, 50(11), 940-946.
- Spicer W.J. 2003. Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29.
- Sulaiman, A. M. (2016). Detection des enzymes B-lactamases chez *Staphylococcus* isolé de la cavité nasale des élèves en bonne santé. *Journal international des sciences chimiques et biomoléculaires*, 2(1), 32-37.
- Thakker, M., Park, J. S., Carey, V., & Lee, J. C. (1998).*Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. *Infection and immunity*, 66(11), 5183-5189.
- Université de Paris V. OBSERVATION CLINIQUE B15-OBS 07 [en ligne], <http://desbiol.univ-paris5.fr/B15-obs07/index.html>, consulté en Juin 2022.
- Verdier, I., Lina, G., Gillet, Y., Vandenesch, F. *Staphylococcus* [en ligne], <http://www.microbe-edu.org/etudiant/staph.html> consulté en Juin 2022.
- Watson, K., Carville, K., Bowman, J., Jacoby, P., Riley, T. V., Leach, A. J., ...&Kalgoorlie Otitis Media Research Project Team. (2006). Upper respiratory tract bacterial carriage in Aboriginal and non-Aboriginal children in a semi-arid area of Western Australia. *The Pediatric infectious disease journal*, 25(9), 782-790.
- Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., &Nouwen, J. L. (2005).The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet infectious diseases*, 5(12), 751-762.
- Williams, R. E. O. (1963). Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriological reviews*, 27(1), 56-71.
- Yarwood J.M., Schlievert P.M. 2003. Quorum sensing in *Staphylococcus* infections. *J. Clin. Invest.* **112**, 1620-1625.
- Yu, V. L., Goetz, A., Wagener, M., Smith, P. B., Rihs, J. D., Hanchett, J., &Zuravleff, J. J. (1986).*Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on hemodialysis. *New England Journal of Medicine*, 315(2), 91-96.

Annexes

Annexes

Annexe I. Milieux de culture

Gélose hyper salée au mannitol – Chapman

Composition :

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 (Solution sodique à 0.25 p. 100).....	20 ml
pH = 7.6	

Préparation :

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

Gélose Mueller-Hinton

Composition :

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	

Réactifs

- Eau oxygénée (H₂O₂)
 - Eau physiologique
 - Disques oxydase
 - Huile à immersion
 - Violet de Gentiane
 - Fushine
 - Lugol
 - Ethanol
-

Annexe II. Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

- Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne ;
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;
- Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau ;
- Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes ;
- Laver à l'eau ;
- Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (x100).

Les bactéries à G ram positif apparaissent en violet et les bactéries à G ram négatif en rose.
