

**République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**



Département de Biochimie-Microbiologie

Mémoire de fin d'études

**En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Thème

**Etude de la prévalence des staphylocoques et des
streptocoques dans les suppurations cutanées des patients
du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou**

Réalisé par :

M^r CISSE Abba

M^{lle} ISSOLAH Amel

M^{lle} SENANI Lina

Soutenu le 02 juillet 2023, devant le jury composé de :

M^{me} MEGUENNI. N

MCA

Présidente

M^r HOUALI. K

Professeur

Promoteur

M^{me} IRATNI. G

MCA

Examinatrice

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

On tient tout d'abord, à remercier dieu le tout puissant pour nous avoir donné la sante, la force, le courage et la volonté de terminer nos études et de mener à bien ce modeste travail.

*Nos vifs et sincères remerciements vont à Monsieur **HOUALI. K** : Professeur à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO, pour avoir accepté d'encadrer ce travail, pour la qualité de son encadrement, sa bienveillance, sa rigueur ainsi que sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*On adresse notre profonde gratitude à Madame **MEGUENNI. N** : Maitre conférence de classe A à l'UMMTO, pour avoir très gentiment accepté d'examiner notre travail et de présider le jury.*

*On remercie également Madame **IRATNI. G** : Maitre conférence de classe A à l'UMMTO, pour avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de ses nombreuses obligations.*

Nous tenons à remercier tout le corps professoral et administratif du département de Biochimie et de Microbiologie pour tous les efforts déployés et le travail énorme qu'ils ont effectués pour nous créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

Finalement nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail

- ❖ *À mon défunt père auquel je voudrais rendre hommage, pour son amour et sa confiance envers moi. Je lui dédie également mon diplôme, puisque c'était un rêve pour tous les deux, et aujourd'hui on peut dire qu'on a réussi père, dors en paix.*
- ❖ *À ma maman qui a toujours cru en moi dans mes échecs et dans ma réussite, qui m'a toujours appris à être humble malgré tous nos succès. Merci pour ta confiance et ton encouragement.*
- ❖ *À tous mes profs et camarades qui ont été bienveillants à mon égard. Merci d'avoir fourni tant d'effort à mon intégration, et à mon adaptation.*
- ❖ *À mes camarades Lina et Amel pour la détermination et le courage dont elles ont fait preuve.*

Je tiens à remercier mon pays le MALI ainsi que mon pays adoptif l'ALGERIE, je tiens également à me remercier moi-même d'avoir rien abandonné, d'avoir pu me sacrifier afin de réaliser mon rêve et celui de mes parents, c'est un moment de plaisir et de réussite et j'espère que ça ne sera pas le dernier.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

❖ *À mes parents*

Ces deux personnes, qui malgré la distance qui nous séparait, leur amour et leur soutien me faisait ressentir leur présence à mes côtés. Je vous dédie ce mémoire afin de témoigner ma gratitude la plus sincère envers tous les efforts et les sacrifices que vous avez fait pour ma réussite et mon bonheur.

❖ *À mes frères Yacine et Amine*

❖ *Aux membres de ma famille*

Mes tantes Aziza, Naima et plus particulièrement ma tante Djamila, mon oncle Redouane ainsi que mes grands-parents. Merci pour votre soutien au quotidien.

❖ *À ma sœur Lina*

Ma plus belle rencontre. Merci pour ta présence, ton encouragement pour aller de l'avant et ta gentillesse.

❖ *À mon meilleur ami Abba*

Merci pour tes conseils, ton soutien et ta présence à mes côtés dans les bons moments comme dans les pires.

Je tiens à me remercier de m'être battue durant tout mon parcours à l'université. Malgré toutes les difficultés, j'en ressors aujourd'hui plus forte que jamais.

Dédicaces

C'est avec un énorme plaisir que je dédie aujourd'hui ce modeste travail

À Mes deux piliers dans la vie, mes chers parents

Je tiens à vous dire MERCI, merci d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui, merci pour l'éducation que vous m'avez donnée, pour vos principes que vous m'avez transmis. Vous avez été pour moi l'école, la source de motivation et d'énergie positive. Vous avez toujours su faire de mes problèmes des solutions et j'en serais infiniment reconnaissante.

À mes deux exemples, mon frère Nassim, et ma sœur Nassima

Merci pour les deux personnes compréhensives et serviables que vous êtes, et pour votre accompagnement dans mes prises de décisions académiques et professionnelles.

À Amel et Tilleli

Mes sœurs de cœur, Les personnes avec qui j'ai partagée tellement de hauts et de bas. Merci pour votre présence, et la bienveillance dont vous continuez à faire preuve.

À mon amie Samia

Comme on dit, loin des yeux mais près du cœur, merci pour l'année exceptionnelle que tu m'as fait vivre.

Je vous aime 

Lina

Liste des figures

Figure 1. Structure générale de la peau humaine saine (Delepouille, 2020).....	5
Figure 2. <i>Staphylococcus aureus</i> . A : Vue au microscope électronique à balayage. B : Vue au microscope optique après coloration de Gram, grossissement $\times 100$ (Denis et al., 2016).....	6
Figure 3. Longues chainettes de streptocoques A (Gram X1000).....	11
Figure 4. Colonies de streptocoques β hémolytique du groupe A.....	12
Figure 5. Aspect de l'intertrigos.....	16
Figure 6. Onychomycoses à <i>Candida</i> . (Bonifaz, 2020).....	17
Figure 07. Localisation anatomique des infections de la peau (Denis et al., 2016).....	18
Figure 8. Impétigo commun : large croûte mellicérique cernée d'un halo inflammatoire (Bessis, 2008).....	19
Figure 09. Ecthyma chez l'enfant.....	19
Figure 10. Erysipèle chez l'enfant (Larquey, 2018).....	20
Figure 11. La cellulite.....	21
Figure 12. Furoncle à <i>S. aureus</i>	22
Figure 13. Anthrax.....	22
Figure 14. Fasciites nécrosante (FN) orbitaire à streptocoque β -hémolytique du groupe A (SGA).....	23
Figure 15. Syndrome de la peau ébouillantée.....	24
Figure 16. Nécrolyse épidermique. (Larquey, 2018).....	24
Figure 17. Desquamation des paumes lors d'une scarlatine streptococcique (A) et Exanthème micropapuleux lors d'une scarlatine streptococcique (B) (Bessis, 2008).....	25
Figure 18. SCT Streptococcique.....	26
Figure 19. SCT Staphylococcique.....	26
Figure 20. Mécanismes de transfert du matériel génétique.....	29
Figure 21. Ecouvillon stérile utilisé pour le prélèvement nasal ou cutané.....	36
Figure 22. Un prélèvement hémorragique.....	37
Figure 23. Un prélèvement purulent.....	37
Figure 24. Milieux de culture utilisés.....	39
Figure 25. Organigramme d'identification des Staphylocoques et des Streptocoques.....	42
Figure 26. Test de la catalase. (A) :test négatif. (B) :test positif.....	51

Figure 27. Test positif de la coagulase.	51
Figure 28. Résultat positif d'une API 20 STAPH.....	52
Figure 29. Résultat positif d'une API 20 STREPT	52
Figure 30. Aspect des colonies de <i>Candida</i> sur le milieu Sabouraud	53
Figure 31. <i>Candida albicans</i> après test de filamentation	53
Figure 32. Taux de positivité et de négativité des cultures.	54
Figure 33. Répartition des patients selon les services.	54
Figure 34. Fréquence des bactéries isolées selon le genre bactérien.....	56
Figure 35. Taux des espèces bactériennes isolées à partir des suppurations superficielles. ...	56
Figure 36. Taux de résistances et de sensibilités de <i>Streptococcus spp.</i>	57
Figure 37. Taux de résistances et de sensibilités de <i>Staphylococcus aureus</i>	58

Liste des tableaux

Tableau I. Caractères biochimiques de <i>Staphylococcus aureus</i> (Schleifer et al., 1973).....	8
Tableau II. Caractères biochimiques des Streptocoques. (Selon Bergey, 1901).	12
Tableau III. Manifestation clinique due à <i>Staphylococcus aureus</i> et à <i>Streptococcus pyogènes</i> (Chiller et al., 2001).	17
Tableau IV. Matériels utilisés au laboratoire de microbiologie.....	34
Tableau V. Les différentes observations à l'état frais.	48
Tableau VI. Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> sur différents milieux	49
Tableau VII. Observation de Staphylocoque et Streptocoque après coloration de Gram.	50
Tableau VIII. Caractères biochimiques communs des souches de <i>S. aureus</i>	52
Tableau IX. Caractères biochimiques communs des souches de <i>Streptococcus spp</i>	52
Tableau X. Répartition des patients selon le sexe	55
Tableau XI. Répartition des patients selon la tranche d'âge.....	55

Liste des abréviations

BCP : Gélose Bromo-cresole pourpre

BGT : Bouillon glucosé tamponné

CifA : Clumping factor A

DHB : Dermohypodermites bactériennes non nécrosantes

DHBN : Dermohypodermites bactériennes nécrosantes

FAME : Fatty Acide Modifying Enzym

FN : La fasciite nécrosante

GSF : Gélose au sang frais

GSC : Gélose au sang cuit

LPV : Leucocidine de Panton et Valentine

MSCRAMM : Microbial Surface component Recognizing Adhesive Matrix
Molécule

MGG: Coloration May-Grünwald-Giemsa

SARM: Staphylococcus aureus methicillin resistant

SSEE : syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée

SLO : Streptolysine O

SLS : Streptolysine S

SSSS : Staphylococcal scalded skin syndrome

SCT : Le syndrome de choc toxique

SGA : Streptococcus pyogenes

SCN : Staphylococcus coagulase négative

SEB : Entérotoxine B staphylococcique

TSST : Toxic Shock Syndrome toxin

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les suppurations cutanées.....	3
1. Histoire.....	3
2. Définition des infections cutanées.....	4
3. Rappel sur l'anatomie de la peau.....	4
3.1. L'épiderme.....	5
3.2. Le derme (ou corium.....	5
3.3. Hypoderme.....	6
II. Généralités sur les streptocoques et <i>Staphylococcus aureus</i>	6
1. Les staphylocoques.....	6
1.1. Les caractères d'identification.....	6
1.1.1. Critères morphologiques.....	6
1.1.2. Critères culturaux.....	7
1.1.3. Critères biochimiques.....	8
1.2. Facteur de virulence.....	8
1.2.1. Les facteurs d'adhésion.....	8
1.2.2. Les toxines impliquées dans les infections cutanées.....	9
1.2.3. Les enzymes.....	10
2. Les Streptocoques.....	11
2.1. Critères d'identification.....	11
2.1.1. Critères morphologiques.....	11
2.1.2. Critères culturaux.....	12
2.1.3. Critères biochimiques.....	12
2.2. Facteur de virulence.....	13
2.2.1. La protéine M.....	13
2.2.2. Les toxines.....	13
2.2.3. Les enzymes.....	14
III. Les mycoses superficielles.....	15

1. Définition.....	15
2. Classification des mycoses superficielles.....	15
IV. Les infections cutanées Staphylococciques et Streptococciques.....	17
1. Les infections cutanées bactériennes primitives.....	17
1.1. Les infections cutanées superficielles.....	18
1.1.1. Impétigo.....	18
1.1.2. Ecthyma.....	19
1.2. Les infections cutanées profondes ou dermohypodermites.....	20
1.2.1. Les dermohypodermites bactériennes non nécrosantes (DHB).....	20
1.2.2. Les dermohypodermites bactériennes nécrosantes (DHBN).....	21
1.2.2.1. La cellulite.....	21
1.2.2.2. Le furoncle et l'anthrax.....	22
1.2.3. La fasciite nécrosante (FN).....	22
2. Les manifestations cutanées d'origines toxiques.....	23
2.1. Le syndrome d'exfoliatine généralisé.....	23
2.2. La Scarlatine.....	24
2.3. Le syndrome de choc toxique.....	25
3. Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (Candida-bactéries) dans les infections cutanées.....	26
V. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	27
1. Définition.....	27
2. Les types de résistance aux antibiotiques.....	28
2.1. La résistance naturelle aux antibiotiques.....	28
2.2. La résistance acquise aux antibiotiques.....	28
3. Les mécanismes de résistances aux antibiotiques.....	30
3.1. Phénotypes de résistances de <i>Staphylococcus aureus</i> et de <i>Streptococcus pyogène</i>	30
3.1.1. La résistance de <i>S. aureus</i> par l'inactivation enzymatique et par modification de la cible.....	30
3.1.2. La résistance de <i>S. pyogenes</i> par efflux et par modification de la cible.....	31

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Présentation de l'étude.....	34
2. Matériel.....	34
3. Méthodes.....	35
3.1. Prélèvement.....	35
3.1.1. Fiche de renseignement.....	35
3.1.2. Conditions de prélèvement.....	35
3.1.3. Mode de prélèvement.....	36
3.2. Transport.....	36
3.3. Examen cyto bactériologique du pus.....	37
3.3.1. Examen macroscopique du prélèvement.....	37
3.3.2. Examen microscopique du prélèvement.....	37
3.4. La culture.....	39
3.5. Identification.....	40
3.5.1. Aspect des colonies.....	40
3.5.2. Identification biochimique.....	42
3.6. Antibiogramme.....	45

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Partie I : Résultats des examens cytologiques.....	48
1. Examen direct à l'état frais.....	48
2. Isolement et identification.....	49
2.1. Aspect des colonies.....	49
2.2. Examen après coloration de Gram.....	50
2.3. Test de la catalase.....	50
2.4. Test de la coagulase libre.....	51
2.5. Identification biochimique par le système API.....	51
2.6. Identification des levures (test de filamentation).....	53
Partie II : Résultats de l'analyse statistique.....	53
1. Données épidémiologiques.....	53
1.1. Taux de positivité.....	53

1.2. Répartition des prélèvements positifs.....	54
1.2.1. Selon le service.....	54
1.2.2. Selon le sexe.....	55
1.2.3. Selon la tranche d'âge.....	55
2. Données bactériologiques.....	55
2.1. Répartition selon le genre.....	55
2.2. Répartition selon l'espèce.....	56
2.3. Profil de sensibilité aux antibiotiques.....	57
2.3.1. <i>Streptococcus spp</i>	57
2.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Partie III : Discussion.....	58
Conclusion	63
Références bibliographiques.....	66
Annexe.....	74

Introduction

Les infections suppuratives de la peau et des tissus mous sont des pathologies fréquentes causées par des microorganismes pyogènes. Ces infections sont caractérisées par un polymorphisme clinique qui se traduit par des inflammations locales accompagnées par la formation d'un exsudat purulent souvent de couleur crème, dû à l'accumulation de leucocytes morts et d'agents infectieux, appelé « pus ». Les infections cutanées sont pour la plupart des cas secondaires à des lésions (plaie traumatique, brûlure, incision chirurgicale, escarre, ulcère) ou à des dermatoses aiguës ou chroniques (eczéma) (**Tristan et al., 2019**).

Les pathologies associées à la peau sont généralement d'origine bactérienne dont la majorité sont causées aussi bien par des bactéries à Gram positif notamment *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, que par des bactéries à Gram négatif telles que les entérobactéries. Elles peuvent également être d'origine mycosique (dermatophytoses), où sont généralement impliquées les levures à savoir *Candida albicans*. Enfin, elles peuvent être la conséquence d'une interaction interspécifique levures-bactéries, entraînant ainsi des répercussions graves sur l'état clinique du patient (**Douglas, 2002**).

La résistance aux antibiotiques est entrain de connaitre une évolution progressive et demeure aujourd'hui l'un des problèmes majeurs pesant sur la santé mondiale. En effet, de nombreuses souches bactériennes multi-résistantes ont été identifiées notamment le *Staphylococcus aureus* méticilline résistant (SARM) représentant en moyenne 59% des *S. aureus* isolés à partir des infections suppuratives (**Dauwalder et al., 2008**). Cette multi-résistance est due principalement à l'usage extensif et à un profil posologique inadéquat des antibiotiques qui ont engendré une accélération du développement de mécanismes de défense vis-à-vis des antibiotiques rendant, ainsi, leur action inefficace.

La connaissance des germes responsables impliqués dans les infections cutanées ainsi que l'émergence de leur résistance aux antibiotiques restent essentielles pour contrôler ces infections. C'est dans ce contexte général que nous avons été amenés à entreprendre ce présent travail qui a été réalisé au laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Tizi-Ouzou (Unité Nedir Mohamed), visant à :

- ✚ Isoler les bactéries à partir des suppurations cutanées ;
- ✚ Déterminer la prévalence des *Staphylocoques aureus* et des Streptocoque dans celles-ci ;
- ✚ Evaluer la résistance de ces germes vis-à-vis des antibiotiques.

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les suppurations cutanées

1. Histoire

Depuis l'antiquité de nombreuses théories ont été élaborées pour expliquer l'apparition des pus, qui survenaient quelques jours après avoir observé une blessure. Hippocrate (460-377 av J.C) est considéré comme le « père de la médecine », qualifia dans ses ouvrages la cicatrisation des plaies comme étant « un pus louable et bon », c'est pour en déduire que c'est grâce aux suppurations qu'on aboutira à une guérison des blessures, tout en classant les pus : « si un pus est blanc et non offensant, la santé suivra » ; mais « s'il est saigneux et boueux la mort est à rechercher » (**Billroth, 1987**).

Cette pensée va se perpétuer, jusqu'à la contestation du médecin, chirurgien et philosophe grec Galien de Pergame (129-199 après J.C), qui ne croyait surtout pas que la cicatrisation des plaies soit due à la présence des pus, pour lui il faut un drainage et une incision de la plaie. (**Galen et al., 2011**)

Ce n'est qu'au XIII^e siècle, que la doctrine du « pus louable et bon », a été réellement remise en question par le chirurgien italien Théodoric Borgognoni (1205-1298) et le chirurgien français Henry de Mondeville (1260-1320), qui ont tous les deux œuvré pour l'utilisation des mesures préventives à la formation des pus. Grace aux travaux de Louis Pasteur et Joseph Lister au 19^e siècle, ont permis de réaliser, que les pus sont à l'origine des infections ce qui met fin au terme de « pus louable et sain » (**Teodorico, 1956**)

Une incision et un drainage du pus suivis de pansements stériles sont généralement suffisants lorsqu'il y a aucun signe d'infection systémique, d'où la découverte du premier antibiotique vers 1928 par Alexander Fleming médecin et pharmacologue britannique ayant découvert par hasard une substance produite par un champignon le *Penicillium notatum* inhibant la croissance bactérienne. La commercialisation des antibiotiques avait commencé vers 1932, par le 1^{er} laboratoire industriel « Bayer ». La résistance aux antibiotiques est décrite en 1946 par le Japonais T. Watanabe qui démontra pour la première fois l'origine génétique de l'antibiorésistance en montrant que le gène responsable est porté par un plasmide bactérien, c'est la résistance aux sulfamides (**MAZLIAK, 2023**).

2. Définition des infections cutanées

C'est des infections qui résultent de l'invasion par les microorganismes des tissus de la peau, avec multiplication de ces derniers, entraînant des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire de l'organisme. (LIPSKY *et al.*, 2004).

Définition du pus et des suppurations

Il est défini comme étant un liquide visqueux et épais, le plus souvent de couleur blanchâtre ou jaunâtre. Le pus est un produit organique et pathologique composé en proportions variables, de plasma sanguin, de granulocytes neutrophiles altérés, appelés « pyocytes », de débris tissulaires, de particules de graisse, d'acides gras et de microorganismes vivants et morts (Quevauvilliers, 2007)

Sa présence reflète généralement un processus inflammatoire aigu et une activation du système immunitaire due soit à une bactérie soit à un champignon (Cuvier, 1805).

La suppuration est une formation ou écoulement de pus, c'est un liquide organique pathologique qui apparaissent le plus souvent à un endroit infecté de l'organisme pouvant provenir d'un abcès ; d'une plaie ou d'un ulcère dont la couleur variable allant du jaunâtre au verdâtre (Bariéry *et al.*, 1971).

3. Rappel sur l'anatomie de la peau

La peau est le plus gros organe recouvrant l'être humain et représentant un tiers de son poids et une surface de l'ordre de 2m² chez l'adulte. Elle constitue la première ligne de défense contre les agressions externes physiques, chimiques et biologiques et contribue également dans la thermorégulation et la réception des informations sensibles.

La peau est constituée de trois compartiments cellulaires bien distincts avec des fonctions bien déterminées. L'épiderme représente la couche superficielle, suivie par le derme qui est la couche intermédiaire et enfin l'hypoderme constituant la couche la plus profonde (Dréno, 2009) (Figure 1).

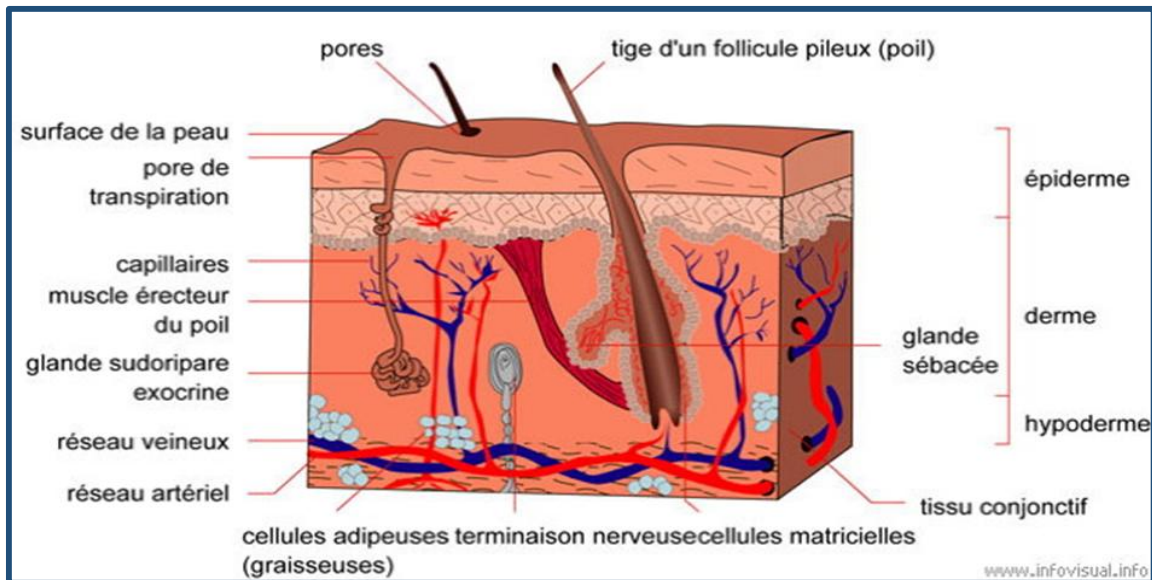


Figure 1. Structure générale de la peau humaine saine (Delepouille, 2020)

3.1. L'épiderme

L'épiderme est un épithélium pluristratifié kératinisé. Son épaisseur varie de 40 μm à 1 à 6 mm selon sa localisation anatomique. Les kératinocytes constituent 90 à 95 % de la population épidermique. Les autres cellules présentes sont des cellules de Langerhans, des mélanocytes et des cellules de Merkel. Les kératinocytes prolifèrent dans l'assise basale puis se différencient progressivement pour former les différentes couches de l'épiderme en migrant depuis la profondeur vers la surface où elles desquament (Dréno, 2009).

3.2. Le Derme (ou corium)

Le derme est un tissu conjonctif dense et fibro-élastique dont la production et le remodelage sont assurés par les fibroblastes. Il comprend également d'autres types cellulaires : des cellules endothéliales organisées en vaisseaux, des macrophages, des lymphocytes, des cellules dendritiques ou d'autres cellules immunitaires ainsi que les glandes sudoripares exocrines et les glandes sébacées (Dréno, 2009).

Le derme est responsable de la fermeté et de l'élasticité de la peau, il joue également un rôle essentiel dans la protection du corps contre les agressions extérieures et les agents irritants.

3.3. Hypoderme (ou tissus sous cutanée)

L'hypoderme est un tissu graisseux séparant la peau des membranes fibreuses entourant les organes les plus profonds, muscles et os. Il est traversé par des fibres nerveuses et est largement irrigué par la circulation sanguine (Dréno, 2009).

Il est constitué par une cellule spécialisée, dérivée des fibroblastes appelée « adipocyte ». Ainsi que par des Fibres de collagène spéciales dites gaines ou cloisons de tissu et des vaisseaux sanguins.

II. Généralités sur les staphylocoques et les streptocoques

1. Les Staphylocoques

1.1. Les caractères d'identification

1.1.1. Critères morphologiques

Les staphylocoques se présentent en cocci, regroupés en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes (3 à 5 éléments), mesurant de 0,8 à 1 μm . Sur les cultures en milieu solide ils se disposent en « grappe de raisin », alors qu'en milieu liquide ils sont isolés en « diplocoque ». Les staphylocoques sont immobiles, non sporulés et ne possèdent pas de capsule apparente au microscope optique, sauf de très rares souches (Souche Smith).

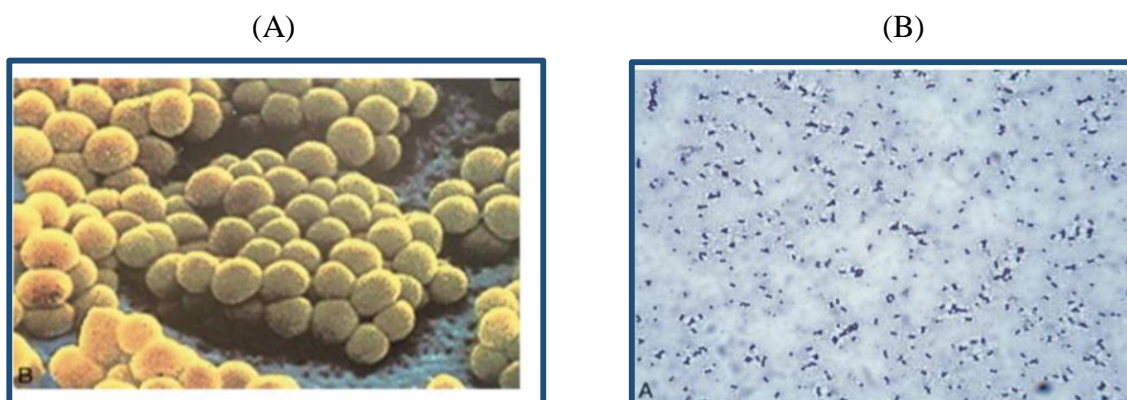


Figure 2. *Staphylococcus aureus*. A : Vue au microscope électronique à balayage. B : Vue au microscope optique après coloration de Gram, grossissement $\times 100$ (Denis et al., 2016)

1.1.2. Critères cultureux

Les staphylocoques sont des germes aéro-anaérobie facultatif, facilement cultivable sur milieu ordinaire et synthétique contenant des sels, du glucose et 14 acides aminés dont la cystéine et la thiamine, ainsi que des vitamines telles que la vitamine B1. La température ainsi que le pH de croissance optimaux sont respectivement de 37°C et 7,5.

En bouillon ordinaire la culture est relativement rapide, un trouble homogène puis un dépôt sont observés. Sur gélose ordinaire, les colonies sont lisses, rondes, bombées et leur diamètre est de 1mm. Il existe des souches produisant un pigment jaune-doré ou jaune-citrin caractéristique de *S. aureus*. Il existe également celles donnant des colonies blanches ce qui correspond au staphylocoques blancs ou les SCN.

Les colonies des staphylocoques peuvent subir la variation S-R. Ceci se traduit par l'apparition de colonies naines en présence de certains sels minéraux, colorants, ou encore antibiotiques (mécilline, aminosides). Celles-ci sont observées sur des cultures provenant directement de lésions suppurées traitées par les antibiotiques.

Culture sur milieu sélectif

Les Staphylocoques sont capables de se développer sur des milieux hostiles type Chapman, utilisé en tant que milieu sélectif et le milieu Baird-Parker à base de tellurite comme agent sélecteur. *S. aureus* produit en 24h des colonies caractéristiques à centre noir, entourées d'un halo clair correspondant à une protéolyse, quelques heures plus tard, ce dernier devient opaque sous l'action de la lipase.

1.1.3. Critères biochimiques

Les critères biochimiques de *S. aureus* sont résumés dans le **Tableau I**.

Tableau I. Caractères biochimiques de *Staphylococcus aureus* (Schleifer *et al.*, 1973)

Caractères d'identification biochimiques		<i>S. aureus</i>
Acidification anaérobie du mannitol		+
Acidification aérobie du	Mannitol	+
	Maltose	+
	Galactose	+
	Mannose	+
	Tréhalose	+
Catalase		+
Oxydase		-
Coagulase		+
Réduction du nitrate		+
Production d'acétoïne		+
Uréase		+
Indole		+
Pigment orangé ou jaune		+
Hémolyse (érythrocytes de bœuf)		+

1.2. Facteur de virulence

La pathogénicité de *S. aureus* est reliée à l'expression de nombreux facteurs de virulence. En effet, il a la capacité de sécréter, après invasion, des facteurs d'adhésion, des toxines ou encore des enzymes (Vincenot, 2008).

1.2.1. Les facteurs d'adhésion

S. aureus colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. La colonisation est favorisée par une effraction de la barrière cutanéomuqueuse. *S. aureus* possède un grand nombre de protéines exprimées à sa surface, ayant la capacité de se fixer sur des molécules de l'hôte, elles sont dites « adhésines » (Tristan *et al.*, 2019).

Ces dernières appartiennent majoritairement à la famille des MSCRAMM (*Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecule*) qui reconnaissent les molécules

de la matrice extracellulaire, composée de collagène, d'élastine, de protéoglycanes et de glycoprotéines de structure telles que la fibronectine. Parmi ces protéines, les mieux caractérisées sont : *Clumping factor A* [ClfA], fibronectin binding protein, protéine A et *collagen binding protein*. Ces dernières se lient respectivement au fibrinogène, à la fibronectine, au facteur Willebrand et au collagène (Batard *et al.*, 2007).

1.2.2. Les Toxines impliquées dans les infections cutanées

S. aureus produit des toxines qui ciblent les membranes cellulaires. Ces dernières provoquent la formation de canaux membranaires (pore-forming toxins). On peut citer les hémolysines α , les leucocidines de Panton et Valentine, l'épidermolysine ainsi que les superantigènes (Tristan *et al.*, 2019).

L'hémolysine α

C'est une protéine cytotoxique avec un PM de 31 kDa, elle est sécrétée en fin de phase exponentielle de croissance par 80 à 90 % des souches de *S. aureus*. Elle est dermo-nécrotique.

De nombreuses cellules peuvent donc être lysées, notamment les lymphocytes T, les plaquettes, les kératinocytes et les fibroblastes. En effet, les monomères de l'alpha-toxine s'oligomérisent à la surface membranaire des cellules cibles et forment alors un pore heptamérique ce qui induit des perturbations au niveau de la perméabilité membranaire. Ceci va donc favoriser la libération des cytokines et autres médiateurs de la réponse inflammatoire expliquant le choc septique des infections sévères à *S. aureus* (Vincenot, 2008).

Leucocidine de Panton et Valentine (LPV)

C'est une leucotoxine formée de deux composés S (38 000 kDa) et F (32 000 kDa) agissant en synergie. Son activité biologique s'exerce uniquement sur les monocytes, les macrophages, les polynucléaires neutrophiles et les métamyélocyte. (Vandenesch François *et al.*, 2008).

Les souches productrices de LPV notamment le SARM sont associées à des infections cutanées primitives, notamment les furoncles. Il a été montré que 90 % des souches la produisant sont issues de furoncles, et inversement que 96 % des cas de furoncles sont associés à des souches productrices de LPV (Dubrous *et al.*, 2007).

Epidermolysine ou exfoliatine

Elle est caractérisée par la spécificité de son action sur la peau et son rôle pathogène inductible, cliniquement elle est responsable de différentes formes de staphylococcies cutanées bulleuses. L'épidermolysine est une toxine protéique dont le PM varie entre 24 000 et 30 000 kDa, elle est stable à 60°C pendant une heure. On en distingue Trois sérotypes caractérisés : ETA, ETB et ETD (Vincenot, 2008).

L'épidermolysine engendre des lésions histologiques caractérisées par un décollement intra-épidermique au niveau du stratum granulosum des épithéliums kératinisés. Elles atteignent cette zone par diffusion à travers les capillaires du derme. Ainsi, elles induisent une perte d'adhérence cellulaire entre les zones épithéliales du stratum spinosum et du stratum granulosum, à l'origine du décollement. (Le Minor *et al.*, 1982-1984).

Deux grandes pathologies cliniquement différentes et très contagieuses sont reliées à l'action de ces toxines épidermolytiques : L'impétigo bulleux et sa forme généralisée appelée syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée (SSEE)

Superantigènes

C'est une protéine bactérienne capable d'établir une interaction entre la molécule de CMH de classe II du macrophage et la chaîne V-bêta du récepteur cellulaire des lymphocytes T (TCR), au niveau de sites externes à celui de l'antigène et avec une affinité importante. (Stacey *et al.*, 2012).

Chez *S. aureus*, plus de trente superantigènes ont été identifiés, parmi eux on peut citer les exotoxines TSST responsables du syndrome de choc toxique Staphylococcique chez l'enfant. La TSST-1 conduit à la dilatation des vaisseaux, entraînant une baisse de pression et un manque de sang dans les organes vitaux, elle agit également au niveau de la membrane et constitue un super-antigène déclenchant les mécanismes de l'immunité.

1.2.3. Les enzymes

S. aureus produit plusieurs enzymes jouant un rôle important dans son pouvoir pathogène et qui sont capables de dégrader le tissu conjonctif et favoriser l'extension du foyer infecté. Parmi elles on peut citer : la coagulase libre, la hyaluronidase, et la lipase.

La coagulase libre

C'est une substance thermostable, dont le PM est compris entre 5 000 et 40 000 KDa. Elle est capable de coaguler le sang humain en quelques heures. Elle joue un rôle important dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des cocci et les protégeant ainsi de la phagocytose (Le Minor *et al.*, 1982-1984).

La coagulase active la prothrombine en thrombine. Cette dernière sera activée et agit à son tour sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine. La présence de la coagulase caractérise l'espace *S. aureus*.

✚ La hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile d'un PM de 80KDa. Elle permet d'hydrolyse d'un des composants fondamentaux du tissu conjonctif à savoir l'acide hyaluronique. Cette hydrolyse va donc permettre de diminuer la viscosité et faciliter la diffusion des Staphylocoques dans les tissus (Fiquet, 2009).

✚ La lipase

Est une enzyme modifiant les acides gras bactéricides nommés FAME (*Fatty Acide Modifying Enzym*). Ces enzymes favorisent la pénétration de la bactérie à travers la barrière cutanéomuqueuse. Les lipases clivent les acides gras de la peau qui sont secondairement inactivés par l'enzyme FAME, elles constituent également un facteur de virulence dans les abcès (Fiquet A, 2009).

2. Les Streptocoques

2.1. Les critères d'identification

2.1.1. Critères morphologiques

Les Streptocoques sont des cocci à Gram positif. Les cellules ont une forme ovoïde et sphérique d'un diamètre inférieur à 2 μ m. Elles se regroupent soit en diplocoque soit en chaînettes de taille variables selon les souches (Denis *et al.*, 2016).

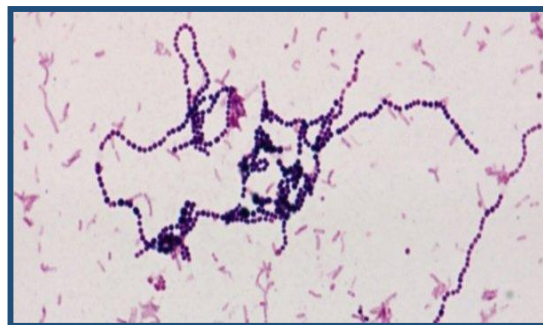


Figure 3. Longues chaînettes de streptocoques A (Gram X1000)

2.1.2. Critères cultureux

Les streptocoques sont des germes aéro-anaérobies tolérants, dépourvus de cytochromes et de catalase. La température de croissance est comprise entre 20°C et 42°C avec un optimum de 35-37°C. Les milieux nutritifs doivent contenir des peptones, extraits de viande ou infusion cœur-cervelle et être enrichis de sang de sérum et/ou d'ascite.

Sur les milieux glycosés, les streptocoques ne survivent pas car la fermentation du glucose en acide lactique et la baisse de pH forment un milieu hostile à ces germes. Les milieux glycosés doivent donc être tamponnés avant utilisation (**Le Minor *et al.*, 1982-1984**).

En bouillant nutritifs le streptocoque a une pousse granulaire avec une sédimentation rapide et un surnageant limpide ou légèrement trouble. Sur milieu solide, les streptocoques β -hémolytiques présentent des colonies dont le diamètre est de 0.5 centimètres, sphériques, bombées, transparentes ou translucides, avec un pourtour bien défini, entourées d'un halo transparent (streptocoque du groupe A) d'un diamètre 2 à 4 fois plus grand que celui de la colonie. (**Denis *et al.*, 2010**).

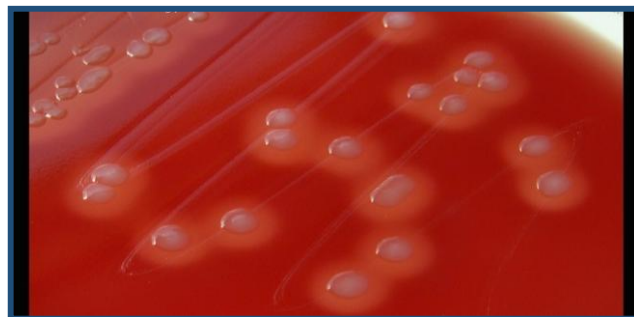


Figure 4. Colonies de streptocoques β hémolytique du groupe A.

2.1.3. Critères biochimiques

Les critères biochimiques des Streptocoques sont résumés dans le **Tableau II**.

Tableau II. Caractères biochimiques des Streptocoques. (**Selon Bergey, 1901**).

Caractères d'identification biochimiques	Les streptocoques
Glucose	+
Catalase	–
Oxydase	–
Vp	–
Esculine	–
Hippurate	–

2.2. Facteur de virulence

S. pyogenes est dotée de plusieurs facteurs de virulences lui permettant d'une part de se protéger vis-à-vis du système immunitaire et d'autre part de propager l'infection. Parmi ces facteurs on peut citer : **La protéine M**, **les toxines** ainsi que **les enzymes**.

2.2.1. La protéine M

La protéine M est l'un des principaux facteurs de virulence de *S. pyogenes*. Cette dernière forme des fibrilles à la surface de la bactérie (**Ghosh et al., 2011**). Elle est impliquée dans l'adhésion du germe aux cellules épithéliales, sa pénétration dans les tissus et sa protection contre la phagocytose. En outre, la protéine M permet à la bactérie d'échapper aux systèmes immunitaires inné et acquis.

2.2.2. Les Toxines

Les toxines érythrogènes

Les streptocoques du groupe A produisent plusieurs toxines érythrogènes. Ces dernières sont aussi dénommées exotoxines pyogènes streptococciques. Ces toxines sont responsables des éruptions érythémateuses et de scarlatine chez l'homme (exanthème et énanthème).

On distingue trois érythrogènes **A**, **B** et **C** dénommées respectivement : **SpeA**, **SpeB** et **SpeC**. Les toxines A et C sont également dotées de propriétés de super antigènes en déclenchant une stimulation polyclonale des lymphocytes T qui libèrent des cytokines ou d'autres médiateurs de l'inflammation. Elles sont à l'origine du syndrome de choc toxique streptococcique.

L'hémolysines

Elles sont dites streptolysines ou toxines cytolytiques, elles sont responsables des propriétés hémolytiques. Les streptocoques du groupe A produisent les **streptolysines O** et **S**.

➤ **Streptolysine O (SLO)**

La SLO est oxygène-labile. Ses propriétés biologiques sont : activité hémolytique ; lyse des cellules eucaryotes : polynucléaires, les plaquettes, et les cellules des cultures de tissu, les organites intracellulaires (mitochondries et lysosomes) ; action létale (souris, rats, lapins, chats) ; Effets cardiotoxiques et elle est immunogène.

➤ Streptolysine S (SLS)

La SLS est l'agent responsable de la leucotoxicité des Streptocoques et elle est insensible à l'oxygène. Ses propriétés biologiques sont : l'activité hémolytique : lyse des érythrocytes ; l'activité lytique observée sur toutes les cellules lysées par la SLO et également sur les cellules procaryotes ; la SLS n'est pas immunogène.

2.2.3. Les enzymes

✚ Streptodornase

La streptodornase est un mélange de quatre enzymes ADNases libérées par les streptocoques qui réduisent la viscosité du pus par la digestion de l'ADN (**Bouros *et al.*, 2007**)

Les DNases hydrolysent les liaisons phosphodiester de l'ADN ainsi que l'ARN. Elles ne sont pas cytotoxiques puisqu'elles ne traversent pas la membrane cytoplasmique des cellules eucaryotes. (**Le Minor *et al.*, 1982-1984**)

✚ Streptokinase (Sk)

Les streptocoques du groupe A possèdent deux streptokinases (A et B). Les Sk catalysent la transformation du plasminogène en plasmine (lysent la fibrine). Cette enzyme empêche la formation des barrières fibriniques à la périphérie des lésions, facilitant ainsi la diffusion des streptocoques. (**Le Minor *et al.*, 1982-1984**)

✚ Streptohyaluronidase

La hyaluronidase produite par les streptocoques pyogenes provoque un effet lytique important sur la substance de base du tissu conjonctif et elle jouerait un rôle dans la tendance caractéristique de diffuser dans les tissus des mammifères (facteur de diffusion) et la plupart des malades présentant des infections cutanées streptococcique possèdent des anti-HY (**McNamara *et al.*, 2008**).

III. Les mycoses superficielles

1. Définition

Les mycoses superficielles sont des mycoses qui touchent la peau, les phanères notamment les ongles, cheveux et poils ainsi que les muqueuses, en particulier au niveau digestif et génital. Elles ne sont pas mortelles mais souvent très contagieuses, gênantes et inesthétiques et peuvent être aussi un foyer secondaire d'une pathologie mycosique déjà présente mais localisée ailleurs dans l'organisme (**Boursiez, 2015**)

2. Classification des mycoses superficielles

Les mycoses superficielles sont généralement dues à 03 groupes de champignons à savoir **les dermatophytes, les levures** et plus rarement **les moisissures**. En fonction de l'agent responsable on distingue alors : **Les dermatophytoses** et **les levuroses** (dont les Candidoses).

Les dermatophytoses

Ce sont des infections superficielles très fréquentes en pathologie humaine du fait des nombreuses sources de contaminations (animale, tellurique et humaine) et du fait de la résistance des spores dans le milieu extérieur. Les dermatophytoses sont dues au dermatophytes, qui sont des champignons microscopiques filamenteux et kératinophiles. Ces derniers ont une affinité particulière pour la kératine de la peau. En effet, ils produisent des enzymes kératinolytiques appelées kératinases et sont par conséquent à l'origine de nombreuses lésions superficielles cutanées, d'onyxis des mains et des pieds ainsi que des teignes du cuir chevelu (**Chabasse, 2008**).

Les infections à dermatophytes chez les humains sont provoquées par trois genres **Epidermophyton, Microsporum** et **Trichophyton**. Ils sont absents de la flore commensale de la peau, ils proviennent donc du milieu extérieur (peignes, brosses à cheveux et surtout les Animaux qui sont des véritables vecteurs).

Les personnes les plus affectées sont les diabétiques, les cancéreuses et atteintes du VIH. Les dermatophytes n'infectent pas les organes internes ni le sang.

✚ Les levures

Ce sont dans leur grande majorité des affections parasitaires, opportunistes à spectre étendu allant d'une surinfection cutanée et d'une infection unguéale à une infection disséminée. Elles sont associées à un champignon microscopique de type levure. Parmi elles, *Candida albicans* (champignons unicellulaires levuriformes) demeure la levure la plus souvent impliquée dans les infections cutané-muqueuses superficielles. Les *Candida* passent de l'état saprophyte à l'état pathogène, sous l'influence de certains facteurs comme : la transpiration, la macération, la chaleur et l'humidité, favorisant ainsi le développement cutané des candidoses (Develoux *et al.*, 2005).

Parmi les candidoses cutanées et unguéales on peut distinguer : l'**intertrigo**, le **périonyxis** et l'**onyxis** (Nivoix *et al.*, 2018).

➤ L'intertrigo

Ce sont des lésions des grands plis ou des petits plis. Ils font souvent suite à une candidose des muqueuses digestives et/ou vulvovaginale. L'atteinte est caractérisée par un érythème symétrique par rapport au fond du pli, accompagné d'un dépôt blanchâtre et d'une collerette pustuleuse ou desquamative à distance du foyer principal (**Figure 5**). Les intertrigos sont fréquents chez les patients obèses ou ayant une peau séborrhéique, ainsi que chez les diabétiques.



Figure 5. Aspect de l'intertrigo

➤ Le Périonyxis et l'onyxis

L'atteinte unguéale se manifeste tout d'abord par un périonyxis, il s'agit d'une inflammation du pourtour de l'ongle érythémateux et douloureux, souvent associée à un suintement séropurulent riche en levures. Puis apparaît l'onyxis, l'ongle devient jaune, vert

ou brun, des stries ou un réseau quadrillé apparaissent à la surface. L'évolution est chronique, ponctuée par des poussées intermittentes (**Figure 6**)

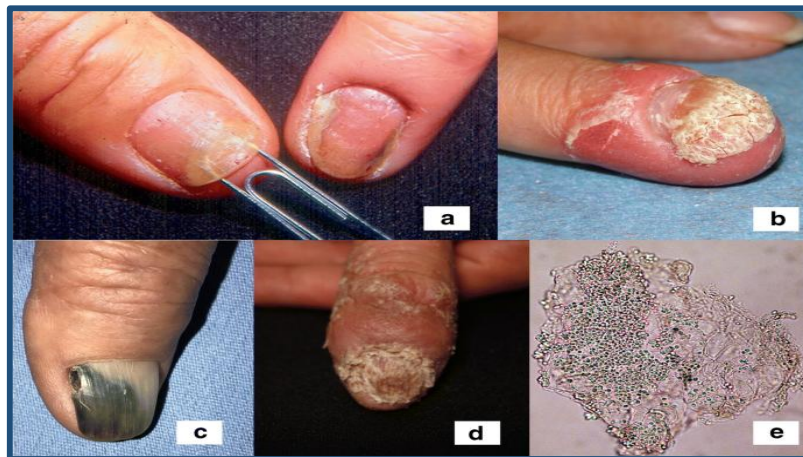


Figure 6. Onychomycoses à *Candida*. (Bonifaz, 2020)

IV. Les infections cutanées staphylococciques et streptococciques

Staphylococcus aureus ainsi que *streptococcus pyogènes*, constituent des germes pyogènes et toxigènes, responsables de nombreuses infections nosocomiales et communautaires. Ces derniers provoquent des infections suppuratives dues à la multiplication de la bactérie et des infections toxiques liées à la diffusion de toxines spécifiques.

1. Les infections cutanées bactériennes primitives

Le **Tableau III** résume les principales manifestations cliniques bactériennes primitives.

Tableau III. Les manifestations cliniques dues à *Staphylococcus aureus* et à *Streptococcus pyogènes* (Chiller *et al.*, 2001).

Infections	Différentes maladies	Germes	
		<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogènes</i>
Folliculaire	- Folliculite	+++	+
	- Furoncle	+++	+
	- Anthrax	+++	+
Epidermique	- Impétigo contagiosa	+	+++
	- Impétigo bulleux	+++	+
	- Ecthyma	+	+++
Dermique	- Erysipèle	+	+++
	- Fasciite nécrosante	+	+++

Il existe deux types d'infections cutanées en fonction de l'extension des lésions. Cette classification tient compte de la structure de la peau où l'on rencontre depuis l'extérieur : l'épiderme, le derme, le tissu sous cutané puis les fascias et les muscles (**Gauzit, 2006**). Ainsi, la dénomination des lésions cutanées repose sur le type et la profondeur du tissu atteint (**Figure 7**).

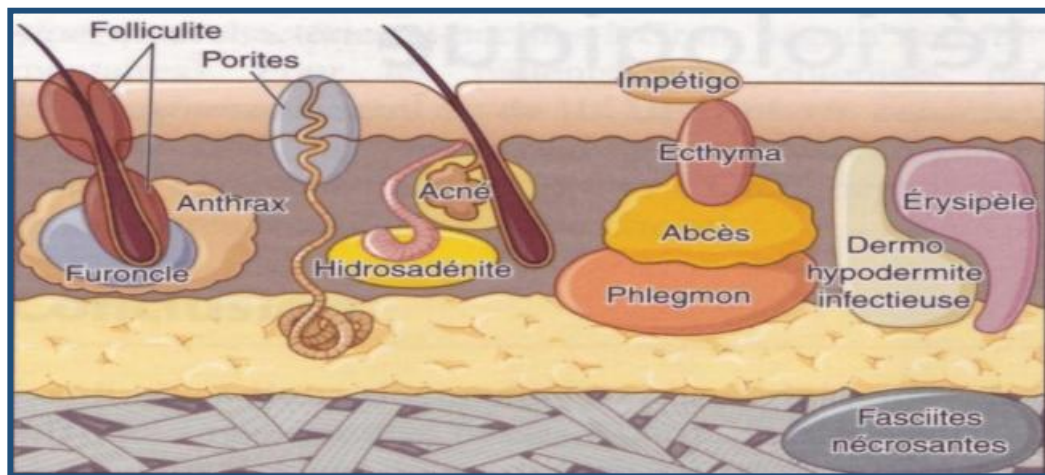


Figure 7. Localisation anatomique des infections de la peau (**Denis et al., 2016**)

On distingue donc : **Les infections cutanées superficielles** et **les infections cutanées profondes ou dermohypodermites**.

1.1. Les infections cutanées superficielles

Ce sont des infections qui touchent l'épiderme et le derme de la barrière cutanée, dont les agents causaux sont principalement des germes à Gram positif à savoir *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*. Exemples : **Impétigo, Ecthyma**.

1.1.1 Impétigo

Apparaît généralement 10 jours après un contact infectant, l'impétigo est une pyodermite non folliculaire superficielle contagieuse, caractérisée par des lésions vésiculeuses indolores, localisée aux régions exposées, et favorisée par des traumatismes mineurs ou par l'humidité. Ces vésicules entourées d'un halo inflammatoire évoluent vers la formation de pustules d'aspect crouteux. Il touche généralement les enfants en bas âge, essentiellement dans les collectivités, il peut ainsi être responsable d'épidémie notamment dans les crèches (**BERCHE et al., 1988**) (**Figure 8**).

L'impétigo représente 50% à 60% de toutes les infections bactériennes cutanées. (Feaster *et al.*, 2010). Il en existe deux types : l'impétigo bulleux et l'impétigo non bulleux.

Les germes responsables sont majoritairement *Staphylococcus aureus* (70%) et le *Streptococcus pyogenes* du groupe A (30%) (Larquey, 2018).



Figure 8. Impétigo commun : large croûte mellicérique cernée d'un halo inflammatoire (Bessis, 2008)

1.1.1. Ecthyma

C'est une forme profonde d'impétigo. L'ecthyma est une infection épidermique non folliculaire, se localisant généralement aux extrémités et envahissant rapidement le derme et les cellules sous cutanées. Ces infections, aboutissent le plus souvent à des ulcérations extensives à bords violacés plus au moins crouteuses. Elle peut dans certain cas être accompagnée d'adénopathie, de l'lymphangite ou de dermohypodermite associée (Larquey, 2018). (Figure 9).

Cette lésion est souvent due à *Streptococcus pyogenes* ou *Staphylococcus aureus*. Son apparition est favorisée par plusieurs facteurs notamment l'immunodépression (diabète, chimiothérapie anticancéreuse, infection par le virus de l'immunodéficience humaine [VIH], etc.), l'humidité et une hygiène déficiente. (Machet, 2008).



Figure 9. Ecthyma chez l'enfant

1.2. Les infections cutanées profondes ou dermohypodermes

Les dermohypodermes correspondent à des infections cutanées du derme et de l'hypoderme. Elles comprennent : Les DHB, les DHBN, et la fasciite nécrosante (Gauzit, 2006).

1.2.1. Les dermohypodermes bactériennes non nécrosantes (DHB)

Dans ce type d'infections, Il n'existe pas de nécrose et les lésions n'atteignent pas l'aponévrose superficielle. Exemples : L'érysipèle.

✚ L'érysipèle

Elle correspond à une dermohypoderme non nécrosante. L'érysipèle est une lésion douloureuse, indurée, rouge avec des bords bien nets adjacents à la peau saine, le plus souvent localisée à la face et aux membres inférieures et s'accompagne de fièvres et d'adénopathies (BERCHE *et al.*, 1988) (Figure 10).

Il est presque toujours causé par un streptocoque β hémolytique du groupe A. Moins fréquemment, il peut se développer secondairement à une infection streptococcique du groupe C ou G, en particulier chez les patients atteints de troubles veineux ou lymphatiques. Rarement, il est dû à *Staphylococcus aureus* notamment les souches résistantes à la méthicilline (SARM) (Weber *et al.*, 2011).



Figure 10. Erysipèle chez l'enfant (Larquey, 2018).

1.2.2. Les dermohypodermites bactériennes nécrosantes (DHBN)

Les dermohypodermites bactériennes nécrosantes, sont rares et mortelles, et pouvant atteindre 30% des cas. Exemple : **La cellulite, le furoncle et l'anthrax.**

1.2.2.1. La cellulite

Elle est définie comme étant une infection bactérienne aigue, atteignant les tissus sous cutanées. Elles touchent plus au moins profondément les tissus mous notamment le tissu conjonctif et adipeux, sans atteindre l'aponévrose superficielle (**Chosidow *et al.*, 2001**). (**Figure 11**)

La cellulite est souvent accompagnée par des douleurs intenses et spontanée, une chaleur, un érythème qui se propage rapidement et un œdème. Une fièvre peut survenir et les ganglions lymphatiques régionaux peuvent augmenter de volume dans des infections plus graves (**Auboyer *et al.*, 2001**).

Elle résulte généralement d'une lésion cutanée due à un traumatisme (par exemple une coupure, morsure, brûlures...), d'une affection sous-jacente (psoriasis, eczéma), d'un ulcère, d'une immunodépression (diabète, chimiothérapie, transplantation d'organe...) ou d'infections dermiques superficielles (dermatoses) (**Weber *et al.*, 2002**).

Les germes responsables de DHBN sont principalement : Streptococcus spp. (30 à 50 % des cas, et dans 50 % des hémocultures associées à un choc septique), Bactéroïdes spp., Clostridium spp., des entérobactéries (Escherichia coli, Proteus spp...) et des cocci Gram positif (*S. aureus* et entérocoques) (**Gauzit, 2006**).



Figure 11. La cellulite.

1.2.2.2. Le furoncle et l'anthrax

Le furoncle est une périfolliculite profonde. Il correspond à une nécrose totale du follicule pilosébacé et du derme avoisinant. Il est secondaire à une folliculite et dû à la sécrétion d'une toxine nécrosante par le staphylocoque doré. (Machet, 2008).

Il se manifeste par un nodule inflammatoire douloureux qui évolue en quelques jours vers une suppuration avec évacuation spontanée de pus correspondant au follicule nécrotique (Figure 12)

Elle est fréquente chez les adolescents et peut être responsable d'un retentissement psychologique important. (Larquey, 2018).

L'anthrax quant à lui, est défini comme étant une infection profonde et confluyente de plusieurs follicules pilo-sébacés adjacents, responsable d'un placard inflammatoire suppurant à la peau par les ostiums folliculaires. Il est parfois fébrile. (Larquey, 2018). (Figure 13).



Figure 12. Furoncle à *S. aureus*



Figure 13. Anthrax

1.2.3. La fasciite nécrosante (FN)

Elle est généralement due aux streptocoques beta-hémolytiques du groupe A et au Staphylocoque. La fasciite nécrosante correspond à une nécrose plus ou moins profonde des tissus à savoir les fascias intermusculaires ainsi que les muscles, avec une atteinte de l'aponévrose superficielle (Larquey, 2018).

L'infection débute en profondeur entre le tissu sous-cutané et le fascia du muscle. Les lésions superficielles de la peau sont dites « lésions d'ecchymose » et apparaissent secondairement. Elles se présentent sous formes de taches bleues grisées mal limitées, évoluant vers des vésicules puis vers des bulles puis vers la nécrose cutanée et hypoesthésie. (Lorrot *et al.*, 2014). La **figure 14** montre l'aspect de la fasciite nécrosante.



Figure 14. Fasciites nécrosante (FN) orbitaire à streptocoque

2. Les manifestations cutanées d'origines toxiques

Parmi les infections toxiques causées par les bactéries à Gram positif, on distingue : **Le syndrome d'exfoliatine généralisé, la nécrolyse épidermique staphylococcique** et enfin **la scarlatine** (Tristan *et al.*, 2019).

2.1. Le syndrome d'exfoliatine généralisé

Autrement dite « *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS)* ». Le SSSS est une dermatose bulleuse généralisée, atteint les jeunes enfants et les nouveau-nés (Syndrome de Ritter). Elle est due à la diffusion de la toxine exfoliatrice du staphylocoque doré. Cette dernière est produite dans le foyer infectieux primaire (pulmonaire, ORL, ophtalmologique, ou cutané : omphalite), elle sera ensuite disséminée par voie hématogène, et va donc provoquer un décollement bulleux généralisé par diffusion systémique. Il n'y a habituellement pas de bactériémie (Larquey, 2018).

L'infection débute par une fièvre et un rash scarlatiniforme douloureux dominant au visage, plis et régions péri-orificielles. Ces derniers sont suivis quelques heures après d'un décollement spontané ou provoqué (signe de Nikolski). Le contenu des bulles est clair et stérile en l'absence de surinfection (Floret, 2001).

Le syndrome d'exfoliation généralisé, connu sous le terme de syndrome de la peau ébouillantée doit être différencié de la nécrolyse épidermique d'origine toxique ou allergique (syndrome de Lyell) (**Figure 15**). En effet, dans le syndrome de la peau ébouillantée, le décollement cutané se fait par clivage de la partie superficielle de l'épiderme au niveau de la couche granuleuse alors que, dans le syndrome de Lyell toxique, le clivage se produit plus profondément au niveau du corps muqueux. (Floret, 2001). La **figure 16** montre le syndrome d'exfoliatine généralisé a staphylocoque.



Figure 15. Syndrome de la peau ébouillantée



Figure 16. Nécrolyse épidermique. (Larquey, 2018)

2.2. La scarlatine

La scarlatine est une éruption cutanée très contagieuse. La bactérie qui en est responsable est généralement le streptocoques beta-hémolytiques du groupe A notamment *Streptococcus pyogenes*. Ce dernier génère une toxine érythrogènes A, B ou C, provoquant ainsi une réponse inflammatoire locale. Elle touche principalement les enfants de 2 à 10 ans et constitue une forme mineure d'infection streptococcique toxinique (Salvatore *et al.*, 2023).

Il existe également une forme staphylococcique de la scarlatine qui se rencontre chez le jeune enfant, qui survient suite à une suppuration chirurgicale notamment l'ostéoarthrite, abcès...etc.

L'éruption débute par une angine et associant un exanthème caractéristique par son aspect granité et l'absence d'intervalle de peau saine, une fièvre et un érythème scarlatiniforme, un Enanthème caractéristique avec une langue décapillée et une desquamation très particulière, en doigt de gant aux extrémités. (Floret, 2001). La figure 17 montre l'aspect de la scarlatine.



Figure 17. Desquamation des paumes lors d'une scarlatine streptococcique (A) et Exanthème micropapuleux lors d'une scarlatine streptococcique (B) (Bessis, 2008).

2.3. Le syndrome de choc toxique

Le syndrome de choc toxique (SCT) est une maladie grave et aiguë, potentiellement mortelle, pouvant atteindre les enfants et les femmes durant la menstruation. Les agents responsables sont principalement *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* (SGA).

Le SCT est considéré comme une maladie causée par un superantigène. En effet, Les toxines produites par les staphylocoques ainsi que les streptocoques, peuvent pénétrer la circulation sanguine et activer le système immunitaire, ce qui se traduit par une fièvre, une éruption cutanée, une hypotension, une atteinte multiviscérale et une desquamation (Chang *et al.*, 2005).

Différentes exotoxines sont responsables du SCT. Plus de 90% des SCT menstruels liés à *S. aureus* et 40–60% des SCT non menstruels sont provoqués par la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1), les autres cas sont le plus souvent causés par l'entérotoxine B staphylococcique (SEB) (Schrag *et al.*, 2011).

Chez les enfants de moins de 10 ans, la varicelle constitue un important facteur de risque d'infections invasives à SGA. En effet, environ 15 % des enfants atteints d'une maladie invasive à SGA avaient des antécédents de varicelle au cours du mois précédant leur maladie, et cela était généralement associé à une atteinte des tissus mous. (Blondin *et al.*, 1989)



Figure 18. SCT Streptococcique



Figure 19. SCT Staphylococcique

3. Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (*Candida*-bactéries) dans les infections cutanées

Les microorganismes responsables de la formation des infections polymicrobiennes proviennent de la flore commensale du patient, de l'environnement ou de la microflore exogène transitoire véhiculée par le personnel hospitalier (De Chalvet, 2009). Il en est le cas pour les levures opportunistes appartenant au genre *Candida* et de certaines bactéries pathogènes à Gram positif telles que le Staphylocoque et le Streptocoque (Yang, 2003)

Les *Candida* peuvent cohabiter avec des bactéries. Dans certaines conditions, ces microorganismes sont capables de causer des infections polymicrobiennes et interagir entre eux d'une manière synergique ou inhibitrice, ayant par conséquent un impact sur la pathogenèse ainsi que sur la santé des patients (Wargo *et al.*, 2006).

Les interactions synergiques, comme la co-agrégation et la coadhésion, favorisent généralement la formation d'un biofilm multi-espèces. Plusieurs études ont montré que la protéinase staphylococcique renforce l'adhérence de *C. albicans* à la muqueuse buccale (El-Azizi *et al.*, 2004).

Il a été également montré qu'*in vivo*, *C. albicans* peut stimuler directement la croissance de *S. aureus*, de plus une infection à *Candida* implique des dommages physiques aux tissus, permettant à d'autres microorganismes de pénétrer plus facilement (Carlson, 1983). La synergie peut être aussi métabolique. En effet certaines levures ont la capacité à métaboliser le glucose disponible, ce qui module le pH du milieu et le rend favorable à certaines bactéries

(**Romano et al., 2005**). Les streptocoques par exemple, excrètent le lactate qui peut agir en tant que source de carbone pour la croissance des levures (**Holmes et al., 2006**).

L'interaction Candida-bactérie peut être à l'origine d'une modulation de la résistance aux agents antimicrobiens. C'est le cas de *S. aureus* attaché aux hyphes de *C. albicans* et qui forme ainsi un biofilm mixte plus résistant à la vancomycine (**Harriott et al., 2009**). Et enfin, il a été suggéré que dans les biofilms mixtes à streptocoques oraux et *C. albicans* présents sur des prothèses acryliques, les cellules fongiques peuvent moduler l'action des agents antibactériens et les staphylocoques peuvent affecter l'activité des agents antifongiques (**Jenkinson et al., 2002**).

La diminution de la sensibilité aux antimicrobiens n'est pas liée à un seul mécanisme de résistance, mais à une synergie de plusieurs mécanismes. Certains sont exprimés par les levures et d'autres par les bactéries, ou encore communs aux deux (**Ross, 2010**). Parmi eux on peut citer :

- Le ralentissement de la pénétration des antimicrobiens par la matrice exopolysaccharidique ;
- L'augmentation du transfert génétique dans le biofilm ;
- L'expression des gènes de résistance ;
- La multirésistance médiée par les pompes à efflux ;
- Le comportement multicellulaire permet aux cellules au sein du biofilm d'utiliser efficacement les ressources pour la croissance cellulaire et de fournir une défense collective contre le système immunitaire de l'hôte et les antimicrobiens.

V. La résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Définition

Chez les bactéries pathogènes, la résistance aux antibiotiques peut être définie selon différents critères : microbiologiques, génétiques et cliniques.

Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. Cette dernière va donc dépendre de plusieurs paramètres à savoir la localisation de la bactérie, le dosage et le mode d'administration de l'antibiotique ainsi que de l'état du système immunitaire de l'individu traité.

D'un point de vue microbiologique, une souche est dite résistante lorsqu'elle est cultivée en présence d'une concentration plus élevée de l'antibiotique comparée à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées (**Courvalin et al., 2006**).

Enfin, la définition génétique correspond à la présence de gènes de résistance au sein de la bactérie, détectés par des techniques biophysiques et ou génétiques (**Guillot, 1989**).

2. Les types de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel. On peut distinguer : **La résistance naturelle** et **la résistance acquise**.

2.1. La résistance naturelle aux antibiotiques

C'est un pouvoir naturel, que possèdent certaines bactéries de manière innée. La résistance naturelle est permanente, d'origine chromosomique. Elle est stable et transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire et constitue un marqueur d'identification.

Par exemple : la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à Gram négatif à la vancomycine.

2.2. La résistance acquise aux antibiotiques

C'est une résistance instable, se produisant lorsque les bactéries naturellement sensibles développent des résistances vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Ces modifications existent sous deux types : **la mutation chromosomique spontanée** et **l'acquisition de gènes de résistance**.

La mutation chromosomique spontanée

Comme les bactéries sont extrêmement nombreuses, la mutation aléatoire du chromosome bactérien génère une grande variété de modifications génétiques et constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Ces dernières peuvent ainsi développer des mécanismes de défense contre les antibiotiques.

Par exemple, certaines bactéries ont développé des « pompes » biochimiques capables d'éliminer un antibiotique avant qu'il n'atteigne sa cible, tandis que d'autres ont évolué pour produire des enzymes pour inactiver l'antibiotique.

La résistance due à une mutation, se transmet seulement verticalement (d'une bactérie à sa descendance), et ne se transmet pas horizontalement. (**Andrement et al., 1997**).

✚ L'acquisition de gènes de résistance

Elle consiste en l'acquisition d'un nouveau matériel génétique. Ceci peut se produire par échange direct du matériel chromosomique ou alors, par échange d'éléments génétiques mobiles, il s'agit généralement des plasmides ou des transposons qui sont des séquences mobiles d'ADN qui peuvent se déplacer dans différentes positions du génome (**Costelloe *et al.*, 2010**).

Le transfert peut se faire selon trois mécanismes : **La conjugaison, la transduction et la transformation.**

- **La conjugaison** : Ce mécanisme consiste en un transfert de plasmide d'une bactérie dite « donneuse » à une bactérie dite « réceptrice », par l'intermédiaire d'un pilus. (**Schaechter *et al.*, 1999**)
- **La transduction** : Correspond au transfert du matériel génétique d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un bactériophage. Le virus contenant les gènes de résistances aux antibiotiques infecte une nouvelle bactérie et y introduit ces derniers. (Schaechter M., 1999)
- **La transformation** : Consiste en un échange de matériel génétique chez les bactéries par l'intermédiaire d'un ADN nu. En effet certaines bactéries captent spontanément l'ADN dans le milieu et l'incorporent dans leur génome. (**Schaechter *et al.*, 1999**)

La **figure 20** résume les différents mécanismes de transfert du matériel génétique.

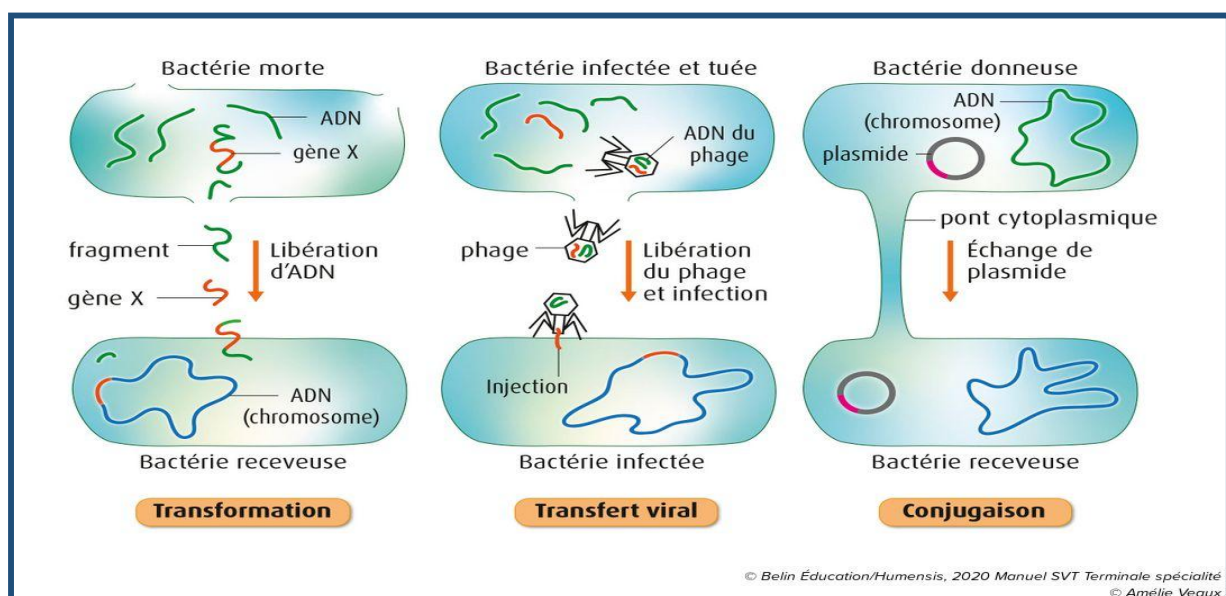


Figure 20. Mécanismes de transfert du matériel génétique.

3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, dont les plus répandus : l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la perméabilité réduite. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits (Courvalin *et al.*, 2006).

3.1. Phénotypes de résistances de *S. aureus* et de *Streptococcus pyogenes*

S. aureus et *S. pyogenes* sont des bactéries qui s'adaptent facilement à leur environnement. En effet, il a été démontré qu'elles disposent d'une habilité unique pour répondre rapidement à chaque nouvel antibiotique avec le développement d'un nouveau mécanisme de résistance vis-à-vis de ce dernier.

3.1.1. La résistance de *S. aureus* par l'inactivation enzymatique et par modification de la cible

✚ La résistance aux Bêtalactamines

Elle est due à la production d'une enzyme extracellulaire appelée pénicillinase (une Bêta-lactamase de classe A), qui hydrolyse la liaison amide du cycle Bêta-lactame de la pénicilline et de l'ampicilline, ce qui aboutit à un composé inactif.

Chez *S. aureus*, la pénicillinase s'exprime en grande quantité après l'introduction de la pénicilline ou d'une structure moléculaire similaire. La production de l'enzyme est codée par le gène *blaZ*. Ce dernier est sous le contrôle de 02 gènes régulateurs *blaI* et *blaRI*, se situant le plus souvent au niveau du plasmide (Zhang *et al.*, 2001).

S. aureus résistant à la méthicilline est dit « SARM ». Ce dernier est très courant dans le domaine clinique, ce qui a conduit à son remplacement par d'autres pénicillines comme l'oxacilline et ses différents dérivés.

Les souches SARM sont multirésistantes. Cela est due à la production d'une protéine supplémentaire se liant à la pénicilline appelé PBP2a, réduisant ainsi l'affinité de la pénicilline et des bêta-lactames en générale. La protéine PBP2a est produit par le gène *mecA*. Ce dernier est régulé par deux gènes régulateurs *mecI* et *mecRI*. (Labandetra-Rey *et al.*, 2007).

La résistance aux aminosides

L'utilisation de l'aminoside permet l'obtention d'une synergie bactéricide avec un inhibiteur de la paroi bactérienne.

La résistance à la kanamycine traduit la présence d'une enzyme inactivatrice aminoglycoside phosphotransférase (3') -III, qui fait perdre la synergie aussi avec l'amikacine.

La résistance à la gentamicine due à la synthèse d'une enzyme bi-fonctionnelle, aminoglycoside acétyltransférase (6') -phosphotransférase (2'') fait perdre la synergie entre les inhibiteurs de synthèse de paroi et tous les aminosides. (Leclercq, 2002)

La résistance aux fluoroquinolones

Les résistances du staphylocoque aux fluoroquinolones sont liées à des mutations dans les cibles, qui sont l'ADN gyrase et la topoisomérase IV bactériennes, impliquées dans la synthèse de l'ADN bactérien. (Leclercq, 2002).

La résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines

La résistance aux macrolides et aux lincosamides résulte de la production d'une enzyme d'origine plasmidique. Cette dernière modifie la cible ribosomale par méthylation. La résistance est croisée entre les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B), d'où son nom de MLSB, car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs.

La résistance MLSB est dite « inductible ». En effet, la méthylase est produite seulement en présence de macrolide inducteur (Leclercq, 2002).

3.1.2. La résistance de *S. pyogenes* par efflux et par modification de la cible

La résistance aux macrolides

Le premier mécanisme de résistance aux macrolides mis en évidence chez SGA était associé à une modification de la cible. Cette dernière est médiée par une méthylase codée par les gènes *erm* dont au moins 12 classes ont été identifiées par hybridation et comparaison des séquences nucléotidiques (Weisblum, 1995). Le gène le plus récemment mis en évidence est le gène *ermA* (*ermTR*) (Sappala *et al.*, 1998).

Le dernier mécanisme de résistance retrouvée est un mécanisme de résistance par efflux. Ce dernier est codé par le gène *mefA*. Celui-là est responsable de la synthèse d'une protéine hydrophobe, comportant une homologie avec une pompe protéique cytoplasmique.

La résistance aux tétracyclines

La résistance à la tétracycline est principalement due à deux gènes *tetM* et *O*. Ces derniers sont portés par des éléments génétiques mobiles (transfert horizontal) et codent pour des méthylases protégeant le ribosome bactérien vis-à-vis des antibiotiques. (**Halpern *et al.*, 2005**).

Matériel et méthodes

1. Présentation de l'étude

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou, durant une période allant du 09 janvier au 15 Février 2023.

Ce travail a pour but d'identifier et de caractériser les bactéries isolées à partir des suppurations cutanées notamment *Staphylococcus aureus* et les streptocoques chez les patients hospitalisés et externes. Il permet également de déterminer le profil de sensibilité de ces bactéries et l'évaluation de leur résistance vis-à-vis des antibiotiques.

2. Matériel

Le tableau suivant présente le matériel, les milieux de culture, ainsi que les réactifs utilisés lors de l'examen cyto bactériologique des prélèvements de pus.

Tableau IV. Matériels utilisés au laboratoire de microbiologie.

Matériels de laboratoire	Verrerie	Milieux de culture	Réactifs	Appareillage
Bec Bunsen ; Jarre ; Poire ; Anse de platine ; Pied à coulisse ; Ecouvillons stériles ; Pince ; Disque d'antibiotique ; Compresse ; Eau de javel.	Tubes à essai ; Pipettes Pasteur ; Lames ; Lamelles.	Gélose au sang frais ; Gélose au sang cuit ; Milieu Chapman ; Milieu Bcp ; milieu Mueller Hinton ; Gélose TSI ; Sabouraud ; Bouillon BGT.	Eau physiologique ; Violet de Gentiane ; Lugol ; Fuscine ; Alcool ; Bleu de méthylène ; Disques oxydase ; H ₂ O ₂ ; Huile a immersion ; Disque ONPG.	Etuve (37°C) ; Microscope optique ; Chambre froide (3°C) ; Vortex ; micropipettes.

3. Méthodes

3.1. Prélèvement

Les prélèvements de pus sont des actes infirmiers ou médicaux effectués sur la base d'une prescription médicale (selon le décret du 11 février 2002 relatif aux actes professionnels et à l'exercice de la profession d'infirmiers) (**Annexe 01**)

3.1.1. Fiche de renseignement

Afin de simplifier le diagnostic bactériologique au niveau du laboratoire, tout prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignement. Cette dernière doit contenir des informations cliniques à savoir : le nom et l'âge du patient, le type d'infection et sa localisation anatomique, la modalité de prélèvement, l'état immunitaire, une atteinte ou non d'une maladie chronique, une éventuelle prise d'antibiotiques ou une corticothérapie ainsi que les circonstances épidémiques amenant la demande (morsure, brûlure...etc).

3.1.2. Conditions de prélèvement

- Le patient ne doit pas être sous antibiothérapie topique ou systémique. Dans le cas où ce dernier est sous traitement, la prise de médicaments doit être arrêtée une semaine avant de réaliser le prélèvement (**Raoul *et al.*, 2018**). Si le prélèvement est réalisé dans le cadre de l'urgence, préciser quel traitement est suivi (**Fiacre *et al.*, 2007**)
- Le prélèvement doit être effectué dans des conditions d'asepsie strictes. En effet, lorsqu'il s'agit d'une suppuration cutanée, le prélèvement doit être précédé d'une déterision au sérum physiologique stérile et d'une asepsie rigoureuse afin d'éviter la contamination de l'échantillon par la flore commensale cutanée (**Denis *et al.*, 2010**)
- L'étiquetage des prélèvements est obligatoire.
- Les délais d'acheminement doivent être respectés.
- Certains prélèvements notamment ceux réalisés par écouvillonnage doivent être accompagnés d'un milieu de transport (**Denis *et al.*, 2010**)

3.1.3. Mode de prélèvement

Lorsqu'il s'agit d'une infection cutanée, le prélèvement du pus consiste en deux étapes principales : **Le nettoyage de la zone infectée et l'écouvillonnage simple.**

✚ Le nettoyage de la zone infectée

Avant tout prélèvement, la zone purulente subit un débridement mécanique au moyen d'une curette ou d'un scalpel stérile, puis un nettoyage qui doit être réalisé avec une gaze imbibée du sérum physiologique stérile (ARISTA, 2011).

✚ Ecouvillonnage simple

Après préparation préalable de la plaie, les traces purulentes sont repérées et prélevées. Dans le cas où elles sont absentes le prélèvement doit être effectué en profondeur en écartant les berges.



Figure 21. Ecouvillon stérile utilisé pour le prélèvement nasal ou cutané.

3.2. Transport

Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire dans un délai maximal de 2 heures à température ambiante dans des sacs hermétiques pour maintenir la charge microbienne initiale de l'échantillon, et éviter la mort des bactéries pathogènes fragiles (Zidani et al., 2019).

La qualité du diagnostic dépend des conditions de transport et de conservation du prélèvement. C'est pour cela, tout ce qui peut compromettre celles-ci doit être évité (Vandepitte et al., 1994).

3.3. Examen cyto bactériologique du pus

3.3.1. Examen macroscopique du prélèvement

L'aspect macroscopique de l'échantillon constitue une information importante et une clé qui pourrait éventuellement orienter le diagnostic. Dans le cas d'un prélèvement de pus les paramètres à prendre en considération sont : la couleur, l'odeur, la viscosité.

La couleur du pus peut varier du jaune-vert au rouge brun (correspond à la présence de sang), certain pus sont verdâtres ou bleutés (**Figure 22** et la **figure 23**) Ce paramètre peut être directement lié à la présence d'une bactérie spécifique, par exemple la couleur verdâtre indiquant la présence de *Pseudomonas*. L'odeur quant à elle, implique une infection anaérobie ou mixte aéro-anaérobie (**Vandepitte et al., 1994**) ; (**Boussena, 2020**).



Figure 22. Un prélèvement hémorragique.



Figure 23. Un prélèvement purulent

3.3.2. Examen microscopique-cytologique

A. Examen direct à l'état frais

Cet examen est une étape clé dans la démarche diagnostique des infections bactériennes. Elle consiste à déposer une goutte d'eau physiologique sur une lame puis frotter quelques secondes l'écouvillon à analyser et enfin recouvrir avec une lamelle. Observer ensuite au microscope optique grossissement $\times 40$. Cet examen a pour but :

- D'apprécier la mobilité, la morphologie des cellules bactériennes ;
- De faire une étude qualitative et quantitative des cellules d'accompagnement notamment les cellules épithéliales, polynucléaire (PN) et des lymphocytes. Leur présence sera évaluée en : très rares, rares, quelques, nombreux, très nombreux ;
- D'apprécier l'état des cellules (PN, hématies, levures) : Intactes ou altérées.

Les résultats de l'examen des différents prélèvements sont dans **l'annexe 02**.

B. Examen direct après coloration

Afin de mieux visualiser les bactéries et avoir plus d'indications sur leur Gram, leur taille, leur forme ainsi que leur agencement, on procède souvent à la réalisation d'un frottis à partir du prélèvement. Le frottis sera soumis aux colorations suivantes :

➤ Coloration de Gram

La coloration de Gram ou encore la coloration double est une coloration différentielle reposant sur les caractéristiques et les propriétés de la paroi (**Denis *et al.*, 2016**). Elle met en évidence la morphologie ainsi que l'arrangement des cellules bactériennes.

Les cellules réagissent à la coloration de deux façons et forment deux groupes :

- Les bactéries à Gram-négatif : les lipides de la paroi bactérienne se dissolvent rapidement rendant celle-ci poreuse, provoquant ainsi la décoloration du cytoplasme.
- Les bactéries à Gram-positif : Conservent leur coloration violette, l'éthanol ne décolore pas la cellule car la paroi est riche en peptidoglycane.

Les facteurs principaux qui interviennent dans cette coloration sont :

- La différence de composition chimique des parois bactériennes dont dépendent également les liaisons ioniques entre les groupements basiques du colorant et les groupements acides de la cellule, et la nature du mucocomplexe.
- La différence de perméabilité de la paroi à l'alcool liée à la variation dans la structure et par conséquent la dissolution plus au moins rapide du complexe formé (**Guelzane-Tebibel *et al.*, 2014**). Le protocole ainsi que la lecture de la coloration de Gram se trouve en **annexe 04**.

➤ Coloration May-Grünwald-Giemsa

Lorsqu'une réaction leucocytaire associée est observée lors de l'examen direct à l'état frais, on procède directement à une coloration au bleu de méthylène ou à la coloration de May-Grünwald-Giemsa afin d'apprécier la présence des leucocytes.

Le principe de la coloration MGG est fondé sur l'action combinée de deux colorants neutres :

- May-Grünwald, contenant un colorant acide dit « L'éosine », et un colorant basique « Le bleu de méthylène »
- Le Giemsa, contient également l'éosine, ainsi qu'un colorant basique « l'azur de méthylène »

En fonction de l'affinité entre les cellules et les colorants acides ou basiques, les composants cellulaires seront colorés différemment. En effet, Le May-Grünwald colore les éléments acidophiles ainsi que les granulations neutrophiles des leucocytes, quant au Giemsa, il colore le cytoplasme des monocytes, des lymphocytes et la chromatine des noyaux (SFCC et AFAQAP, 2015). Le protocole ainsi que la lecture de la coloration MGG se trouve en **annexe 04**.

3.4. La culture

3.4.1. Ensemencement

Une fois le prélèvement déposé au laboratoire, il est immédiatement pris en charge afin de garantir la fiabilité du diagnostic.

Les écouvillons sont d'abord imbibés avec quelques gouttes d'un bouillon BHIB afin de revivifier les germes qui y sont présents et de les remettre en suspension. Un ensemencement par quadrant est ensuite réalisé sur différents milieux sélectifs et enrichis dans le but d'identifier les bactéries responsables de l'infection.

Les milieux utilisés sont :

- Gélose au sang frais (GSF).
- Gélose au sang cuit (GSC).
- Milieu Chapman.
- Milieu d'enrichissement (BGT, Schaedler, cœur cerveau...etc).
- Sabouraud chloramphénicol. (**Figure 24**)



Figure 24. Milieux de culture utilisés

Les milieux sont ensuite incubés 37°C pendant 24h. Si après incubation, il n'y a aucune pousse de colonies, les boîtes sont remises à l'étuve afin de donner plus de chance aux germes de se développer. Si après 48h d'incubation les boîtes sont toujours négatives, un autre ensemencement sur milieux neufs est réalisé à partir du bouillon d'enrichissement trouble.

La composition des milieux de cultures ainsi que les colorants se trouvent dans l'**annexe 02**.

3.5. Identification

L'identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre bien déterminé ; les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards à savoir la coloration de Gram, la catalase et test de coagulase et l'Api 20. Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation vers les étapes ultérieures (Cosgrove *et al.*, 2003).

3.5.1. Aspect des colonies

- **Le genre Staphylococcaceae**

Sur le milieu Chapman, les colonies de *S. aureus* sont jaunâtres, accompagnées d'un virage de la couleur du milieu au jaune dû à la fermentation du mannitol contenu dans celui-ci. Les autres staphylocoques ne fermentant pas le mannitol donnent des colonies blanchâtres.

Deux à trois colonies sont ensuite prélevées pour faire l'objet d'un examen direct à l'état frais et d'une coloration de Gram. Sous microscope optique, le Staphylocoque apparaît sous forme de Cocci, regroupée en amas (grappe de raisin).

- **Le genre Streptococcaceae**

Sur gélose au sang, les colonies de Streptocoque sont petites, grisâtres, entourées d'une large zone d'hémolyse totale, transparente (bêta-hémolyse) ou partielle et verdâtre (alpha-hémolytique).

Deux à trois colonies sont ensuite prélevées à l'aide d'une anse de platine pour faire l'objet d'un examen direct à l'état frais et d'une coloration de Gram. Sous microscope optique, les streptocoques apparaissent sous forme de cocci regroupés en chaînettes plus ou moins longues.

- **Identification des levures**

Sur le milieu Sabouraud chloramphénicol, les colonies du genre *Candida* sont petites, blanchâtres et crémeuses.

Deux à trois colonies sont ensuite prélevées à l'aide d'une anse de platine pour faire l'objet d'un examen direct à l'état frais et d'un test de filamentation. Sous microscope optique, *Candida* présente une structure végétative (thalle), composé de spores arrondies ou allongées (blastospores) de taille variable (3,5 à 6 × 6 à 10 µm) (Sudebery *et al.*, 2004).

Test de filamentation

Lorsque la culture sur le milieu Sabouraud au chloramphénicol est positive, un test dit test de filamentation est réalisé. Ce dernier est réalisé dans le but de mettre en évidence la présence des bourgeons filamenteux (pseudo-mycélium) caractérisant une *Candida albicans*, leur absence qualifie une *Candida* spp.

Pour se faire Prélever une colonie de levure et l'additionner au milieu plasma citrate humaine dans un tube à hémolyse, laissé incubé 3h à 37°C, puis la suspension est examinée entre lame et lamelle au grossissement (GX400).

3.5.2. Identification biochimique des staphylocoques et des streptocoques

La démarche de l'identification biochimique est résumée dans l'organigramme suivant :

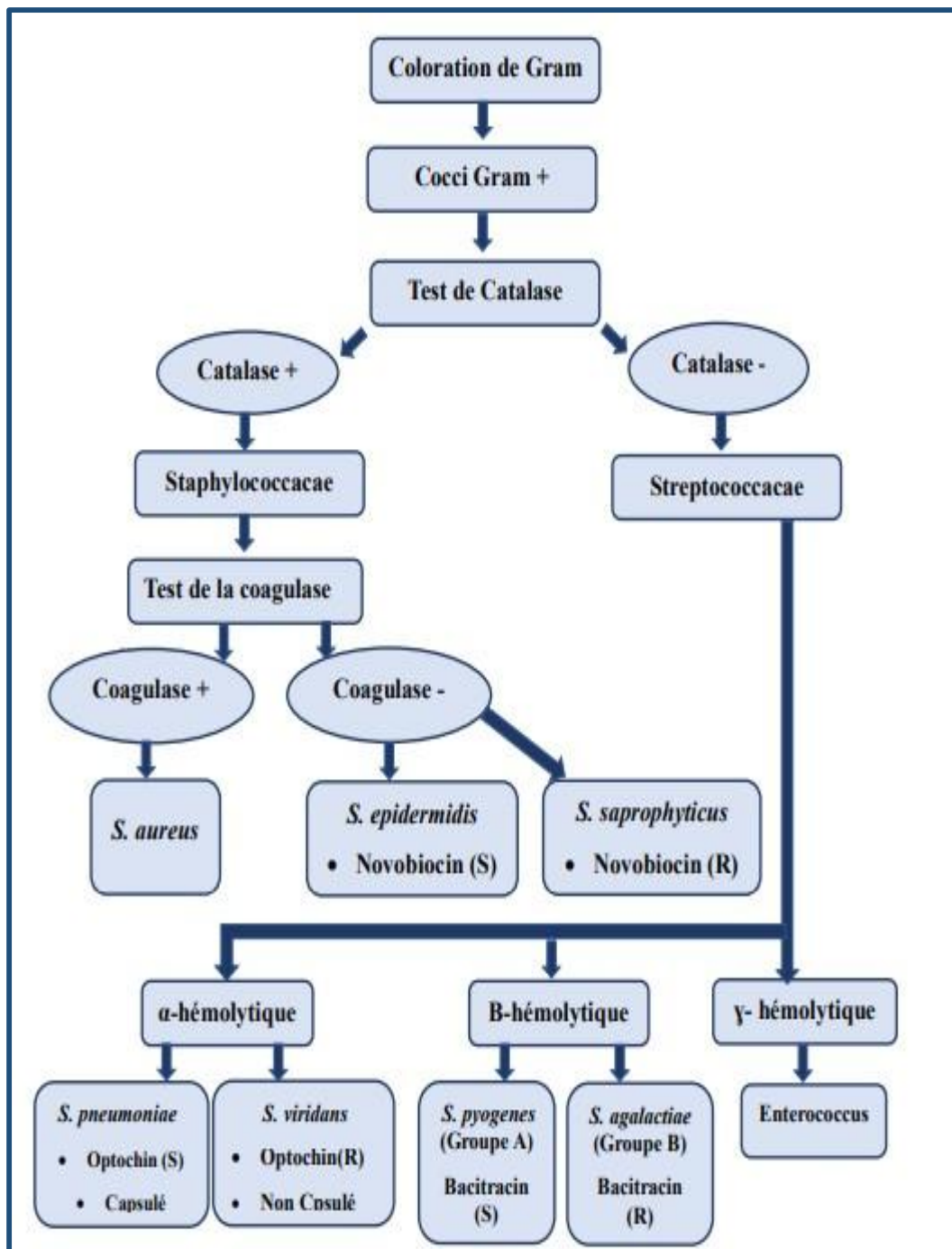


Figure 25. Organigramme d'identification des Staphylocoques et des Streptocoques

Recherche de la catalase

La catalase est enzyme tétramérique antioxydante, produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire (aérobies strictes et aéroanaérobies facultatives). La détection de la présence de celle-ci chez les bactéries constitue une étape importante afin de différencier les *Staphylococcaceae* à catalase-positives des *Streptococcaceae* à catalase-négative.

Principe

La catalase a la capacité de neutraliser les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène et le catalyser alors en eau et en oxygène moléculaire (Xiangyang *et al.*, 2017). Selon la réaction suivante :



Technique

Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée, puis à l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter et étaler l'inoculum bactérien (Boussena, 2020)

Lecture

- Apparition d'une effervescence implique que le test est positif (La bactérie est Catalase+).
- Absence d'effervescence implique que le test est négatif (La bactérie est Catalase-).

Recherche de la coagulase

Principe

La coagulase libre est une exo-enzyme provoquant la coagulation du plasma. En effet, elle réagit avec un facteur plasmatique de globuline appelé prothrombine pour former un complexe dit staphylothrombine. Ce dernier va à son tour transformer le fibrinogène en fibrine.

Ce test est effectué dans le but de différencier *Staphylococcus aureus* des autres espèces du genre staphylocoques qui en sont dépourvues.

Technique

Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma humain oxalaté + 0,5 ml d'une culture de 18 h en bouillon cœur cerveau de la souche à étudier. Placer le mélange à 37°C.

Lecture

Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures, la formation de caillots au bout de 4 heures indique la présence de cette enzyme (Boussena, 2020).

- **La galerie Api**

C'est un système standardisé permettant l'identification rapide des microorganismes. Elle comporte des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présentée dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

Galerie Api® STAPH

Principe

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Ces derniers sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (Eteme, 2019)

Galerie Api® STREPT

Principe

La galerie API 20 STRPT comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests de fermentation sont inoculés

avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Jaimes, 2020**)

3.6. Antibiogramme

On réalise l'antibiogramme grâce à la technique de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton, afin de déterminer le profil de résistance et de sensibilité des bactéries, et de les transmettre au médecin (**GHEIT, 2011**).

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes. Elle s'effectue sur milieu solide : la gélose Mueller-Hinton (MH) (**CA-SFM, 2013**).

➤ Préparation et standardisation de l'inoculum

D'abord, Réaliser une suspension bactérienne. Pour ce faire, à partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié – le milieu Chapman pour les staphylocoques et la gélose au sang cuit pour les streptocoques - prélever 4 à 5 colonies, puis les mettre en suspension dans de l'eau physiologique.

Ensuite, la suspension bactérienne est standardisée. A l'aide d'un spectrophotomètre mesurer la densité optique de l'inoculum et l'ajuster. En fonction de la concentration obtenue, ajouter soit des colonies bactériennes ou de l'eau physiologique stérile.

La densité optique de l'inoculum doit être comprise entre 0.08 et 0.1 à 625 nm équivalente à 10^8 UFC /ml (0,5 Mc Farland) (**CA-SFM, 2013**).

➤ Ensemencement

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum. Il est réalisé par écouvillonnage ou par inondation. Les étapes sont comme suit :

- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon contre la paroi du tube ;

- Ecouillonner la totalité de la surface de la gélose dans trois directions, en tournant la boîte d'environ 60°C, afin d'assurer une distribution uniforme. Remettre à chaque fois l'écouvillon dans suspension pour ensemercer toutes les boîtes ;
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

➤ Dépôt des disques d'antibiotiques

Déposer les disques à la surface de la gélose ensemencée. Une fois déposés, les disques ne doivent pas être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide. Le nombre de disques déposés par boîte est limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques (6 à 7 sur boîte de 9 cm de diamètre) (CA-SFM, 2013)

La liste des antibiotiques utilisés pour les différentes espèces bactériennes isolées des suppurations se trouve dans l'**annexe 05**

➤ Incubation

Les boîtes sont laissées à température ambiante pendant 15 minutes. Ces dernières sont ensuite incubées pendant 16-24 heures à 35±2°C en aérobiose (CA-SFM, 2013).

➤ Lecture

La lecture des antibiogrammes se fait par la mesure précise des diamètres des zones d'inhibition avec un pied à coulisse. Ces mesures sont ensuite comparées à des diamètres des concentrations critiques inférieure et supérieure.

Aux regards des diamètres critiques, les bactéries sont considérées comme suit :

- Sensibles (S) : Si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur au diamètre critique Supérieur (D).
- Résistantes (R) : Si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur au diamètre critique Inférieur (d).
- Intermédiaire (I) : si le diamètre mesuré est égal au diamètre critique (CA-SFM, 2020)

Le tableau des valeurs critiques, diamètres, et zones d'inhibitions des *Streptococcus spp* et de *Staphylococcus aureus* dans l'**annexe 06 et 07**.

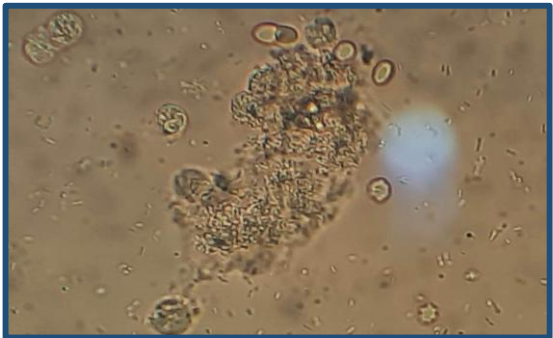
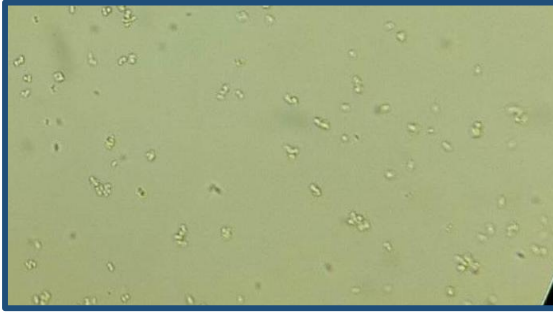
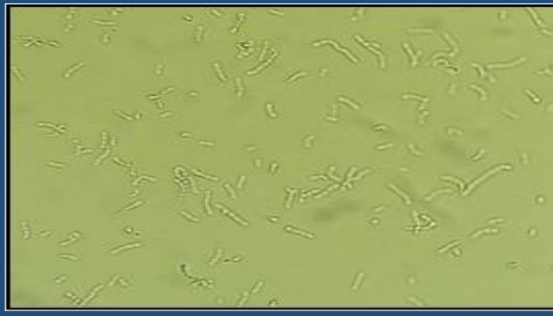
Résultats et discussion

Partie I : Résultats des examens cytologiques

1. Examen direct à l'état frais

Les résultats de l'examen direct à l'état frais des différents germes isolés des pus des différents malades sont présentés dans l'**annexe 03**. Le **Tableau V** montre l'examen direct d'un prélèvement de pus, ainsi qu'une observation du Staphylocoque, Streptocoque et des levures à l'état frais. L'observation de fait au microscope optique au grossissement $\times 40$.

Tableau V. Les différentes observations à l'état frais.

	Observation	Photos
Prélèvement d'un pus cutané	Evaluation de : <ul style="list-style-type: none"> • Présence de germes (Bacilles/cocci) et des levures. • Présence d'hématies. • Présence de leucocytes. • Présence de cellules épithéliales. 	
Staphylocoque	A l'état frais, les cellules d'un Staphylocoque apparaissent sous forme de cocci de 0,8 à 1 μm de diamètre, immobiles, regroupées en diplocoque ou en grappe de raisin.	
Streptocoque	Les streptocoques présentent des cellules sous forme de cocci de 0,5 à 1 μm de diamètre, immobiles et regroupées en diplocoque ou en chaînettes de taille variable.	

2. Isolement et identification

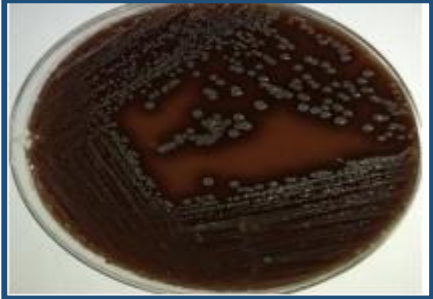

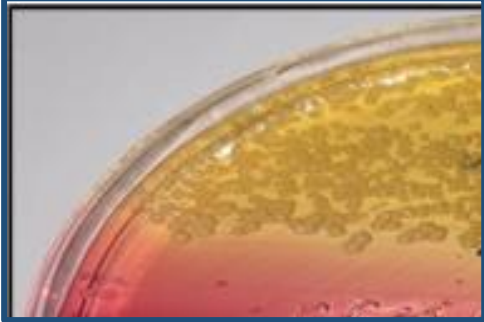
Les souches ont été identifiées sur la base de différents tests : coloration de Gram, test de la catalase et le test de la coagulase... etc.

2.1. Aspect des colonies

L'aspect des différentes des colonies de *Staphylococcus aureus* est présenté dans le

Tableau VI.

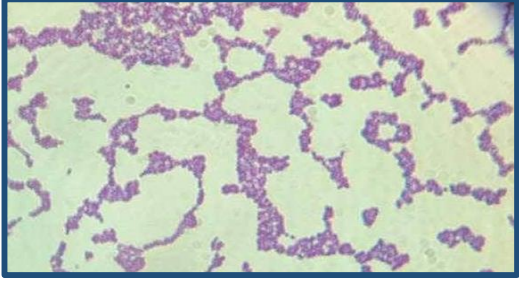

Tableau VI. Aspect de *Staphylococcus aureus* sur différents milieux

Milieux de culture	Aspect des colonies	Photos
Gélose au sang cuit (GSC)	Les colonies de <i>S. aureus</i> sont circulaires, volumineuses, opaques éventuellement pigmentées et légèrement bombées ou aplaties, elles présentent une surface luisante et humide.	
Gélose au sang frais (GSF)	Les colonies sont pigmentées (crème / gris-blanc avec une teinte jaunâtre allant du jaune à l'orange), lisse et légèrement surélevée, entourée d'une zone claire d'hémolyse (β -hémolyse)	
Milieu Chapman	<i>S. aureus</i> produisent des colonies jaunâtres accompagnés d'un virage de couleur du milieu dû à la fermentation du mannitol. Les autres staphylocoques dépourvus de cette caractéristique sont dits staphylocoques blancs.	

2.2. Examen après coloration de Gram

Le **Tableau VII** montre l'aspect des cellules de Staphylocoque et de Streptocoque après coloration de Gram. L'observation se fait au microscope optique au grossissement $\times 100$.

Tableau VII. Observation de Staphylocoque et Streptocoque après coloration de Gram.

Germes	Observation	Photos
<p>Staphylocoque</p>	<p>Elles apparaissent sous forme de cocci, Gram positif, sphériques de 0.8 à 1 μm de diamètre, regroupés en diplocoque ou en amas, ou sous forme de grappe de raisin. Elles sont immobiles.</p>	 <p>Observation au grossissement $\times 100$</p>
<p>Streptocoque</p>	<p>Elles apparaissent sous forme de cocci, Gram positif, sphériques de 0.5 à 1 μm de diamètre, regroupés en diplocoque ou en chainettes. Elles sont immobiles.</p>	 <p>Observation au grossissement $\times 100$</p>

2.3. Test de la catalase

La présence d'une catalase se traduit par l'observation d'une effervescence. Ce test permet de différencier les Staphylocoques (catalase +) des Streptocoques (catalase -) et intervient aussi dans le mécanisme de résistance à la bactéricide. La **figure 26** montre le résultat positif et négatif de test de la catalase.

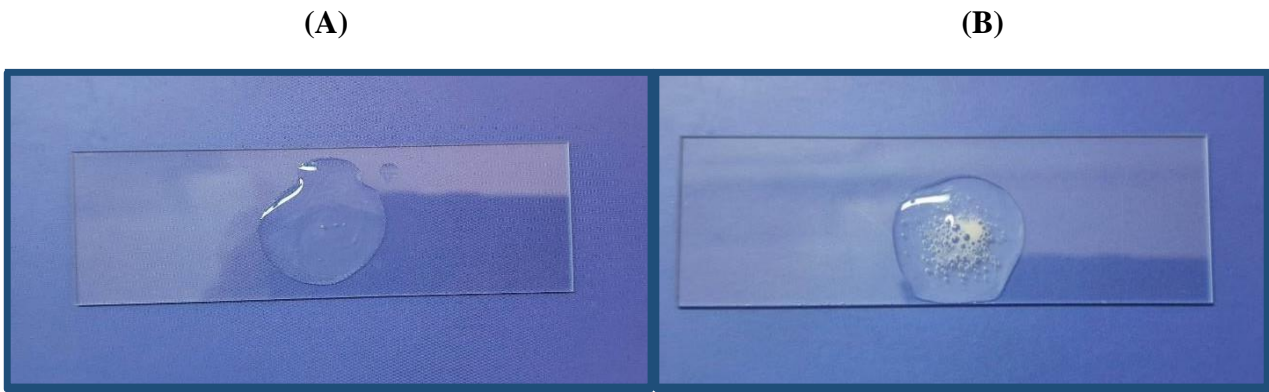


Figure 26. Test de la catalase. (A) :test négatif. (B) :test positif

2.4. Test de la coagulase

Le test de la coagulase est positif chez les *Staphylococcus aureus* isolées. Il permet de différencier *S. aureus* des autres Staphylocoques (Staphylocoques blancs). Le résultat positif de teste de coagulase est présenté dans la **figure 27**.

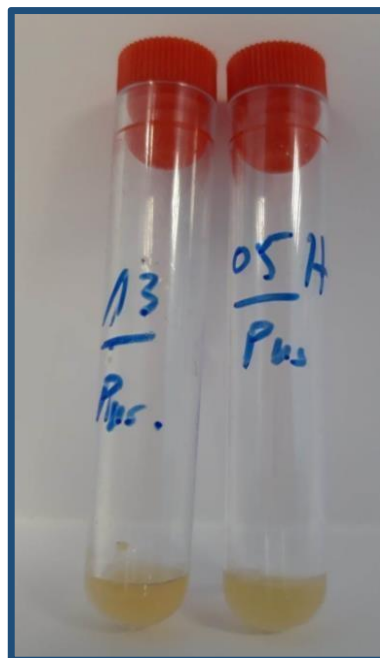


Figure 27. Test positif de la coagulase.

2.5. Identification biochimique par le système API

Le système API® STAPH (Bio Mérieux) et API® STREPT ont permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des espèces qui appartiennent au genre *Staphylococcus* et *Streptococcus*. Le **Tableau VIII** et le **Tableau IX** regroupent les caractères biochimiques de staphylocoque et streptocoque.

La **figure 28** et la **figure 29** montrent des résultats positifs d'une API 20 STAPH et d'une API 20 STREPT.

Tableau VIII. Caractères biochimiques communs des souches de *S. aureus*

Espèce	Caractères biochimiques										
<i>S. aureus</i>	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
	VP	RF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	Coagulase	Catalase	Oxydase
	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-



Figure 28. Résultat positif d'une API 20 STAPH

Tableau IX. Caractères biochimiques communs des souches de *Streptococcus spp*

Espèces	Caractères biochimiques									
<i>Streptococcus spp</i>	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYC
	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+



Figure 29. Résultat positif d'une API 20 STREPT

2.6 Identification des levures (test de filamentation)

Un bouillon blastèse (sérum) est ensemencé à partir d'une colonie suspecte. Après 3 heures d'incubation à 37°C on effectue un montage d'état frais afin de rechercher des tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans*. (Figure 31)

La figure 30 présente une culture positive sur le milieu Sabouraud chloramphénicol.



Figure 30. Aspect des colonies de *Candida* sur le milieu Sabouraud

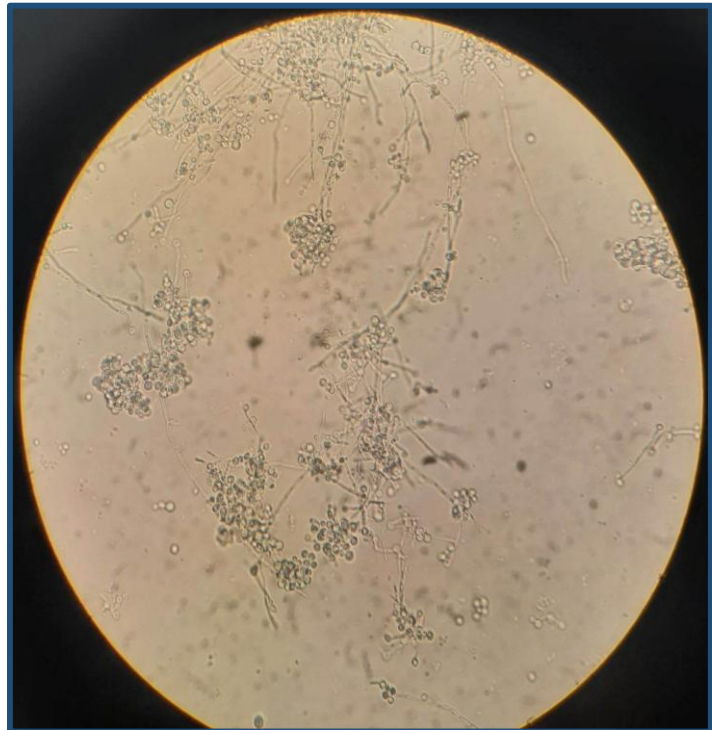


Figure 31. *Candida albicans* après test de filamentation

Partie II : Résultats de l'analyse statistique

1. Données épidémiologiques

Durant notre période de stage au CHU de Tizi-Ouzou, 33 prélèvements pus ont été récoltés.

1.1. Taux de positivité

Parmi les 33 prélèvements de pus récoltés 26 cas furent positifs soit un pourcentage de 78.79% contre 7 cas négatifs soit un pourcentage de 21.21% (Figure 32).

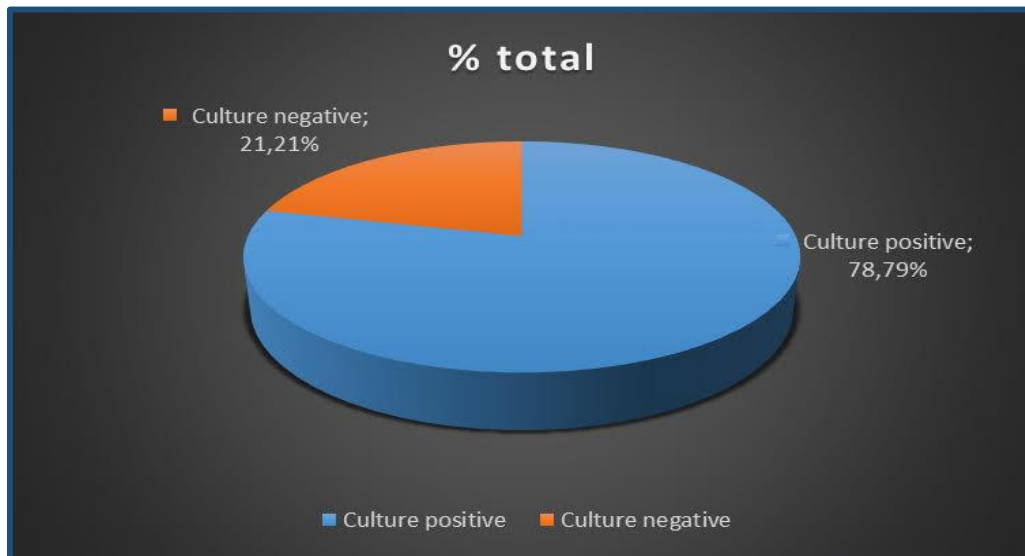


Figure 32. Taux de positivité et de négativité des cultures.

1.2. Répartition des prélèvements positifs

1.2.1. Selon le service

Le taux des patients varie selon le service d'admission. Le taux le plus élevé est enregistré au niveau de service infectieux avec un pourcentage de 26,92%, suivie du service de pédiatrie avec un pourcentage de 23,08%. Un pourcentage compris entre 11% et 16% pour le service d'urgence de médecine et réanimation chirurgicale. Par contre, les autres services marquent un pourcentage faible inférieur à 10% (**Figure 33**).

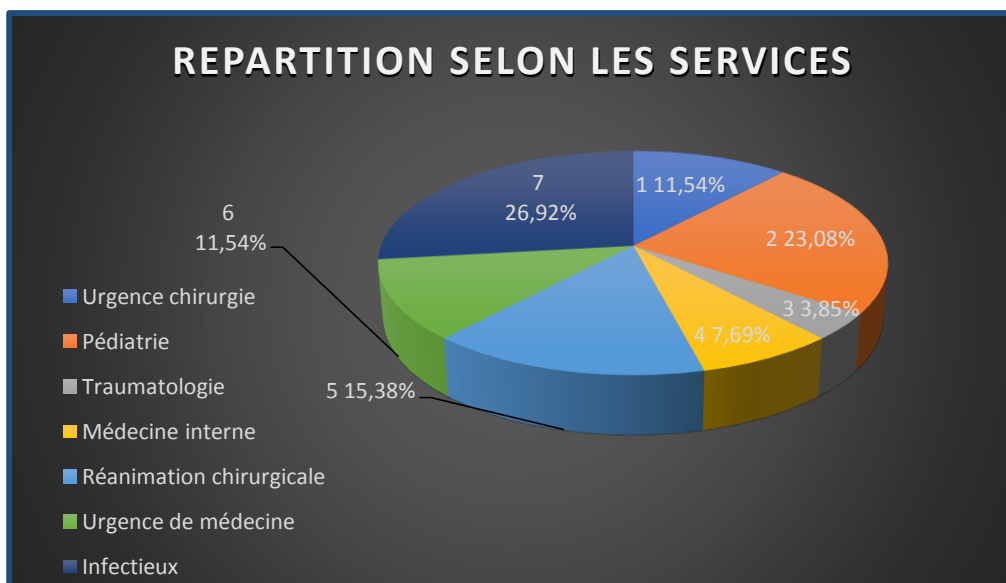


Figure 33. Répartition des patients selon les services.

1.2.2. Selon le sexe

Sur les 33 patients prélevés, un taux de 46,15% est de sexe masculin contre un pourcentage de 53,85% de sexe féminin (**Tableau X**).

Tableau X. Répartition des patients selon le sexe.

Sexe des patients	Nombre	Pourcentage (%)
Hommes	12	46,15%
Femmes	14	53,85%
Total	26	100%

1.2.3. Selon la tranche d'âge

Il a été constaté que le taux d'infections suppuratives cutanées est plus élevé chez les adultes que chez les enfants. En effet, sur les 26 cas positifs recensés, 20 cas proviennent d'adultes, soit un pourcentage de 76,92% contre 06 cas seulement issus d'enfants, soit un pourcentage de 23,08%. La population étudiée est donc en majorité adulte (**Tableau XI**).

Tableau XI. Répartition des patients selon la tranche d'âge.

Agés des patients	Nombre	Pourcentage (%)
Enfants	6	23,08%
Adultes	20	76,92%
Total	26	100%

2. Données bactériologiques

Le nombre de germes isolés est de 29 sur 26 prélèvements purulents positifs récoltés.

2.1. Répartition selon le genre

Les Staphylocoques est le genre le plus isolé des suppurations cutanées superficielles et ce avec un taux de 60,87%, suivi des Streptocoques avec un pourcentage de 26,09%. Enfin, les entérobactéries ne dépassent pas un pourcentage de 13,04% (**Figure 34**).

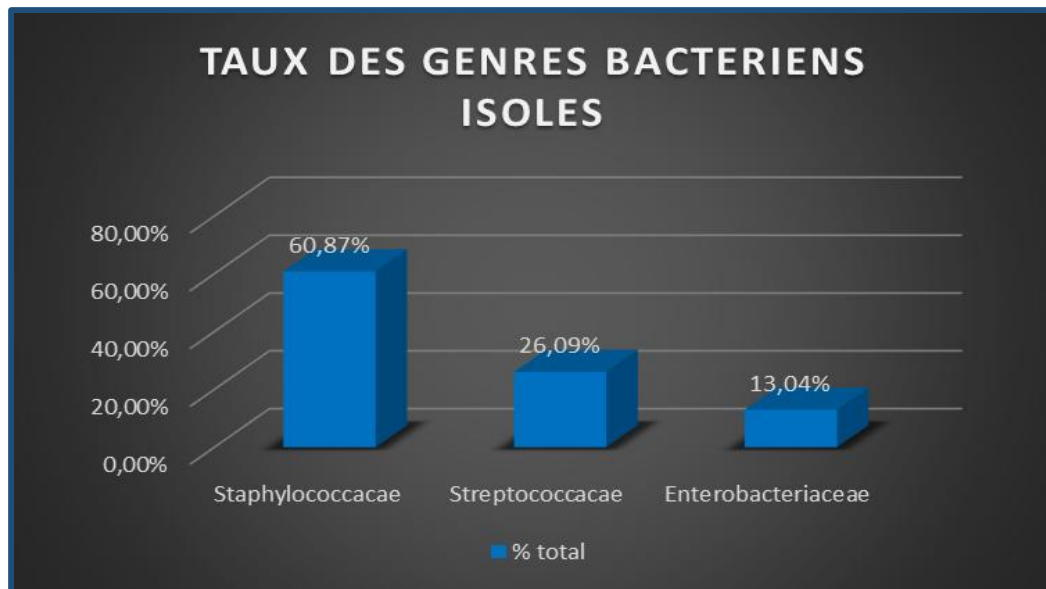


Figure 34. Fréquence des bactéries isolées selon le genre bactérien.

2.2. Répartition selon l'espèce

Parmi les 23 souches isolées, une prédominance de *S. aureus* a été évaluée avec un taux de 30,43%, suivie de *Streptococcus spp* et des SARM avec un pourcentage de 26,09% chacun.

Escherichia coli et les staphylocoques à coagulase négative ont tous les deux un taux bas comparé aux autres, avec des pourcentages respectifs de 13,04% et 4,35%. (Figure 35).

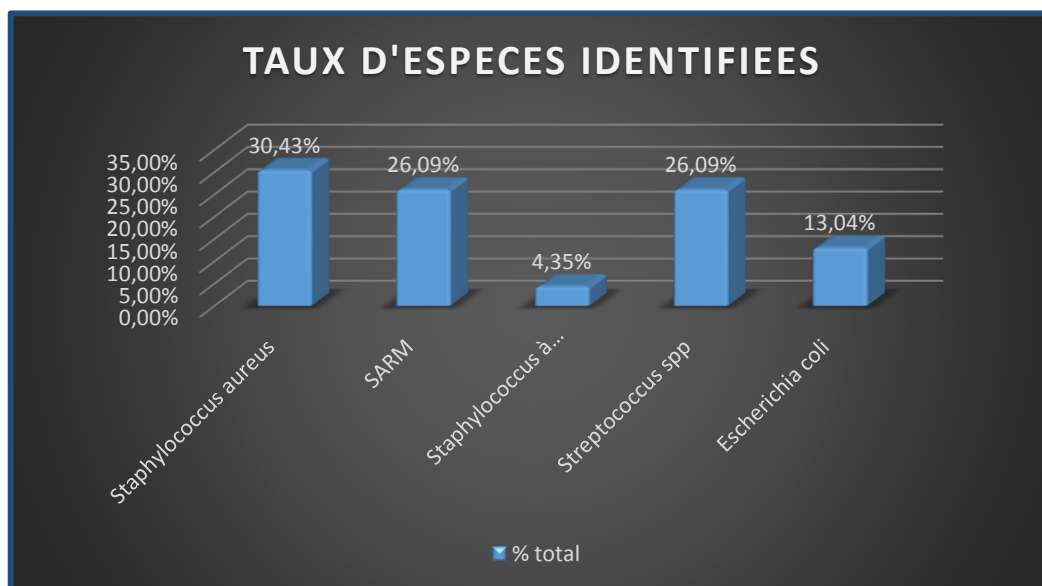


Figure 35. Taux des espèces bactériennes isolées à partir des suppurations superficielles.

2.3. Profil de sensibilité aux antibiotiques

2.3.1. *Streptococcus spp*

Le tableau représentant les résultats des antibiogrammes est retrouvé en **annexe 08**.

2.3.1.1. Fréquence de résistances et de sensibilités de *Streptococcus spp* isolé des suppurations superficielles

Les résultats ont montrés que les *Streptococcus spp* présentent une forte résistance à la Doxycycline ainsi qu'à la Rifampicine avec des taux respectifs de 30,77% et 23,08%. Et une résistance moyenne de 15.38% vis-à-vis de l'Erythromycine et Chloramphénicol.

Les *Streptococcus spp* présentent également une sensibilité importante vis-à-vis de la Vancomycine et de la Lévofoxacine avec un pourcentage de 17,86% (**Figure 36**).

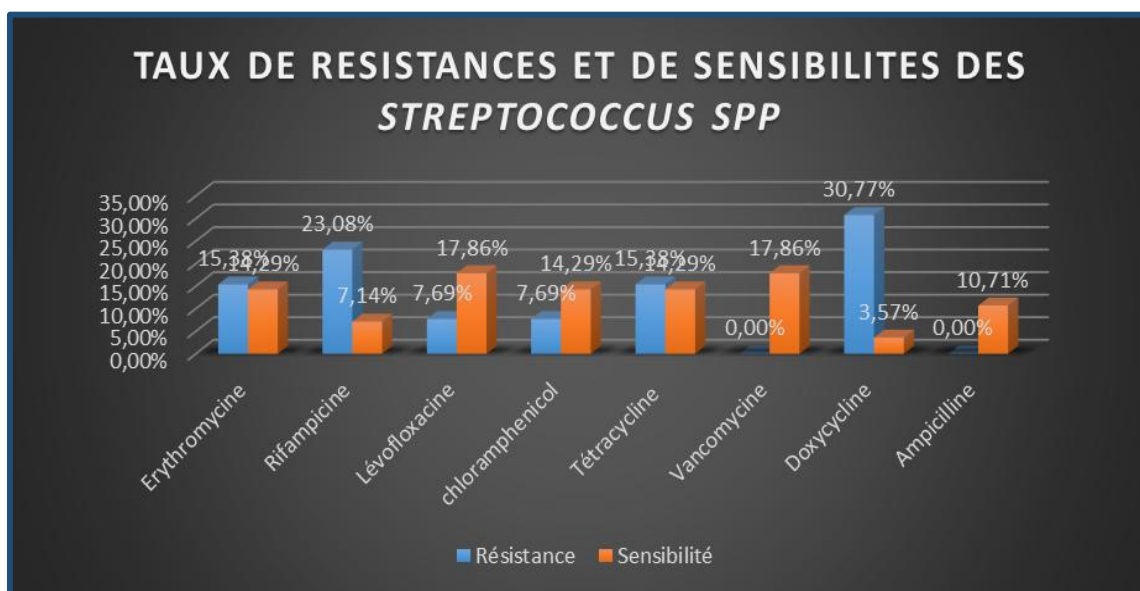


Figure 36. Taux de résistances et de sensibilités de *Streptococcus spp*.

2.3.2. *Staphylococcus aureus*

Le tableau représentant les résultats des antibiogrammes des patients positifs à *Staphylococcus aureus* sont retrouvés en **annexe 09**.

2.3.2.1. Fréquence de résistances et de sensibilités de *S. aureus* isolé des suppurations superficielles

Les résultats ont montrés que *S. aureus* présente une forte résistance à l'Amikacine ainsi qu'à la Céfoxitine avec des taux respectifs de 20,00% et 24,00%. De plus une résistance à la Gentamicine a été estimée à 16,67%

S. aureus présente également une sensibilité importante vis-à-vis de la Triméthoprim + Sulfaméthoxazole et de la Rifampicine avec des pourcentages respectifs de 20,37% et 18,52% (Figure 37).

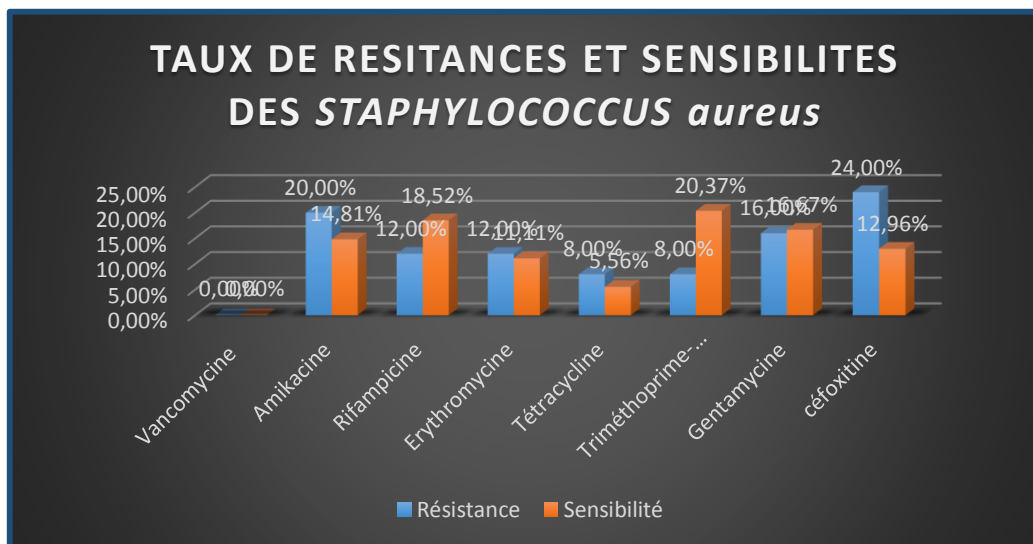


Figure 37. Taux de résistances et de sensibilités de *Staphylococcus aureus*

Partie III : Discussion

Les bactéries responsables d'infections cutanées peuvent avoir un mécanisme suppuratif (atteinte cutanée liée à la multiplication bactérienne directement responsable de l'atteinte tissulaire) et/ou toxique (atteinte cutanée liée à la production par la bactérie d'une toxine agissant au niveau de la peau). Elles peuvent être à l'origine d'une infection primaire ou secondaire provoquant des surinfections notamment des plaies post opératoire, brûlures, escarres...etc. Ces pathologies s'avèrent donc mortelles et nécessitent un suivi particulier à l'hôpital. Notre étude effectuée au niveau du laboratoire microbiologie du CHU Tizi-Ouzou (Nedir Mohamed), entre le 09 janvier et 15 Février 2023, nous a permis d'une part, d'isoler et d'identifier ces bactéries et d'une autre part, d'évaluer leur prévalence ainsi que leur comportement vis-à-vis des antibiotiques.

I. Analyse épidémiologique

Dans cette étude, 33 prélèvements purulents ont été récoltés, dont 26 sont positifs représentant un pourcentage de 78,79%, contre 7 prélèvements négatifs soit 21,21%.

En comparant nos résultats avec d'autres études menées dans différents pays du monde, ceux-ci ont rapporté qu'en Afrique subsaharienne précisément au Nigeria, on compte 322 prélèvements avec un taux d'infection positif d'environ 23,6% dans les différents services hospitaliers (Ameh *et al.*, 2009), au Mali sur 352 prélèvements on a 12,2% qui sont positifs (Togo *et al.*, 2011) et selon les différentes études menées en France, il y a environ 5% des patients qui séjournent à l'hôpital pour une infection cutanées (Lucet, 2017).

Selon le service, le sexe et l'âge

Les prélèvements récoltés ont été répartis selon les services. Ils proviennent majoritairement du service infectieux et du service de pédiatrie avec des taux respectifs de 26,92% et 23,08%.

Pour la répartition selon le sexe et la tranche d'âge, il a été déduit que les femmes sont plus touchées par les infections cutanées avec un pourcentage de 53,85%. Concernant la tranche d'âge, le pourcentage des prélèvements positifs des adultes est largement élevé à celui estimée pour les enfants.

En comparaison avec les résultats constatés aux hôpitaux français, les enfants de moins de 18 ans et les personnes âgées de plus de 65 ans sont les plus touchés par les infections cutanées (Lucet, 2017). De plus, selon les résultats au niveau du service d'Epidémiologie et Médecine préventive du CHU de Tizi-Ouzou en 2012, la moyenne d'âge la plus touchée est de 39 ans (Service d'Epidémiologie et Médecine Préventive, 2013).

II. Analyse bactériologique

Selon les résultats, les bactéries à Gram positif restent les germes les plus identifiés dans les infections suppuratives cutanées, notamment *Staphylococcus aureus* et les streptocoques. Ces derniers sont fréquemment présents dans la flore commensale de la peau et peuvent sous certaines conditions devenir pathogènes et être responsables de nombreuses infections communautaires ou nosocomiales, lésant ainsi les plaies opératoires ou les matériels *prothétiques*. Grace à leur facteur de virulence notamment la paroi qui est riche en muréine (l'un des composants majeurs de la paroi de Gram +), qui attire de manière excessive

les polynucléaires conduisant à une inflammation, ce qui se traduit par une infection localisée et en réponse l'organisme produit une quantité très importante de pus (**Denis et al., 2016**).

De plus, les bactéries à Gram négatif ont été isolées, notamment les entérobactéries dont *Escherichia coli* qui est la plus dominante. La transmission de ces bactéries du tube digestif se produit par manque d'hygiène via les mains contaminées du personnel de santé, pouvant potentiellement être responsables des surinfections cutanées.

Selon les études menées en 2013, au CHU de Tizi-Ouzou, parmi les germes isolés, les cocci Gram positif dont *Staphylococcus aureus* représentent 66,7% et les *Streptococcus Spp* avec un taux de 6,7%. Les bacilles à Gram négatif dont *E. coli* était estimée à 94,11% (**Service d'Epidémiologie et Médecine Préventive, 2013**). En France, une étude menée 2006, dans le service de dermatologie, les bactéries les plus retrouvées étaient les *Staphylococcus aureus* à 57%, *E. coli* à 24% et les *Streptococcus spp* à 6% (**Tristan et al., 2019**). Ces germes sont responsables de 13,5% des infections au niveau du site opératoire et de 39% des autres infections de la peau (**Lucet, 2017**). Au Mali, les bactéries isolées à partir de plaies infectées ont rapportés qu'il y a 50% d'*E. coli* et 21,4% de *Staphylococcus aureus* (**Togo et al., 2011**).

III. Analyse de l'antibiorésistance

Pour un traitement efficace, il est primordial d'étudier la sensibilité/résistance des souches pour évaluer l'aspect de l'antibiorésistance qui est un phénomène très fréquent dans le domaine médical. En effet, les bactéries sont capables de s'adapter et d'échapper aux traitements antibactériens et ce en développant des mécanismes de défense. Ceci dépendra de plusieurs facteurs environnementaux et de la population ainsi que des espèces bactériennes.

Notre travail est focalisé sur l'étude du profil de résistances/ sensibilités de *S. aureus* et les *Streptococcus spp*.

➤ *Streptococcus spp*

Les *Streptococcus Spp* ont une forte résistance vis-à-vis des tétracyclines notamment la doxycycline. Cela est principalement dû à la modification de la cible par mutation (méthylation) au niveau de l'ARN 16 s. Le site d'action ne sera donc plus reconnu et la synthèse protéique poursuit.

La résistance aux Rifamycines résulte de la modification de la sous unité B de l'ARN polymérase ADN dépendante qui constitue la cible principale de cet antibiotique.

Selon des études réalisées depuis 1998, on constate une résistance accrue des *Streptococcus spp* à l'érythromycine et à la tétracycline qui a augmenté de 25%.

En revanche, la sensibilité à la pénicilline et aux macrolides reste toujours forte (**Flandrois., 2000**).

Les *Streptococcus Spp* ont une sensibilité importante vis-à-vis des glycopeptides notamment la Vancomycine. En effet, ce dernier se fixe de manière non covalente sur la partie D-Ala-D-Ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane. De ce fait, la polymérisation est inhibée.

Les *Streptococcus Spp* ont également une sensibilité importante vis-à-vis des quinolones notamment la Lévofoxacine. Cette dernière agit sur la réplication de l'ADN en se fixant sur la sous unité A de l'ADN gyrase et de la topoisomérase N. Cette fixation engendre l'inactivation de l'enzyme et l'arrêt de la réplication de l'ADN.

➤ *Staphylococcus aureus*

Selon notre étude, *Staphylococcus aureus* présente une forte résistance aux aminosides notamment l'amikacine et la gentamycine. Cela peut être dû à la modification de la cible ribosomale par méthylation (production de la méthylase). De plus *S. aureus* est capable de synthétiser une nouvelle protéine dite « PLP 2a » impliquée dans la biosynthèse du peptidoglycane. Cette dernière va donc empêcher l'activité des bêtalactamines notamment la Céfoxitine (Céphalosporines de 2eme génération) qui constitue un marqueur d'identification des SARM.

En France, 38% des souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline et 1,5% présentent en plus une sensibilité diminuée aux glycopeptides (**Lucet, 2017**). Dans le service de Bactériologie/Hygiène au CHU Antoine Bécclère, sur 138 souches de *S. aureus* une très faible résistance aux glycopeptides, linézolide et daptomycine a été révélée avec une forte résistance aux lévofoxacine à 98% (**Desroches et al., 2013**).

Staphylococcus aureus présente une sensibilité importante vis-à-vis de la Rifamicine. Cette dernière se fixe sur la sous unité B de l'ARN polymérase ADN dépendante et inhibe l'initiation de la transcription.

La sensibilité aux sulfamides résulte de l'inhibition de la synthèse de l'acide folique et l'arrêt de la réplication de l'ADN.

Conclusion

Les infections suppuratives cutanées Staphylococciques et Streptococciques représentent une partie non négligeable du travail d'un laboratoire de microbiologie. Celles-ci peuvent être d'origine communautaire ou nosocomiale. En raison du danger qu'elles peuvent présenter sur la santé des patients ainsi que le taux de morbidité dont elles sont responsables chaque année, ces pathologies doivent être suivies minutieusement afin de minimiser les risques.

Le but de notre travail s'est focalisé sur l'isolement et l'identification des bactéries à Gram positif responsables de ces infections, à savoir *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus spp* étant les principaux acteurs de ces infections cutanées. Afin d'apporter des solutions thérapeutiques et remédier au phénomène de la multi résistance rencontrée chez certaines souches tels que le *Staphylococcus aureus* méthicilline résistants (SARM), nous avons donc entamé l'étude du profil de sensibilité et de résistance aux antibiotiques pour comprendre l'évolution du comportement de ces bactéries faces aux antibiotiques.

L'analyse épidémiologique a révélé sur 33 prélèvements purulents, 78,79% cultures sont positives. Le sexe féminin est prédominant avec un pourcentage de 53,85. Les adultes sont les plus atteints par les infections cutanées. Enfin, le service infectieux et le service pédiatrie sont les mieux représentés avec un taux de 23,08%.

L'analyse bactériologique a permis d'isoler environ 23 souches bactériennes sur les 33 prélèvements purulents. Les bactéries à Gram positif sont estimées à 60,87%, représentées par les staphylocoques dont 30,43% de *Staphylococcus aureus*, 4,35% de SCN et 26,09% de SARM, des Streptocoques avec un pourcentage de 26,09%. Les bactéries à Gram négatif sont principalement des Entérobactéries à 10,34% dont l'espèce dominante est *E. coli*.

Concernant le profil d'antibiorésistance, notre étude s'est focalisée sur les *Staphylococcus aureus* et *Streptocoque spp*. *Streptococcus spp* présente une résistance considérable pour la Rifampicine et la Doxycycline, En revanche, une sensibilité importante à la Vancomycine et à la Tétracycline a été constaté. *S. aureus* marque une forte résistance à l'amikacine et à la Céfoxatine. Il a été déduit qu'il présente également une forte sensibilité à la Triméthoprim + Sulfaméthoxazole et la Rifampicine.

Pour assurer le contrôle, la surveillance et une meilleure prévention des infections surtout nosocomiales dans le milieu hospitalier, il faut :

➤ **Selon le ministère de la santé**

- Assurer la formation continue du personnel de la santé pour éviter les contaminations croisées ;
- Eviter l'automédication et la prise anarchique des antibiotiques, puisque ceux-ci favorisent l'émergence des souches bactériennes multi résistantes sur différente sélection d'antibiotique ;
- Faire des campagnes de sensibilisation dans différents lieux géographiques et d'assurer financièrement les conditions d'hygiène des populations.

➤ **A l'hôpital**

- Dans le milieu hospitalier, il faut désigner un responsable du signalement des infections chargées d'assurer la communication interne pour les soignants, responsable et cadre des services cliniques et aussi d'assurer le signalement externe à l'autorité sanitaire ;
- Garder une collaboration régulière avec tous les services de l'établissement et plus particulièrement avec le service de microbiologie, de pharmacie, le département d'information médicale et ainsi que les structures de formation du personnel ;
- Un centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales, en mettant en place des structures interrégionales de conseil et d'assistance, qui permet d'assurer la prévention des infections nosocomiales.

Références bibliographiques

A

- Ameh, EA., Mshelbwala, PM., Nasir, AA., Lukong, CS., Jabo, BA., Anumah, MA., Nmadu, PT., (2009).** Surgical site infection in children: prospective analysis of the burden and risk factors in a sub-Saharan African setting. *10(2)*, 105p.
- Andrement, A., Corpet, D., Courvalin, P., (1997).** Résistance des bactéries aux antibiotiques. *Pour la science*, 232, 66-73.
- ARISTA, S.,(2011).** Indications des prélèvements et de l'antibiothérapie dans la prise en charge des plaies.
- Auboyer, C., Charier, D., Jospé, R., Jarrassier, A., Rouquie, D., Libert, N., Masson, Y., Constantin, P., De Rudnicki, S., (2001)** Cellulites, fasciites, myosites, gangrène gazeuse. 11p.

B

- Bariéry, M., Coury,C., (1971).** *Histoire de la médecine* (Vol. in-12, p. 128). Paris: Paris, Presses universitaires de France.
- Batard, E., El Kouri, D., Potel, G., (2007).** Infections à Staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. *EMC-Maladies infectieuses*, 4(3), 1-8.
- Berche, P., GAILLARD, JL., Simonet, M., (1988).** *Bactériologie, les bactéries des infections humaines*.
- Bessis, D., (2008).** *Manifestations dermatologiques des maladies infectieuses, métaboliques et toxiques* (Vol. II). Paris: Springer-Verlag.
- Billroth, T., (1987).** General surgical pathology and therapeutics. *Classics of Medicine Library*.
- Blondin, G., Bingen, E., Lambert, N., Mercier, JC., Aujard, Y., (1989).** Choc toxique staphylococcique chez l'enfant. *46(9)*, 641-4.
- Bonifaz, A., (2020).** *Candida Onychomycosis: an Old Problem in Modern Times*. Récupéré sur Springer.
- Bouros, D., Tzouvelekis, A., Antoniou, KM., Heffner, JE., (2007).** Intrapleural fibrinolytic therapy for pleural infection. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, 20(6), 616-626.
- Boursiez, C., (2015).** *LES MYCOSES SUPERFICIELLES :Pharmacologie des anti-fongiques*.
- Boussena, S., (2020).** *Manuel de travaux pratique de bactériologie*. Université des frères Mentouri 1, Institut des Sciences Vétérinaires, Département de Productions Animales.

C

- Carlson, E., (1983).** Enhancement by *Candida albicans* of *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, and *Streptococcus faecalis* in the establishment of infection in mice. 39, 193—7.
- CA-SFM. (2013).** *Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie, Recommandations 2012. Société française de microbiologie, SFM, Paris.* Consulté le 05 19, 2023
- CA-SFM. (2020).** *Comité de l'antibiogramme de la Société française de a Société française de microbiologie. Recommandations 2020. Société française de microbiologie, SFM, Paris.* Consulté le 05 22, 2023
- Chabasse, D., (2008).** *Les dermatophytes: d'ou viennent-ils et comment comment sont-ils devenus des parasites?* (Vol. 18).
- Yu-Yu,C., (2005).** Syndrome de choc toxique chez les enfants. *Pediatr-Drugs*, 7, 11-24.
- Chiller, K., (2001).** Microflore cutanée et infections bactériennes de la peau. *J Investig Dermatol* , 6 (3), 170-4.
- Chosidow,O., (2001).** *Dermohypodermes bacteriennes nécrosantes et fasciites nécrosantes* (Vol. 10). Paris: Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS.
- Cosgrove, S., Sakoulas, G., Perencevich, E., Schwabe, MJ., Karchmer, AW., Carmeli, Y., (2003).** Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin susceptible *S. aureus* bacteremia : a meta-analysis. 36, 539.
- Costelloe, C., Metcalfe, C., Lovering, A., Mant, D., Hay, AD., (2010).** Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal*, 340, c2096.
- Courvalin, P., Guardabassi, L., (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup F.M. (ED), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press: Washington*, 1-18.
- Cuvier. (1805).** *Lecons d'anatomie comparée* (Vol. in-8, p. 492). Paris: Crochard.

D

- Dauwalder, O., Gérard, L., Durand, G., Bes, M., Meugnier, H., Jarlier, V., Coignard, B., Vandenesch, F., Etienne, J., Frédéric, L., (2008).** Epidemiology of invasive methicillinresistant *Staphylococcus aureus* clones collected in France in 2006 and 2007. 46, 8-3454.
- De Chalvet De Rochemonteix A. (2009).** Les biofilms et la peau. Doctoral dissertation.
- Delepoulle, AS., (2020, 02 05).** *Magazine Maladies.* Consulté le 04 20, 2023, sur paperblog.
- Denis, F., Marie-Cécile, P., Christian, M., Bingen, E., Roland, Q., (2016).** *Bactériologie médicale techniques usuelles.* Elsevier Masson.

- Denis, FP., (2010).** *Bactériologie médicale technique usuelles*. Edition Elsevier Masson.
- Desroches, M., Jehl, F., Gérard, L., Vandenesch, F., Leclerc, L., DECOUSSER, JW., DOUCET, F., et le groupe MICROBS. (2013).** *Résistance aux antibiotiques des S. aureus*. Consulté le 06 07, 2025, sur Infectologie
- Develoux M., Bretagne, S., (2005).** *Maladies infectieuses*. Paris: EMC (Elsevier SAS).
- Douglas, L., (2002).** Medical importance of biofilms in Candida infections. *19*, 43-139.
- Dréno, B., (2009).** Anatomie et physiologie de la peau et ses annexes. *Annales Dermatologie et Vénérologie, 136*, S247-S251.
- Dubrous, P., Cuguillère, A., Gendrot, A., Koeck, JL., (2007).** Pneumopathie nécrosante à Staphylococcus aureus producteur de la leucocidine de Panton-Valentine. *JOHN LIBBEY EUROTEXT, 65*, 277-81.

E

- El-Azizi, MA., Starks, SE., Khardori, N., (2004).** Interactions of Candida albicans with other Candida spp. and bacteria in the biofilms. *96*, 1067—73.
- Eteme, I., (2019, 09 28).** Consulté le 05 30, 2023, sur API20 Staph.

F

- Feaster, T., Singer, JI., (2010).** Topical therapies for impetigo. *26(3)(222–7 [quiz: 228–31].)*.
- Fiacre, AAK., (2007).** Examens de laboratoire aux urgences. 344p.
- Fiquet, A., (2009).** *Le Staphylocoque doré (Staphylococcus aureus) : un état des lieux Cours international francophone de vaccinologie*. Université Victor Segalon Bordeaux 2.
- Flandrois, J., (2000).** Bactériologie Médicale.
- Floret, D., (2001).** Aspects cliniques des syndromes toxiques Streptococciques et Staphylococciques. *Archives de pédiatrie, 8*, 762-768.

G

- Galen, JI., Horsley, GHR., (2011).** Method of medicine. *Harvard University Press*.
- Gauzit, R., (2006).** infections cutanées: définitions, caractéristiques cliniques et microbiologiques. *Annales Française d'anesthésie et réanimation, 25(9)*, 967-970.
- GHEIT, A., (2011).** *Les principales bactéries isolées des pus superficiels et leur comportement vis-à-vis des antibiotiques*.
- Ghosh, P., Nizet, V., Buffalo, C., Macheboeuf, P., Chi-yu, F., Zinkernagel, AS., Cole, JN., Johnson, EJ., (2011).** Streptococcal M1 protein constructs a pathological host fibrinogen network. *Pub Med, 64-8*.
- Guelzane-Tebibel, N., Kahlouche, B., Athmani-Guemouri, S., (2014).** *Microbiologie travaux pratiques*. Office des Publications Universitaires.

Guillot, J., (1989). Apparition et évolution de la résistance bactériennes au antibiotiques. *Elsévier*, 20, 2-16.

H

Halpern MT, Schmier JK, Snyder LM., , Asche, C., Sarocco, PW., Lavin, B., Nieman, R., Mandell, LA., (2005). Meta-analysis of bacterial resistance to macrolides. *J Antimicrob Chemother*, 55, 748-757.

Harriott, MM., Noverr, MC., (2009). Candida albicans and Staphylococcus aureus form polymicrobial biofilms: effects on antimicrobial. 53, 3914—22.

Holmes, AR., Van der Wicien, P., Cannon, RD., Ruske, D., Dawes, P., (2006). Candida albicans binds to saliva proteins selectively adsorbed to silicone. 102, 488—94.

J

Jaimes, Y., (2020, 11 05). Consulté le 05 30, 2023, sur API 20 Strep.

Jenkinson, HF., Douglas, LJ., (2002). Candida interactions with bacterial biofilms. In: Brogden KA, Guthmiller JM, editors, Polymicrobial Infections and Disease. 357—73.

Joly, B., (1989). *Données generales sur les antibiotiques*, in "Biotechnologie des antibiotiques." Paris: Biotechnologie, Masson.

L

Labandetra-Rey, M., Couzon, F., Boisset, S., Brown, EL., Bes, M., Benito, Y., Barbu, EM., Vazquez, V., Höök, M., Etienne, J., Vandenesch, F., Bowden, MG., (2007). Staphylococcus aureus Panton Valentine leukocidin causes necrositizing pneumonia. *315Science*, 1130-1133.

Larquey, M., (2018). *Infections cutanées à staphylocoque et streptocoque chez l'enfant* (Vol. I). Elsevier Masson.

Le Minor Léon et Véron Michel. (1982-1984). *Bacteriologie médicale*. Paris: FLAMMARION MEDECINE SCIENCES.

Leclercq, R., (2002). Résistances des Staphylocoques aux antibiotiques. *Annales Francaises d'anesthésie et de réanimation*, 21(5), 375-383.

Lipsky, BA., Berndt, AR., Embilf, DE., Llala, F., (2004). Diagnosing and treating diabetic foot infections. 20, 56-64.

Lorrot, M., (2014). Infections superficielle de la peau et dermo-hypodermes bactériennes. *Archives de pédiatrie*, 21(8), 906-912.

Lucet, JC., (2017, 07 05). (La science pour la santé) Consulté le 06 07, 2023, sur Inserm: <https://www.inserm.fr/dossier/infections-nosocomiales/>

M

Machet, L., (2008). infections bactériennes cutanées superficielles folliculaires et non folliculaires. *EMC-Dermatologie*, 3(1), 1-8.

Mazliak, P., (2023, mars 1). Récupéré sur Encyclopædia Universalis: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques-reperes-chronologiques/>

McNamara, C., Zinkernagel, AS., Macheboeuf, P., Cunningham, MW., Nizet, V., Ghosh, P., (2008). Coiled-coil irregularities and instabilities in group A Streptococcus M1 are required for virulence. *Science*, 8, 319-1405.

N

Neha, P., Amy, JN., (2023). in Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases.

Nivoix, Y., L. D. S. (2018). Traitement des infection fongiques invasives et superficielles. *Pharmacie clinique et thérapeutique*.

Q

Quevauvilliers, J., (2007). *Dictionnaire médicale de poche*. Elsevier Masson.

R

Raoul, D.S. (2018). Manuel de prélèvement. Assistance Publique Hôpitaux de Marseille. 29.

Romano, JD., K. R. (2005). Pseudomonas—Saccharomyces interactions: influence of fungal metabolism on bacterial physiology and survival. *187*, 940—8.

Ross, J., (2010). *La réponse au farnésol de Candida albicans : production de biofilms et parenté génétique. Mémoire de Maîtrise en Microbiologie et Immunologie*. Université de Montréal.

Rotstein, C., Ki, V., (2008). *Bacterial skin and soft tissue infection in adults: a review of their epidemiology, pathogenesis, diagnosis*.

S

Salvatore, P., Perera, PB., (2023). Scarlatine. *National Library of Medecin*.

Sappala, H., S. M. (1998). A novel erythromycin resistance methylase gene (ermTR). *Streptococcus pyogenes Antimicrobes Agents Chemother*, 62, 42-257.

Schaechter, M., M. G. P. (1999). Microbiologie et maladies infectieuses. *Editions Del Boeck Universités*.

Schleifer, KH., Kocur, M., (1973). Classification of staphylococci based on chemical and biochemical properties. *Arch Mikrobiol*, 65–85.

Schrag, C., Kleger GR., (2011). Syndrome de choc toxique. *Forum Med Suisse*, 45, 805-807.

Service d'Epidémiologie et Médecine Préventive. (2013). *Enquête de prévalence des infections nosocomiales, CHU Tizi-Ouzou*. Tizi-Ouzou.

SFCC et AFAQAP. (2015). *Recommandations techniques et règles de bonne pratique pour la coloration de May-Grünwald-Giemsa*. Revue de la Littérature et Apport de l'Assurance Qualité.

Singleton, P., (2005). *Bactériologie pour la médecine, la biologie et la bactériologie*. Paris: Edition : Durot.

Stacey, X., McCormick, JK., (2012). Staphylococcal superantigens in colonization and disease. *Front Cell Infect Microbiol*, 2, 52p.

Sudebery, P., Gow, N., Berman, J., (2004). The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. 12, 317-324.

T

Teodorico, D., (1956). The surgery of Theodoric: ca. A.D. 1267. *Appleton-Century-Crofts*.

Togo, A., Coulibaly, Y., Dembélé, BT., Togo, B., Keita, M., Kanté, L., Traoré, A., Diakité, I., Ouologuem, H., Diallo, G., (2011). Risk factors for surgical site infection in children at the teaching hospital Gabriel Touré, Bamako. 79(4), 371–2.

Tristan, A., Rasigade, JP., (2019, 07). *Staphylococcus spp.* Récupéré sur Société Française de Microbiologie.

V

Vandenesch, F., Etienne, J., (2008). *Centre National de Référence des Staphylocoques Rapport d'activités annuel 2007*. Institut de veille sanitaire.

Vandepitte, J., Engbaek, K., Piot, P., Heuck, CC., (1994). Bactériologie clinique: Techniques de base pour le laboratoire. 121.

Vincenot. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des Laboratoires*, 61-69.

W

Wargo, MJ., Hogan, DA., (2006). Fungal-bacterial interactions: a mixed bag of mingling microbes. 9, 359—64.

Weber, DJ., Peppercorn, A., Rutala, WA., (2011). Cellulite infectieuse. *Médecine interne de Netter*, 717-722.

Weber, S., Herwaldt, LA., McNutt, LA., Rhomberg, P., Vaudaux, P., Pfaller, MA., Trish, MPI., (2002). An outbreak of *Staphylococcus aureus* in a pediatric cardiothoracic surgery unit. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 23(2), 77–81.

Weisblum, B., (1995). Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agent Chemother*, 85, 39-577.

X

Xiangyang, L., Chandrakant, K., (2017). Microbial Enzymes of Use in Industry in Biotechnology of Microbial Enzymes.

Y

Yang, Y., (2003). Virulence factors of *Candida* species. 36, 223—8.

Z

Zhang, H., Hackbarth, C., Chansky, K., Chambers, H., (2001). A proteolytic transmembrane signaling pathway and resistance to B-lactams in staphylococci. *Science* 291, 1962-1965.

Zidani, Z., Benammar, S., (2019). *Examen cyto bactériologique des pus, TD de Microbiologie 4ème année Pharmacie, Université de Batna 2.*

Annexes

Annexe 01. Prélèvements

Le patient	Type	Service
01	Plais cutanée	Service infectieux
02	Incision chirurgicale abdominale	Urgence chirurgie
03	Eczéma	Service pédiatrie
04	Plais cutanée	Médecine interne
05	Pus de lésion cutanée	Réanimation
06	Panaris	Service infectieux
07	Bruleur	Urgence de médecine
08	Plais cutanée	Service infectieux
09	Plais post césarienne	Urgence chirurgie
10	Eruption cutanée	Service pédiatrie
11	Infection d'un pied diabétique	Service infectieux
12	Bruleur	Urgence de médecine
13	Abcès cutanée	Service infectieux
14	Cellulite	Réanimation
15	Plaie post opératoire	Urgence chirurgie
16	Brulure	Traumatologie
17	Ulcère cutanée	Service infectieux
18	Pus d'escarre	Réanimation
19	Impétigo	Service pédiatrie
20	Pus de lésion cutanée	Urgence de médecine
21	Morsure d'un chien	Service pédiatrie
22	Prélèvement d'un orifice cutané	Service infectieux
23	Plais cutanée	Service pédiatrie
24	Pus d'escarre	Réanimation
25	Plais cutanée	Médecine interne
26	Plais cutanée	Service pédiatrie
27	Infection d'un pied diabétique	Service infectieux
28	Bruleur	Service pédiatrie
29	Pus d'escarre	Réanimation
30	Pustule	Service pédiatrie
31	Cellulite	Urgence de médecine
32	Bruleur	Service infectieux
33	Plais post opératoire	Urgence chirurgie

Annexe 02. Composition des milieux de culture et des colorants**A. Composition des milieux de culture**

Milieux de culture	
Gélose au sang frais	Gélose au sang cuit
<ul style="list-style-type: none"> - Mélange spécial de peptones..... 23 g/l - Amidon.....1 g/l - Nacl5 g/l - Agar.....10 g/l - Sang de mouton..... .50 ml - Ph=7.3 	<ul style="list-style-type: none"> -Mélange spécial de peptones.....23 g/l - Amidon.....1 g/l - Nacl5 g/l - Agar..... 10 g/l - Sang de mouton..... 50 ml - Ph=7.3
Gélose Chapman	Milieu BCP
<ul style="list-style-type: none"> -Peptone.....10.0 g/l - Extrait de viande bœuf.....1.0 g/l - Chlorure de sodium.....75.0 g/l -Mannitol.....10.0 g/l - Rouge de phénol.....0,025 g/l -Agar.....15.0 g/l -Ph=7.4 	<ul style="list-style-type: none"> -Peptone.....,5,0 g/l -Extrait de viande de bœuf..... 3,0 g/l -Lactose.....10.0 g/l -Pourpre de bromocrésol.....0,025 g/l -Agar11 g/l
Milieu Hektoen	Milieu Sabouraud
<ul style="list-style-type: none"> - peptone.....12 g/l - Extrait de levure.....,3 g/l - Nacl.....5 g/l - Sels biliaires..... 9 g/l - Thiosulfate de sodium.....5 g/l - Citrate de fer ammoniacal..... 1.5 g/l - Lactose.....12 g/l - Salicin..... 2 g/l - Saccharose.....12 g/l - BBT.....0,002 g/l - Fuschine acide..... 0.1 g/l - Agar..... 14 g/l -Ph=7.5 	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone pepsique de viande..... 10.0 g/l - Glucose..... 20.0 g/l - Chloramphénicol.....0.05 g/l - Agar agar.....15.0 g/l - Ph=5.7±0.2

Suite du tableau de composition des milieux de culture

Milieu Muller Hinton	Bouillon cœur-cervele (BHIB)
-Extrait de viande..... 300ml	-Infection de cervelle de veau.....200g/l
-Hydrolysate acide de caséine..... 17.5g/l	-Infusion de cœur de bœuf.....50g/l
-Amidon.....1.5g/l	-Peptone de gélatine... ..10g/l
-Chlorure de sodium.....40g/l	-Chlorure de sodium..... 5g/l
agar..... 16g/l	-Phosphate disodique..... 2.5g/l
-Ph=7.4	-Glucose..... .2g/l
	-Ph=7.4

B. Composition des colorants

Colorant	Composition
Violet de gentiane	-Phénol..... 2g -Violet de gentiane1g -Ethanol à 90°10ml -Eau distillée.....100ml
Lugol	-Iodure de potassium.....2g -Iode métalloïde1g -Eau distillée... .. 300ml
Fuchsine de Ziehl	-Fuchsine basique1g --- Phénol.....5g -Ethanol à 90°10 ml -Eau distillée.....100 ml

Annexe 03. Résultats des examens microscopiques et des cultures

Tableau récapitulatif des résultats des différents examens (microscopique et culture+ antibiogramme)

Patient	Examen microscopique	Culture et antibiogramme
01	-FM+++ -Nombreux PN	SARM
02	-FM++ -Nombreux hématies -Quelques PN	<i>Streptococcus spp</i>
03	-FM+ -Nombreux hématies	<i>Streptococcus spp</i>
04	- Rare PN	<i>S. aureus</i>
05	-FM rare -Quelques PN -Rares hématies	<i>S. aureus</i>
06	-FM rare -Quelques PN -Très nombreuse hématies	<i>Candida spp</i>
07	-Tapis de PN -Très nombreuse hématie	<i>S. aureus</i>
08	-quelques PN	SARM
09	- FM++ -Rares hématies -Quelques PN	<i>Streptococcus spp</i>
10	-FM++ -Rare hématies	SARM
11	- FM+ -Quelques PN	Négatif
12	-FM++ -Rare H	<i>S. epidermidis</i>
13	- FM rare -Tapis de PN	<i>Candida spp</i>
14	- FM+ -Quelques PN	SARM
15	-FM+ -Quelques PN	<i>Escherichia coli</i>
16	-FM++ -Tapis de PN	<i>Streptococcus spp</i>
17	-FM+	<i>Candida spp</i>
18	- FM++	<i>Escherichia coli</i>
19	-Quelques PN	Négatif
20	-Rares PN -Quelques hématies	Négatif

Suite du tableau récapitulatif des différents examens (examen microscopique, la culture et l'antibiogramme).

21	-FM++ -Nombreux hématies -Nombreux PN	<i>S. aureus</i>
22	-FM++ -Quelques PN -nombreux hématies -Quelque cellules épithéliales	Négatif
23	-FM++	<i>S. aureus</i>
24	-FM++ -Nombreux PN	<i>Streptococcus spp</i>
25	-Nombreux PN -Nombreux hématies	SARM
26	-FM+ -Quelques hématies -Quelques PN	<i>S. aureus</i>
27	-FM++ -Quelques PN	<i>S. aureus</i>
28	-Très nombreuses hématies -Rare PN	Négatif
29	R.A. S	SARM
30	-FM+ -Rares PN	Négatif
31	-FM++ -Nombreux PN -Quelques hématies	<i>Escherichia coli</i>
32	-FM+ -Quelques cellules épithéliales	Négatif
33	-Rares PN	<i>Streptococcus spp</i>

Annexe 04. Protocoles des différentes colorations

Réalisation du frottis

- **Prélèvement** : à l'aide d'une anse de platine, prélever a partir du milieu de culture une à deux colonies, puis les diluer dans une goutte d'eau préalablement déposée sur une lame bien dégraissée.
- **Etallement** : étaler les colonies en une couche mince et homogène.
- **Séchage** : Le frottis est séché par passage au-dessus de la flamme du bec bunsen.
- **Fixation** : le frottis est fixé par la chaleur en effectuant 4 à 5 passages dans la flamme.

Coloration de Gram

- Recouvrir le frottis avec un colorant primaire « le violet de Gentiane », laisser agir 1mn. Puis rejeter l'excédent du colorant sans laver.
- Mordançage au Lugol : recouvrir avec du Lugol (fixateur) et laisser agir 45s. Cette étape est répétée deux fois sans lavage.
- Décoloration (rapide) à l'alcool : sur la lame inclinée pendant 30 secondes, puis rincer à l'eau courante afin de neutraliser l'action de l'alcool.
- La contre coloration à la fuchsine : Recouvrir la lame avec la Fuschine et laisser agir pendant 1 minute puis rincer à l'eau courante jusqu'à ce que l'eau de rinçage ressorte claire. Laisser la lame sécher, puis observez la lame au microscope avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

• **Lecture de la coloration de Gram**

Les étapes 1 et 2 colorent en violet le contenu de la bactérie. En effet, le violet de Gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Le mordançage au Lugol permet quant à lui de fixer cette coloration interne.

L'étape 3 sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites « Gram négatif ». En effet, celles-ci ont une paroi pauvre en peptidoglycane qui va laisser pénétrer l'alcool (molécule hydrophile), et qui décolorera ainsi le cytoplasme en éliminant le violet de Gentian. En revanche, la paroi des bactéries à Gram positif constitue une barrière imperméable à l'alcool car elle est composée d'une couche de peptidoglycane plus importante. Les bactéries resteront alors de couleur violette.

L'étape 4 est une contre-coloration ayant pour but de donner aux bactéries Gram-précédemment décolorées une teinte rose permettant de les visualiser au microscope optique. Les bactéries à Gram + restées violettes seront évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pâle que le violet imprégnant leur cytoplasme.

Ainsi, la coloration de Gram permet de scinder les bactéries en deux grands groupes :

- Gram + qui ont une paroi de peptidoglycanes épaisse : cellules violettes.
- Gram - qui ont une paroi de peptidoglycanes fine, mais ont en plus une membrane externe lipidique : cellules roses.

La coloration MGG

- Placer horizontalement dans une boîte de coloration le frottis préalablement réalisé et verser le colorant May-Grünwald de façon à recouvrir totalement la lame et attendre trois minutes.
- Ajouter autant d'eau neutre qu'il y a eu de colorant puis laisser agir deux minutes et rincer la lame à l'eau neutre, laisser égoutter.
- Diluer le Giemsa immédiatement avant l'utilisation en mettant 20 ml d'eau neutre avec 30 gouttes de colorant dans une éprouvette.
- Verser le contenu dans une boîte de Laveran dès que la lame est prête et mélanger en agitant doucement.
- Poser la lame, face frottis vers le fond de la boîte de Laveran. Laisser agir 20 min. et rincer à l'eau neutre, puis égoutter.
- Laisser la lame sécher à l'air et observer au microscope avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$)

- **Lecture de la coloration MGG**

Les colorants se fixent en fonction de la nature chimique de la surface des éléments blancs. En effet, le May-Grünwald colore les éléments acidophiles ainsi que les granulations neutrophiles des leucocytes. Le Giemsa quant à lui, colore le cytoplasme des monocytes, des lymphocytes et la chromatine des noyaux.

Le tableau suivant résume les résultats après coloration MGG.

	Composants	Couleur
Noyaux/ chromatine		Pourpre +/- dense.
Granulocytes	-Cytoplasme sans ARN.	Rose violace léger.
	-Granulations éosinophiles.	Rose Orangé.
	-Granulations basiphiles.	Bleu foncé.
	- Granulations neutrophiles.	Rose violet +/- intense.
Lymphocytes	-Cytoplasme avec ARN.	Bleu foncé
	-Cytoplasme sans ARN.	Bleu clair
Monocytes	-Cytoplasme.	Bleu violacé
Hématies		Beige-rosé a gris- beige (selon le choix du tampon)

Annexe 05. Les antibiotiques utilisés pour les différentes espèces bactériennes isolées des suppurations (AARN, 2020).

<i>Staphylococcus spp</i>	<i>Streptococcus β-hemolytique</i>
Pénicilline (UI); Céfoxitine(30µg); Amikacine (30µg); Gentamicine (30µg); Kanamycine(30µg); Erythromycine(15µg); Vancomycine (CMI seulement); Trimethoprime+sulfamethoxazole (1.25/23.75µg); Rifampicine (5µg); Lévoﬂoxacine(5µg); Tétracycline (30µg); chloramphenicol(30µg); Ofloxacine(5µg); Ciproﬂoxacine(5µg).	Pénicilline (10UI); Ampicilline(20UI); Erythromycine(15µg); Clindamycine (2µg); Tétracycline(30µg); Ofloxacine(5µg); Lévoﬂoxacine(5µg); Vancomycine(30µg); Chloramphenicol(30µg); Gentamycine(500µg); Rifampicine(30µg).
<i>Streptococcus spp du groupe viridans</i>	<i>Entérobactéries</i>
Pénicilline (CMI) ; Ampicilline (CMI) ; Céfoxitine(30µg) ; Tétracycline(30µg) ; Gentamicine (CMI pour infections graves) ; Vancomycine (30µg) ; Chloramphénicol(30µg) ; Rifampicine(30µg) ; Ofloxacine(5µg) ; Lévoﬂoxacine(5µg) ; Clindamycine (2µg).	Ampicilline (10µg) ; Amoxicilline + Acide clavulanique (20/10µg) ; Aztréonam (30µg) ; Céfazoline (30µg) ; Céfoxitine (30µg) ; Céfoxitine (30µg) ; Imipénème (10µg) ; Méropénème (10µg) ; Ertapénème (10µg) ; Amikacine (30µg) ; Gentamicine (10µg) ; Acide nalidixique (30µg) ; Ciproﬂoxacine (5µg) ; Colistine (10µg) ; Chloramphénicol (30µg) ; Furanes (300µg) ; Triméthoprime + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg) ; Fosfomycine (200µg)

Annexe 06. Tableau des valeurs critiques, diamètres et zones d'inhibition des *Streptococcus spp* (Communiqué du CFA-SFM, Avril 2020)

Famille	Antibiotique	Charge de disque	Sigle	Concentrations critiques (mg/l)			Diamètres Critiques (mm)		
				R	I	S	R	I	S
Glycopeptides B-lactamines	Vancomycine	30ug	VA	-	-	≤1	-	-	≥17
	Ampillicine	-	AMP	≥8	0,54	≤0,25	-	-	-
Tétracyclines	Tétracycline	30ug	TEC	≥8	4	≤2	≤18	18,22	≥23
Les quinolones	Lévoﬂoxacine	5ug	LEV	≥8	4	≤2	≤13	14-16	≥17
Les phénicolés	Chloramphénicol	2ug	CRO	≥1	0,5	≤0,25	≤13	16-18	≥19
Macrolides	Erythromycine	15ug	E	≥1	0,5	≤0,25	≤15	16-20	≤21
Rifamicines	Rifampicine	5ug	RIF	≤0,5	-	≥0,25	≤17	-	≤22
Tétracyclines	Doxycycline	30µg	DO	≥1	0,5	≤0,25	≤15	-	≥19

Annexe 07. Tableau des valeurs critiques, diamètres et zones d'inhibition des *Staphylococcus aureus* (Communiqué du CFA-SFM, Avril 2020).

Famille	Antibiotique	Charge de disque	Signe	Concentrations critiques(mg/l)			Diamètres Critiques (mm)		
				R	I	S	R	I	S
Glycopeptides	Vancomycine	CMI	VA	≥16	4-8	2	-	-	-
Tétracycline	Tétracycline	30ug	TEC	≥15	8	≤4	≤14	15-18	≥19
Aminosides	Amikacine	30ug	AK	≤16	-	≥18	≥16	-	≤8
Rifamicines	Rifampicine	5ug	RIF	≤16	17-19	≥20	≥4	2	≤1
Macrolides	Erythromycine	15ug	E	≥8	1-4	≤0,5	≤13	14-22	≥23
	Triméthoprim	1.25/623	SXT	≤10	11-15	≥16	≥	-	2,38
Aminosides	Gentamicine	10ug	GEN	≥16	8	≤4	≤12	13-14	≥15
B-lactamines	Céfoxitine	30ug	CEF	-	-	-	≤24	-	≥25

Annexe 08. Résultats des antibiogrammes des patients positifs à *Streptococcus spp.*

Malades	<i>Streptococcus spp</i>							
Patient 2	E	RIF	LEV	CRO	TEC	VA	DO	AMP
	S	S	S	S	S	-	R	S
Patient 3	E	RIF	LEV	CRO	TEC	VA	DO	AMP
	R	R	S	I	R	S	R	-
Patient 9	E	RIF	LEV	CRO	TEC	VA	DO	AMP
	R	R	R	R	S	S	R	S
Patient 16	E	RIF	LEV	CRO	TEC	VA	DO	AMP
	S	S	S	S	S	S	S	-
Patient 24	E	RIF	LEV	CRO	TEC	VA	DO	AMP
	S	R	S	S	S	S	R	S
Patient 33	E	RIF	LEV	CRO	TEC	VA	DO	AMP
	S	I	S	S	R	S	I	-

Annexe 09. Résultats des antibiogrammes des patients positifs à *Staphylococcus aureus*.

Malades	Staphylococcus aureus							
Patient1	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	R	R	R	I	R	S	R
Patient4	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	R	S	R	R	S	S	S
Patient5	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	S	S	S	I	S	R	S
Patient7	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	S	S	I	I	S	S	S
Patient 8	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	S	S	I	S	S	S	R
Patient10	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	S	S	R	S	R	S	R
Patient 21	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	R	S	S	I	S	S	S
Patient 23	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	S	S	S	S	S	S	S
Patient 27	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	S	S	S	R	S	S	S
Patient 25	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	R	R	I	I	S	R	R
Patient 29	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	S	R	S	I	S	R	R
Patient 26	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	S	S	S	I	S	R	R
Patient 14	VA	AK	RIF	E	TEC	SXT	GEN	FOX
	-	R	S	I	I	S	S	R

Résumé

Cette étude a permis d'identifier les bactéries responsables des suppurations cutanées superficielles, au niveau du CHU de Tizi-Ouzou (Unité Nédir Mohamed), en se basant précisément sur les *Staphylococcus aureus* et les streptocoques.

Durant notre période de stage, allant du 09 Janvier au 15 Février 2023, 33 prélèvements ont été récoltés, dont 26 sont positifs. Il a été déduit qu'ils proviennent majoritairement du service infectieux et que ce type de pathologies touche de manière considérable les adultes de sexe féminin.

13 souches de *S. aureus* dont 06 sont résistantes à la méthicilline (SARM) et 06 souches de *Streptocoque spp* ont été identifiées. D'après les résultats, Il a été constaté que l'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques a augmentée, ceci est principalement dû à l'automédication et l'usage abusif et excessif des antibiotiques ainsi que le manque d'hygiène dans le milieu hospitalier entraînant la formation des biofilms qui favorise la persistance des bactéries multirésistantes susceptibles de contaminer les plaies et d'aggraver l'état clinique des patients

Une surveillance et une communication entre les différents services hospitaliers et personnels est donc nécessaire afin d'améliorer les conditions sanitaires et épidémiologiques.

Mots clé : suppurations superficielles, SARM, antibiogramme, conditions sanitaires et épidémiologiques.

Abstract

This study made it possible to identify the bacteria responsible for superficial cutaneous suppuration, at the Tizi-Ouzou University Hospital (Nedir Mohamed Unit), based precisely on *Staphylococcus aureus* and streptococci.

During our internship period, from January 9 to February 15, 2023, 33 samples were collected, of which 26 were positive. It has been deduced that they mainly come from the infectious department and that this type of pathologies affects adult females to a considerable extent.

13 strains of *S. aureus* of which 06 are resistant to methicillin (MRSA) and 06 strains of *Streptococcus spp* have been identified. According to the results, it was found that the emergence of bacteria resistant to antibiotics has increased, this is mainly due to self-medication and the abusive and excessive use of antibiotics as well as the lack of hygiene. in the hospital environment causing the formation of biofilms which promotes the persistence of multi-resistant bacteria likely to contaminate wounds and worsen the clinical condition of patients

Monitoring and communication between the various hospital and personal services is therefore necessary in order to improve sanitary and epidemiological conditions

Key words: superficial suppuration, MRSA, antibiogram, sanitary and epidemiological conditions.