

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

†.⊙%∧∧.∪ξ†C%∩%∧.†C∩%CC%Q

Department de Pharmacie
N° D'ORDRE :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté et soutenu publiquement

Le 31 JUILLET 2019

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème

Détermination du portage nasal de *Staphylococcus aureus*
chez les étudiants de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou et impact
du microbiote des non porteurs sur la culture des souches de portage

Réalisé par :

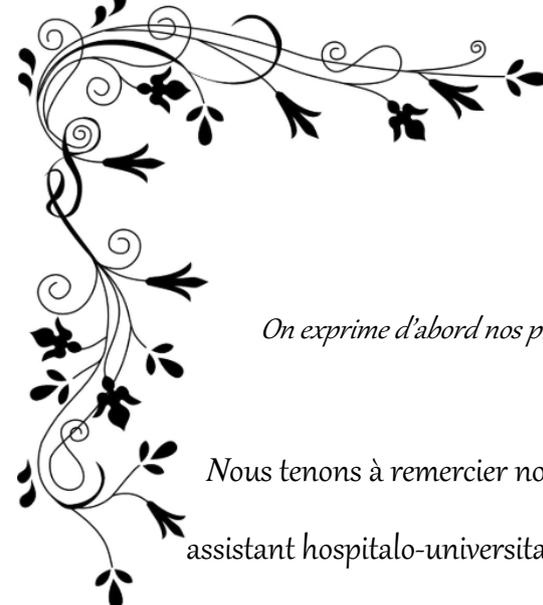
ABBAD Litecia
HAMADOUCHE Yasmina

GOUDA Nassima
HAMICHE Kahina

Promoteur : Dr DJERBOUA Taoufik

Membre de jury :

Pr A. BENSLIMANI	Professeur	EHS Mohand Amokrane	Présidente de jury
Pr H. ZIANE	MCA	CHU Mustapha	Examinatrice
Dr S. BENNADA	MAHU	EHS el-Aadi Flici	Examinatrice
Dr ALIANE	AHU	CHU Tizi-ouzou	Examinatrice



Remerciements

On exprime d'abord nos profonds remerciements à Dieu tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur **Docteur DJERBOUA TAOUFIK**, Pharmacien maitre-assistant hospitalo-universitaire en Microbiologie clinique à l'université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou : nous avons eu le privilège de travailler dans votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre travail :

Pr A. BENSLIMANI, professeur hospitalo-universitaire en microbiologie EHS Mohand Amokrane, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.

Pr H. ZIANE maitre de conférence A hospitalo-universitaire, CHU Mustapha, **Dr S. BENNADA** maitre assistante hospitalo-universitaire EHS el-Aadi Flici, **Dr ALIANE** assistance hospitalo-universitaire, CHU Tizi-Ouzou, d'avoir accepté d'examiner ce travail,

A Tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail, on vous

Merci !





Dédicace

Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu tout puissant :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi
mon Père.*

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, Maman que j'adore.

A mes frères, sœurs qui ont toujours été présents à mes côtés pour les bons conseils, votre soutien m'a été un grand secours au long de ma vie, veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés et qui m'ont toujours accompagnée, je vous aime.

*A mes amies Litecia, Kahina & Nassima,
Merci pour les très bons moments qu'on avait partagés ensemble.*

Yasmina





Dédicace

Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu Tout Puissant :

*À la plus belle créature que Dieu a créé sur terre, cette source de tendresse, de patience et de générosité, l'exemple du dévouement qui n'a jamais cessé de m'encourager et de prier pour moi, je t'aime *Maman*.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi *Papa*. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mon *frère* et *mes sœurs* qui ont toujours été présents à mes côtés pour les bons conseils, votre soutien m'a été un grand secours au long de ma vie, veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.*

*A mes chers *cousins, cousines, tantes, oncles, amies et amis*, merci pour vos conseils, aides, et encouragements.*

A mes meilleures amies qui ont accepté de partager ce travail avec moi.

Nassima





Dédicace

Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu tout puissant :

A mon très cher Père, source d'amour, d'affection, de générosité et de sacrifices. Tu étais toujours là près de moi pour me soutenir, m'encourager et me guider avec tes précieux conseils. Que ce travail soit le témoignage des sacrifices que vous n'avez cessés de déployer pour mon éducation et mon instruction. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et l'admiration que je porte au grand homme que vous êtes. Puisse Dieu le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma très chère Mère, source de ma vie, mon exemple, la femme idéale, le symbole du courage, de l'amour, la tendresse et le sacrifice, qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vous m'avez toujours poussée à devenir meilleure chaque jour. Que vous trouvez ici le témoignage de ma gratitude et ma profonde affection. Puisse Dieu le tout puissant t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes frères et sœurs qui ont toujours été présents à mes côtés pour les bons conseils, votre soutien m'a été un grand secours au long de ma vie, veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A mes chers cousins, cousines, tantes, oncles, amies et amis, merci pour vos conseils, aides, et encouragements.

A mes amies Nassina, Yasmina & Litécia, merci pour les très bons moments qu'on avait partagés ensemble, je vous aime.

Kahina





Dédicace

Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu tout puissant

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A mon cher père

Aucune dédicace ne saurait traduire la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect envers un être cher. J'ai vécu dans l'admiration de ta grande personne, tu es pour moi le symbole de l'honnête, de la justice et de la bonté. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Puisse ton existence, pleine de droiture, de franchise et de sagesse me servir d'exemple dans l'exercice de ma profession.

A mon frère et mes sœurs

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma considération et l'amour que j'éprouve envers vous. Vous m'avez aidé avec tous que vous avez comme moyen vous ne cessez pas de m'encourager depuis le début de ce travail.

Merci

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon Affection.

A mes aimables amis collègues d'études et sœurs de cœur

Yasmina, Nassima & Kahina

Litecia



Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	I
Objectifs de l'étude.....	II

Partie théorie

Chapitre I : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

1. Classification.....	1
2. Habitat.....	1
2.1. Chez l'être vivant.....	1
2.2. Dans l'environnement.....	1
3. Caractères bactériologiques.....	2
3.1. Morphologie.....	2
3.2. Génomes.....	2
4. Caractères culturels.....	2
4.1. Milieux d'isolement.....	3
5. Caractères biochimiques.....	3
6. Structures antigéniques et facteurs de virulence.....	4
6.1. Les composants de la paroi et la capsule.....	4
6.2. Les protéines de surface.....	5
6.2.1. Les MSCRAMMs.....	5
6.2.2. Les SERAMs.....	6
6.3. Les substances élaborées par <i>S.aureus</i>	7
6.3.1. Les enzymes.....	7
6.3.2. Les toxines.....	7
7. Régulation des facteurs de la virulence.....	10
7.1. Quorum sensing.....	10

Chapitre II : Sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

1. Généralités.....	12
---------------------	----

2. Profil de sensibilité et mécanisme de résistance de <i>S.aureus</i> aux différents familles d'antibiotiques.....	12
2.1. Aminosides.....	12
2.2. β -lactamines.....	12
2.3. Fluoroquinolones.....	14
2.4. Fusidanines.....	14
2.5. Glycopeptides.....	15
2.6. Macrolides, Lincosamides, Synergistines (MLS).....	15
2.7. Phénicolés.....	15
2.8. Les antibiotiques phosphoniques.....	16
2.9. Rifamycines.....	16
2.10. Sulfamides et triméthoprimé ou pyriméthamine.....	16
2.11. Tétracyclines et glycylicyclines.....	17
2.12. Acide pseudomonique.....	17
Chapitre III : Etude du microbiote humain	
1. Introduction.....	19
2. L'homme et ses microbiotes.....	19
2.1. Microbiote intestinal.....	20
2.2. Microbiote cutanée.....	22
2.3. Microbiote respiratoire.....	23
3. Dysbiose.....	24
4. Interactions <i>S. aureus</i> microbiotes.....	24
5. Méthodes d'études des microbiotes	25
5.1. Les techniques de cultures.....	25
5.1.1. La culture in vitro	25
5.1.2. La culturomique	26
5.2. Les méthodes moléculaires.....	26
5.2.1. La métagénomique.....	26
Chapitre IV : Eradication du portage nasal de <i>Staphylococcus aureus</i>	
1. Généralités	28
2. Impact du portage nasal de <i>S. aureus</i>	28

3. Indications de l'éradication du portage nasal du MRSA.....	29
4. Traitement de décontamination topique du SARM.....	29
5. Traitement de décontamination systémique.....	30
6. Utilisation du microbiote pour éradiquer le <i>S.aureus</i>	30
6.1. Utilisation du microbiote pour éradiquer le portage nasal de <i>S. aureus</i>	30
6.2. Transplantation microbienne fécale.....	30
6.3. Utilisation des bactéries lactiques pour éradiquer <i>S. aureus</i>	31

Partie pratique

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Population et type d'étude	32
2. Lieu et période d'étude.....	32
3. Caractéristique de l'étude.....	32
3.1. Critères d'inclusion.....	32
3.2. Critères de non inclusion et d'exclusion	32
3.3. Ethique médicale.....	32
4. Méthodes.....	32
I. Dépistage du portage nasal de <i>S. aureus</i>	32
I.1. Le prélèvement.....	32
I.2. Recueil des informations.....	34
I.3. Ensemencement.....	34
I.4. Identification.....	35
I.5. Tests de sensibilité aux antibiotiques.....	36
I.6. Tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques.....	37
II. Recherche de l'effet inhibiteur du microbiote des non porteurs sur la culture des souches de portage.....	39
5. Contrôle de qualité.....	44
6. Enregistrement et traitement des résultats.....	45

Chapitre II : Résultats

1. Population de l'étude.....	46
1.1. Données démographiques	46

2. Etude comparative entre porteurs et non porteurs.....	50
3. Etude de la résistance aux antibiotiques.....	52
4. Résultats de l'étude du microbiote.....	59

Chapitre III : Discussions

Conclusion

Annexes

Bibliographie

Liste des abréviations/ Acronymes :

16S : Svedberg (vitesse de sédimentation)

AARN: Algerian Antimicrobial Resistance Network

ACME : *Arginine Catabolic Mobile Element*

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNc : ADN complémentaire

AI : Auto Inducteur

AIP: autoinducing peptide

Agr: accesory gene regulator

AMK: Amikacine

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm : Acide Ribonucléique messenger

ARNr : Acide Ribonucléique ribosomal

ARNt : Acide Ribonucléique de transfert

ATCC: American Type Culture Collection

BCP : Bromo Crésol Pourpre

BCG : Bacille de Calmette-Guérin

BHIB: Brain Heart Infusion Broth

BORSA: Bordeline *Staphylococcus aureus*

C+ : contrôle positif

C- : contrôle négatif

CA-MRSA/ CA-SARM: Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

C5aR : récepteur de la fraction a de complément

CDC: Center for Disease Control and Prevention

Cip: Ciprofloxacine

CLED: Cystine Lactose Electrolyte Deficient

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

C. striatum : *Corynebacterium striatum*

DHFR: Di-Hydro-Folate Réductase

DHPS: Di-Hydro-Ptéroate Synthétase

Eap : Extracellular Adherence Protein

E. coli : *Escherichia coli*

EF : facteur d'élargissement

Efb : Extracellular Fibrinogen Binding Protein

EF-G : Facteur d'élargissement GTPas

EU/EEA : European union/European Environment Agency

ETA : Exfoliatine A

ETB : Exfoliatine B

ETD : Exfoliatine D

Fab : fragment variable des immunoglobulines

Fc : fragment constant des immunoglobulines

gc1q: globular complement component 1q

Gen : gentamicine

GISA : Glycopeptide Intermediate *Staphylococcus aureus*

HMP : Human Microbiome Project

h-VISA : hétéro -Vancomycine Intermediate *Staphylococcus aureus*

Ig : immunoglobuline

Ig G : Immunoglobuline de type G

IgM : Immunoglobuline de type M

Kan : Kanamycine

LB: lymphocyte B

L. iners: *Lactobacillus iners*

Lev: Lévoﬂoxacine

LukF-PV: Fast eluted Panton Valentine

LukS-PV: Slow eluted Panton Valentine

MALDI-TOF: *matrix-assisted laser desorption/ionization – time of-flight*

MetaHit: Metagenomics of the Human Intestinal Tract

MLS : Macrolide, Lincosamide et Streptogramine.

MODSA : Modified *Staphylococcus aureus*.

MP : Microscope Photonique

MSCRAMM : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules

Ofx : Ofﬂoxacine

OMS : organisation mondiale de la santé

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie

PAB : Acide Para-Amino Benzoïque

Pb : paires de bases

PBP2a : Penicillin Binding Protein 2a

PCR : Polymerase Chain Reaction

Ph : Phénotype

PIA : Polysaccharide Intercellular Antigen

PLP : Protéine Liant la Pénicilline

PLP2a : Protéine Liant la Pénicilline de type 2a

LPV/PVL : Leucocidine de Panton Valentine

RFc : récepteur Fc

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

MRSA/SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Methicilline

MRSA-C/SARM-C : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Meticilline d'origine Communautaire

MRSA-H/SARM-H : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Meticilline Hospitalier

SASM : *Staphylococcus aureus* Sensible à la Methicilline.

SCCmec : *Staphylococcal Cassette Chromosome mec*.

SCN : Staphylocoque à coagulase négative

SCTS : Toxine du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique

SERAM : Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules

Spa : Surfactant protéine A

ST : type de séquence

SU : sous-unités

TNFR-1: Tumor Necrosis Factor Recepteur-1

TS : Tri Sugar

TSA: gélose trypticase-soja

TSS: Toxic shock syndrome

TSST-1: Toxic shock syndrome toxin 1

VISA : Vancomycine Intermediate *Staphylococcus aureus*

VRSA : Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus*

Liste des figures :

Figure 01 : *S. aureus* sous MP.

Figure 02 : Facteurs de virulence du *S. aureus*.

Figure 03 : Étapes de formation du biofilm.

Figure 04 : Virulence de la Spa.

Figure 05 : Représentation tridimensionnelle de la structure tertiaire des s/u LukF- PV et LukS- PV.

Figure 06 : Séquence d'assemblage de la leucocidine de *S. aureus*.

Figure 07 : Mécanisme d'action de la PVL.

Figure 08 : Le système du quorum sensing.

Figure 09 : Diversité bactérienne du microbiote humain selon le site anatomique.

Figure 10 : Arbre phylogénétique des sous-ensembles de groupes bactériens.

Figure 11 : Caractéristiques physiologiques et microbiotes associés des différentes niches écologiques du tube digestif.

Figure 12 : Composition du microbiome cutané.

Figure 13 : Schéma explicatif de la culturomique et de son intérêt.

Figure 14 : Matériels utilisés pour le prélèvement.

Figure 15 : Ensemencement du prélèvement sur le milieu Chapman et MH.

Figure 16 : Isolement et purification de *S. aureus*.

Figure 17 : Tests de coagulase.

Figure 18 : Coagulase positive.

Figure 19 : Coagulase négative.

Figure 20 : Tests de sensibilité aux antibiotiques.

Figure 21 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice sur micro-méthode.

Figure 22 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice sur macro-méthode.

Figure 23 : Test de β -lactamase.

Figure 24 : Préparation du matériel, et des suspensions de travail (contrôle + et - inclus).

Figure 25 : Dépôt des suspensions.

Figure 26 : Solidification de la première couche de gélose.

Figure 27 : Contrôle de la croissance des germes incorporés dans la gélose.

Figure 28 : Solidification de la deuxième couche de gélose.

Figure 29 : Inoculation des souches de portage.

Figure 30 : Dépôt du papier imbibé d'alcool.

Figure 31 : Répartition de la population selon le sexe.

Figure 32 : Répartition de la population selon les tranches d'âge.

Figure 33 : Répartition de la population selon la wilaya de provenance.

Figure 34 : répartition de la population selon la spécialité d'étude.

Figure 35 : répartition de la population selon la situation familiale.

Figure 36 : répartition de la population selon la notion de voyage international.

Figure 37 : répartition de la population selon la notion de promiscuité.

Figure 38 : Répartition de la population selon les antécédents d'hospitalisation.

Figure 39 : Répartition de la population selon les antécédents pathologiques.

Figure 40 : répartition de la population selon la prise d'antibiotiques dans les 06 derniers mois.

Figure 41 : Répartition de la population selon leur contact avec les animaux.

Figure 42 : Répartition de la population selon positivité des prélèvements.

Figure 43 : Répartition des sujets porteurs et non porteurs selon le sexe.

Figure 44 : Répartition des sujets porteurs et non porteurs selon la situation familiale.

Figure 45 : Répartition des sujets porteurs et non porteurs selon la spécialité d'étude.

Figure 46 : Répartitions des sujets porteurs et non porteurs selon la notion de voyage.

Figure 47 : Répartition des porteurs et non porteurs selon la notion de promiscuité.

Figure 48 : Répartitions des sujets porteurs et non porteurs selon la notion de contact animalier récent.

Figure 49 : Répartition des sujets porteurs et non porteurs selon le type de contact avec les animaux de compagnie.

Figure 50 : Profil global de sensibilité aux antibiotiques des souches isolés.

Figure 51 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches SASM (N=06).

Figure 52 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches SARM (N=54).

Figure 53 : Profil de sensibilité aux β -lactamines (N=60).

Figure 54 : Phénotype de résistance aux β -lactamines (N=58).

Figure 55 : Résultat de l'antibiogramme de la souche 31.

Figure 56 : Résultat de l'antibiogramme de la souche 59.

Figure 57 : Profil de sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux MLS.

Figure 58 : Phénotypes de sensibilité aux MLS.

Figure 59 : répartition des phénotypes de sensibilité aux MLS.

Figure 60 : phénotype de résistance LSA : image d'antagonisme entre Clindamycine et Pristinamycine.

Figure 61 : phénotype de résistance MLS_B inductible : image d'antagonisme entre Erythromycine et Clindamycine.

Figure 62 : Phénotypes de sensibilité aux aminosides.

Figure 63 : répartition des phénotypes de sensibilité aux aminosides.

Figure 64 : Phénotypes de sensibilité aux fluoroquinolones.

Figure 65 : répartition des phénotypes de sensibilité aux fluoroquinolones.

Figure 66 : Profil de sensibilité de *S. aureus* aux différentes familles d'antibiotique.

Figure 67 : distribution des zones d'inhibition de STX.

Figures 68-77 : résultats essais microbiote.

Liste des schémas :

Schéma 01 : Principales interactions bactériennes avec *S. aureus* nasal.

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Nature des pathologies citées.

Tableau 02 : Nature des antibiotiques prescrits dans les 06 derniers mois.

Tableau 03 : diamètres obtenue après lecture des antibiogrammes des souches 31 et 59



Partie théorique



Introduction :

Staphylococcus aureus est un germe indissociable de la médecine humaine et animale. Par sa virulence et sa résistance croissante aux antibiotiques couplée à un fitness génétique sans égal, cette bactérie est de loin l'un des germes captivant le plus les communautés scientifique et médicale.

Ce pathogène opportuniste se cache dans les fausses nasales de plus d'un tiers de la population mondiale. Ce gîte peut être le point de départ de nombreuses infections parfois redoutables pour le porteur lui-même mais aussi son entourage et son environnement.

Etant armé de nombreux facteurs de virulence somatiques et secrétés minutieusement régulé par le locus *agr*, ces structures permettent la colonisation et le portage, l'invasion et l'échappement immunitaire.

Actuellement, avec les avancées des techniques de typage moléculaire notamment métagénomiques, l'impact du microbiote nasal sur le portage de *S. aureus* se précise de plus en plus en particulier, se distingue le rôle protecteur de certains genres comme *Propionibacterium* et *Corynebacterium*.

En Algérie, bien que l'infection Staphylococcique constitue un véritable problème de santé publique, notamment en raison de la fréquence élevée que ce soit des souches CA-SARM ou HA-SARM, le nombre de publications Algériennes internationales sur *S. aureus*, tout domaines confondues, reste limité, en effet une recherche sur PubMed utilisant les mots clés (Staphylococcus aureus AND Carriage AND Human AND Algeria) donne moins de 10 articles.

Ce travail s'inscrit dans un continuum d'investigations du portage nasal de *S. aureus* en milieu communautaire ayant débuté en 2017. Le but initial étant d'en préciser les taux, les facteurs de risque les plus fréquents et les profils de sensibilité aux antibiotiques de souches de portage circulantes.

La nouveauté apportée dans ce travail est l'investigation du portage chez les étudiants en sciences médicales couplée à une expérimentation sur l'impact du microbiote nasal sur la culture des souches de portage.

Objectif principal

- Le dépistage du portage nasal de *Staphylococcus aureus* chez les étudiants de la faculté de médecine de l'université Mouloud Memmerie Tizi-Ouzou, et d'en étudier les facteurs de risque et la sensibilité aux antibiotiques.

Objectif secondaire

- Etudier la prévalence des souches de *S. aureus* résistant à la méthicilline.
- Identifier les facteurs de risque d'acquisition.
- Etudier l'impact du microbiote nasal sur la culture des souches de portage

CHAPITRE I :
GENERALITES SUR
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

CHAPITRE I : GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

1. Classification

Staphylococcus aureus appartient au

- Règne : Bacteria,
- Phylum : Firmicutes
- Classe : Bacilli
- Ordre : Bacilliales
- Famille : Staphylococcaceae
- Genre : *Staphylococcus* [1].

Les espèces du genre *Staphylococcus* sont scindées en deux groupes selon qu'elles produisent ou non la coagulase :

- Coagulase positive : dont *S. aureus* considéré comme l'espèce la plus pathogène.
- Coagulase négative : contient les espèces *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis* ... [2]

Le genre *Staphylococcus* comprend 53 espèces et sous-espèces dont sept sont à coagulase positive et quarante-six sont à coagulase négative (voir Annexe 1).

2. Habitat

2.1. Chez l'être vivant

S. aureus est une bactérie ubiquitaire, à l'inverse de certaines espèces de staphylocoques qui ont, eux un hôte préférentiel. *S. aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères dont les marins même si différents biotypes de souches de *S. aureus* pourraient être raccordés à des hôtes spécifiques. [3].

Chez l'homme, *S. aureus* est présent sur plusieurs sites corporels mais, colonise principalement les fosses nasales qui en constitue le principal gîte [4, 5, 6].

2.2. Dans l'environnement

S. aureus est une bactérie robuste très répandue dans l'environnement. Elle est capable de survivre dans un large éventail de biotopes. Ces capacités expliquent en partie la difficulté à éradiquer cette bactérie [7].

CHAPITRE I : GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

3. Caractères bactériologiques

3.1. Morphologie

Après coloration de Gram, *S.aureus* apparait comme des cocci à Gram positif, de 0,8 à 1µm de diamètre isolés ou groupés en diplocoque ou en amas ayant la forme de grappe de raisin, arrondis, immobiles, asporulés et la majorité sont capsulés [8,9].

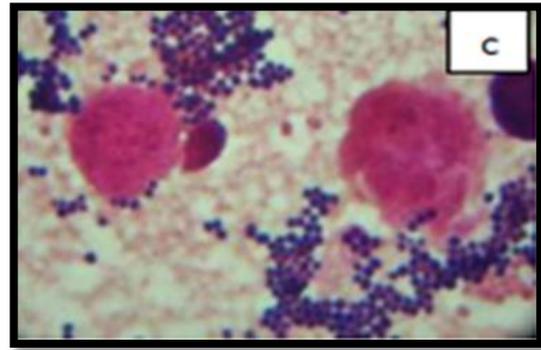


Figure n°1 : *S. aureus* sous MP. [10]

3.2. Génomes

Le génome du *Staphylococcus aureus* est un chromosome circulaire. Il se caractérise par sa complexité et sa plasticité. Il contient en général un plasmide contenant une trentaine de gènes [8].

Des études ont montré qu'environ 75% du génome est hautement conservé. La majorité de ces régions est impliquée dans des fonctions vitales pour la bactérie.

Le reste du génome est caractérisé par une variabilité génétique importante et ces régions sont dévolues à des fonctions non essentielles à la croissance et à la survie, cette variabilité provient de trois sources :

- La présence d'éléments extra chromosomiques à répllication autonome, les plasmides et les transposons, ces éléments ne codent pas de système propre de transfert horizontal, ils se propagent par conjugaison ou par transduction en mode « auto stop ».
- Les régions chromosomiques entières acquises ou perdues par un ou plusieurs génomes de l'espèce.
- Les mutations ponctuelles provenant le plus souvent du processus de métabolisme de l'ADN. [2]

4. Les caractères cultureux

S. aureus germe non exigeant, est capable de se développer dans des conditions hostiles. (Voir Annexe 2) [11].

CHAPITRE I : *GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

4.1. Milieux d'isolement

a. Milieux non sélectifs

Nombreux, les plus utilisés sont la gélose nutritive, gélose au sang, gélose TSA, gélose cœur-cervelle, Gélose BCP, gélose CLED et leurs équivalents en milieu liquide (BHI, bouillon TS).

Après 18 à 24 h d'incubation il est observé :

- En bouillon : culture rapide, trouble homogène puis un dépôt en quelques heures.
- Sur milieux gélosés : colonies opaques, régulièrement rondes, lisses, plus ou moins bombées avec un diamètre variant de 1,5 à 2 mm entourées d'une zone de β -hémolyse sur gélose au sang frais [12].

La plupart des souches produisent un pigment caroténoïde jaunâtre non diffusible, la formation de ce pigment peut apparaître tardivement ou s'intensifier après une incubation prolongée à température ambiante. Son rôle physiologique n'est pas bien connu. Les souches productrices apparaissent comme ayant, un métabolisme très actif et une diffusibilité épidémique [13].

b. Milieux sélectifs

Mettant à profit certains caractères trophiques de *S. aureus* :

- ✓ Gélose Chapman : donne des colonies jaunes dorée avec un virage du milieu vers le jaune orangé, par fermentation du mannitol par la bactérie.
- ✓ Gélose Baird Parker : utilisé en bactériologie alimentaire. Les colonies sont noires, brillantes, convexes, entourées d'un halo d'éclaircissement du jaune d'œuf (2 à 5 mm de diamètre, correspondant à une protéolyse). A l'intérieur de l'halo, il peut apparaître une zone opaque due à l'action d'une lécithinase [14,15]

5. Caractères biochimiques

- Métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif.
- Catalase positive à la différence du Streptocoque.
- Capable de fermenter le glucose à la différence des Microcoques.
- Capable de fermenter le mannitol à la différence de plusieurs SCN [9].

Les principaux caractères biochimiques qui permettent de différencier *S. aureus* des autres espèces : (voir annexe 3)

CHAPITRE I : GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

6. Structure antigénique et facteurs de virulence

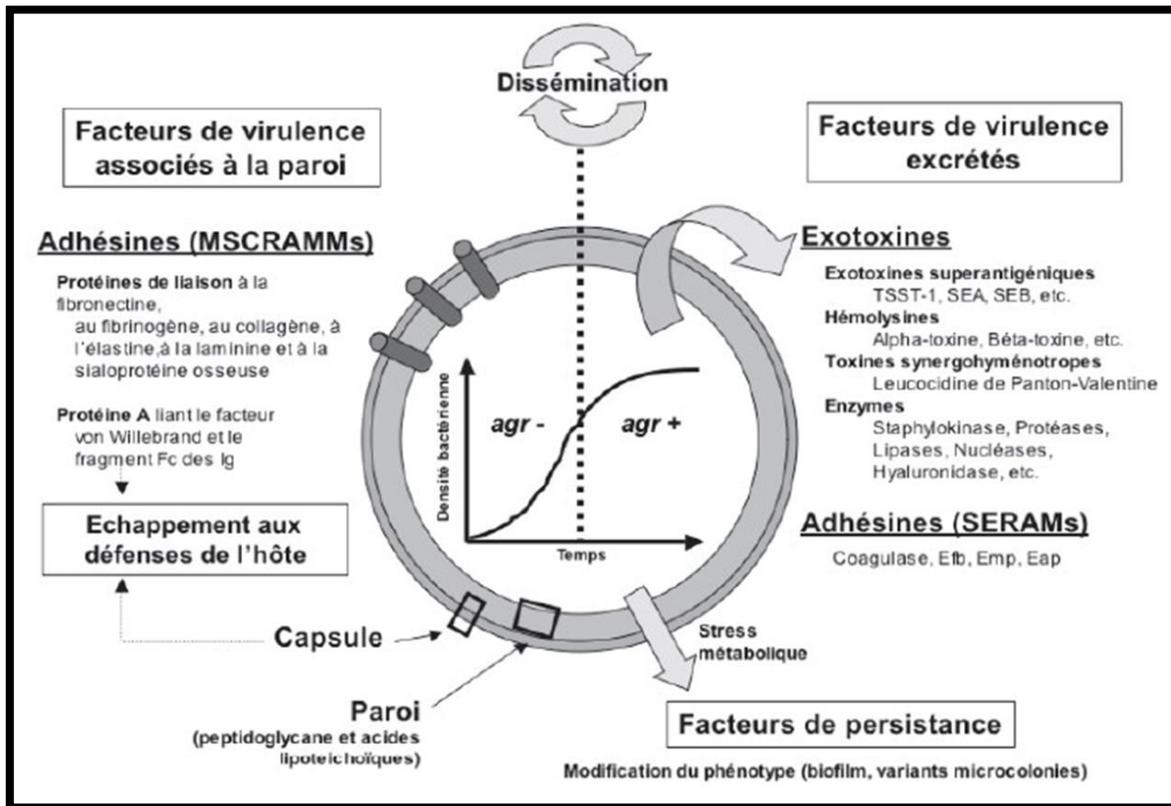


Figure n°2 : Facteurs de virulences du *S. aureus* [16]

6.1. Les composants de la paroi et de la capsule

a. Le peptidoglycane et les acides teichoïques

Le peptidoglycane permet la liaison de plusieurs protéines de surface, désignées MSCRAMM, ces dernières vont permettre l'adhésion à la surface des cellules à infecter. [1] Il présente une activité adjuvante et mitogène sur les LB et pourrait induire des cellules immunosuppressives, il est reconnu comme étant responsables d'effets toxiques semblables à ceux observés avec l'endotoxine des bactéries à Gram négatif. [2].

Les acides teichoïques sont des polysaccharides antigéniques liés de façon covalente aux chaînes de peptidoglycane [17]. Leur activité biologique exacte est peu connue [2]

b. La capsule

Certains isolats de *S. aureus* possèdent soit une capsule vraie, soit une pseudocapsule ou bien une microcapsule (Slime) [2]. Ces structures antiphagocytaires permettent aux anticorps d'accéder aux structures antigéniques de la paroi mais en masquant la reconnaissance par les polynucléaires neutrophiles [18]. La capsule est un matériau constituant majeur du biofilm [1].

CHAPITRE I : GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

➤ Biofilm chez *S. aureus*

S. aureus a la capacité à former des biofilms, constitués de plusieurs couches de cellules intégrées dans un glycocalyx et régulée par le système *agr*. Cette matrice est constituée de PIA qui sont eux-mêmes principalement formés de résidus de N-acétylglucosamine liés entre eux. La présence fréquente de la bactérie sur la peau lui offre une porte d'entrée efficace lors de l'implantation de matériel médical. Le biofilm formé alors sur ces surfaces garantit la protection de la bactérie contre le système immunitaire, les antibiotiques et est impliqué dans de nombreuses infections récurrentes chez l'homme [19].

La biosynthèse du biofilm est définie par 3 étapes-clés :

- ✓ Attachement primaire
- ✓ Maturation
- ✓ Détachement pour former de nouveaux foyers infectieux [19].

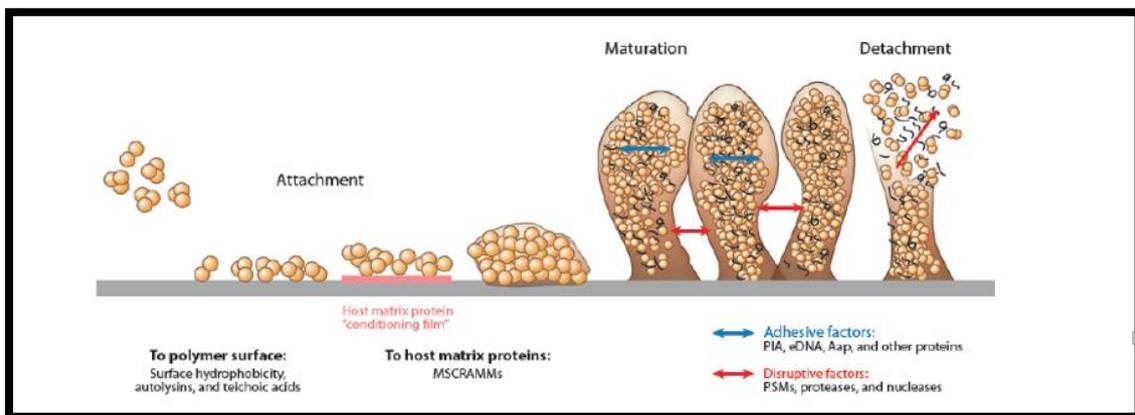


Figure n°3 : Étapes de formation du biofilm [20]

6.2. Les protéines de surface : se décomposent en deux classes

6.2.1. Les MSCRAMMs (*Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*)

Ce sont des facteurs d'adhésion fixés au peptidoglycane, il en existe plusieurs et ont en commun une structure particulière. Néanmoins ils ont des rôles différents car ils agissent sur différents composants : [21]

- **Protéine de liaison au collagène :** L'attachement au collagène est nécessaire pour l'adhésion de *S. aureus* au cartilage [22].

CHAPITRE I : *GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

➤ **La protéine de liaison au fibrinogène** : provoque l'agrégation des bactéries en présence du plasma par transformation du fibrinogène en fibrine [23].

➤ **Protéine de liaison à la fibronectine**

6.2.2. Les SERAMs (*secretable expanded repertoire adhesive molecules*)

Ce terme regroupe plusieurs protéines sécrétées [1] :

➤ **La protéine Eap** : son rôle est de faciliter sa propre phagocytose, sa fixation aux produits de dégradation de la matrice extracellulaire, ainsi, *S. aureus* s'attaque de préférence aux tissus lésés et masque les récepteurs des leucocytes pour limiter leur infiltration [1].

➤ **La protéine Efb** : contrecarre l'activation du complément, l'opsonisation et l'agrégation plaquettaire [1].

➤ **La protéine A ou Spa** : la plus abondante chez *S. aureus*.

Codée par le gène *spa*, c'est une protéine de 42 kDa qui peut être présente sous deux formes : sécrétée ou associée à la paroi. C'est un facteur de virulence majeur et pléiotropique. Elle possède 5 domaines extracellulaires (A à E).

La Spa est capable d'interagir avec plusieurs facteurs de l'hôte :

- Fragments Fc des IgG au niveau du site même de reconnaissance par le RFc des neutrophiles expliquant son effet anti-opsonisation et anti-phagocytaire.
- Régions variables du Fab des IgM entraînant l'activation des lymphocytes B et une prolifération cellulaire polyclonale (effet superantigène) provoquant ainsi l'apoptose et l'épuisement des défenses immunitaires.
- Le TNFR-1 : sa stimulation entraîne une réponse pro-inflammatoire qui est délétère pour l'épithélium respiratoire.
- Enfin, la protéine A module l'agrégation des plaquettes via trois interactions :
 - Interaction avec le facteur Von Willebrand, impliquée dans les endocardites.
 - Interaction directe avec les plaquettes grâce au **récepteur de la glycoprotéine gC1qR**.
 - Interaction indirecte via le complexe IgG-SpA [16].

CHAPITRE I : GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

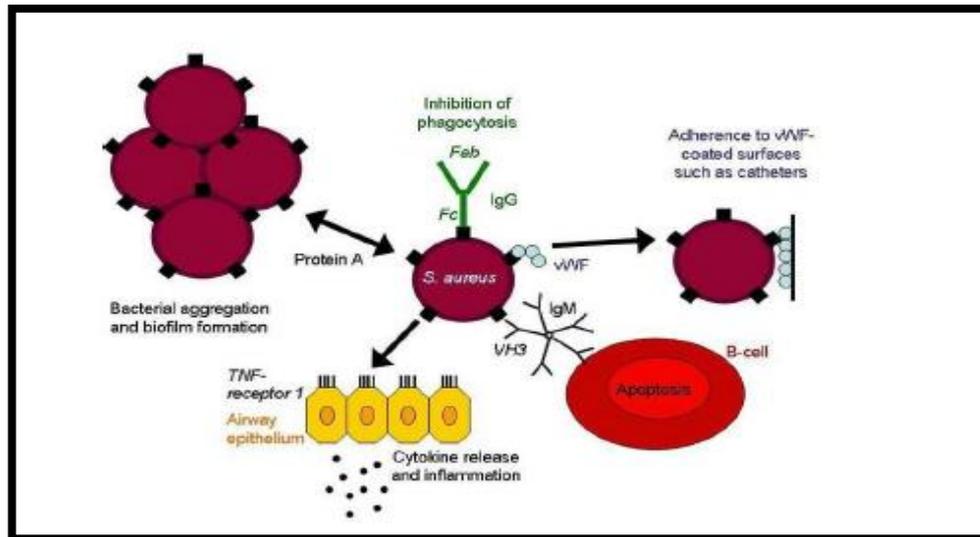


Figure n°4 : Virulence de la Spa [24]

6.3. Substances élaborées par *S. aureus*

6.3.1. Les enzymes

Il existe plusieurs enzymes non toxiques parmi lesquelles :

- La coagulase libre** : exo-enzyme, thermostable, son domaine N-terminal s'associe à la prothrombine pour former la staphylothrombine responsable de la polymérisation du fibrinogène en fibrine d'où la coagulation du plasma d'homme ou de lapin [2].
- La staphylokinase ou fibrinolysine** : caractéristique des souches pathogènes humaines. En activant le plasminogène en plasmine, elle provoque la dislocation des caillots endoveineux qui libère des micro-embolus septiques [25].
- Fatty acid modifying enzyme** : substance thermolabile, antigénique, modifie les lipides antibactériens de l'hôte et est exprimée par 80% des souches de *S. aureus* [26].
- Catalase** : inhibe la bactéricidie intraleucocytaire en empêchant la formation, par les globules blancs, de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie [27].

6.3.2. Les toxines

a) Groupe des hémolysines

Ils en existent quatre groupes distincts : l'hémolysine α , l'hémolysine β , l'hémolysine δ et les PVL [1].

CHAPITRE I : GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

- **La leucocidine de Panton Valentine (PVL)**

Les CA-SARM peuvent porter une leucocidine très toxique, la PVL, toxine synergohyménotrope composée de deux sous-unités protéiques : LukF-PV et LukS-PV, codés respectivement par les gènes *LukF-PV* et *LukS-PV*. Ces deux composés sont capables de s'assembler en oligomères et de se fixer spécifiquement sur la membrane des cellules phagocytaires de l'humain et du lapin [28].

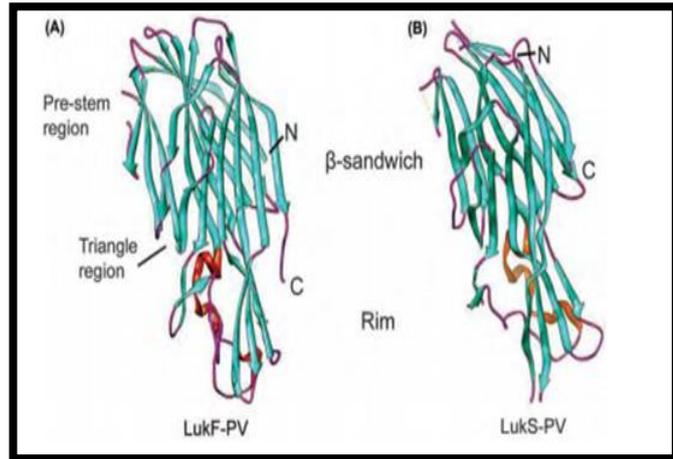


Figure n°5 : représentation tridimensionnelle de la structure tertiaire des s/u LukF- PV et LukS-PV[29].

Ces molécules s'assemblent dans le milieu extérieur pour former de grands ensembles protéiques capables de s'enchâsser dans la bicouche phospholipidique des membranes en formant des pores capables de laisser passer les ions calcium et potassium. Ce mécanisme semble être la base de la cytotoxicité de la PVL [30].

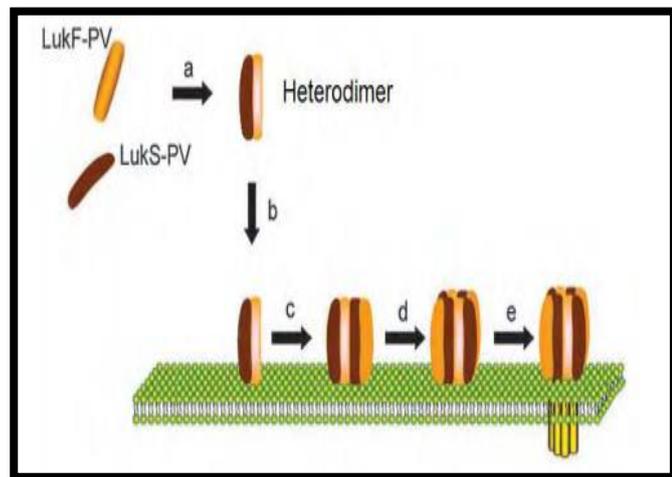


Figure n°6 : séquence d'assemblage de la leucocidine de *S. aureus* [29].

La fixation de la toxine se fait par le biais de la sous-unité LukS-PV qui reconnaît le C5aR qui n'est présent en abondance que sur les polynucléaires, les macrophages et les monocytes [31].

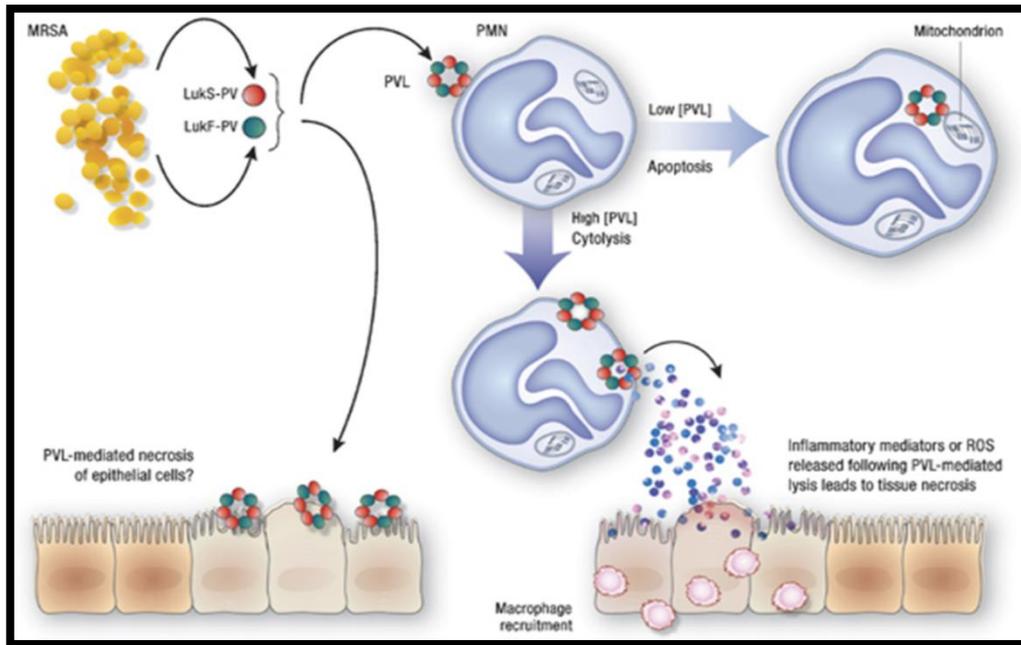


Figure n°7 : Mécanisme d'action de la LPV [32].

La toxicité cellulaire de la PVL s'exprime de deux façons :

A faible concentration, elle a essentiellement une activité pro-apoptotique sur les polynucléaires.

A forte concentrations, l'effet dominant de la PVL est la nécrose [33]. Pratiquement toutes les souches isolées de lésions dermonécrotique primitives et sévères expriment la *PVL* [34].

b) Exfoliatine ou épidermolysine

Toxine à tropisme cutané, c'est une sérine-protéase épidermolytique impliquée uniquement dans certaines pathologies cutanées spécifiques : l'impétigo bulleux et le syndrome d'exfoliation généralisée [35]. Trois exfoliatines ont été identifiées : ETA, ETB, ETD.

L'exfoliatine se lie avec le domaine extracellulaire de la desmogléine-1, qui est un des composants essentiels (desmosomes) de l'adhésion intercellulaire au niveau de la peau et des muqueuses entraînant une modification de la configuration de la protéase rendant son site actif accessible. La protéase clive le domaine extracellulaire de la desmogléine-1, ce qui aboutit à une disjonction intercellulaire [36].

CHAPITRE I : GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

7. Régulation des facteurs de virulence

L'expression coordonnée des facteurs de virulence en fonction des signaux extracellulaires est contrôlée par le système *agr*. Il induit l'expression d'exoprotéines, pendant la phase stationnaire, en même temps qu'il réprime l'expression des protéines de surface, pendant la phase de croissance.

Un polymorphisme du système *agr* impliquant 4 allèles a été décrit chez *S. aureus*. Ce polymorphisme pourrait expliquer en partie les interférences de colonisation et d'infection entre des souches de *S. aureus* appartenant à différents allèles [37].

7.1. Quorum sensing

C'est un phénomène de communication entre les bactéries par sécrétion, en permanence, de molécules de signalisation appelées autoinducteurs (AI). Lorsque leur concentration dépasse un certain seuil, les signaux se lient à leurs récepteurs et l'expression des gènes des bactéries est alors changée et synchronisée dans tous les individus de la colonie [38].

Chez *S. aureus*, le locus du gène *agr* contient quatre gènes : A à D.

La forme active de l'AIP, codé par le gène *agrD*, est coupée et sécrétée dans le milieu extérieur par la protéine membranaire *AgrB*. La protéine *AgrC* est une kinase membranaire à laquelle se lient les AIP extra-cellulaires ce qui entraîne une autophosphorylation de l'*AgrC* et l'activation de la protéine *AgrA*. Cette protéine *AgrA* induit alors la transcription au niveau des sites promoteurs appelés P2 et P3 ce qui permet la production des *ARNII* et *ARNIII*.

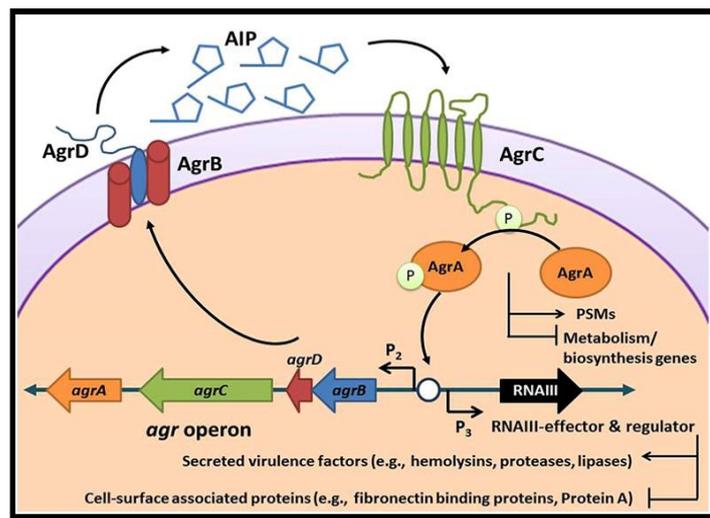


Figure n°8 : Le système du quorum sensing [16].

L'ARNIII est l'effecteur du quorum sensing : il réduit l'expression des facteurs de virulence impliqués dans les mécanismes d'adhésion et d'échappement au système immunitaire et augmente l'expression des toxines et enzymes.

Quatre groupes d'*agr*, produisant chacun leur propre AIP, ont été identifiés chez *S. aureus* [39].

CHAPITRE I : *GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Un deuxième système de régulation indépendant du système *agr*, désigné *sar* comporte au minimum trois promoteurs différents (P1 à P3) conduisant à la synthèse de trois transcrits [40] :

- *sarA* et *sarB* : principalement exprimés en phase exponentielle de croissance.
- *sarC* : principalement exprimé en phase post-exponentielle de croissance.

Le *sarA* serait un activateur transcriptionnel du promoteur P2 d'*agr*, lequel permet secondairement l'activation du promoteur P3. Il existe donc une cascade de régulation (*sar*→*agr*→gènes cibles) pour les gènes co-régulés par *sar* et *agr* [41].

CHAPITRE II :
SENSIBILITE DE
***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUX**
ANTIBIOTIQUES

CHAPITRE II : SENSIBILITE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUX ANTIBIOTIQUES

1. Généralités

S. aureus est habituellement sensible à une grande variété de familles d'antibiotiques hormis les Monobactames, les quinolones de premières générations et les peptides cycliques. Cependant depuis leur mise sur le marché, *S. aureus* fut la première bactérie à développer une résistance acquise aux antibiotiques. A l'heure actuelle, l'émergence de ces résistances reste un problème majeur de santé publique et continue d'inquiéter les professionnels de santé. De ce fait le spectre des antibiotiques choisis en thérapeutique doit être restreint et spécifique des germes causant l'infection afin de limiter l'impact sur le microbiote et l'émergence des résistances [42].

2. Profil de sensibilité et mécanisme de résistances de *S. aureus* aux différentes familles d'antibiotiques

2.1. Aminosides

2.1.1. Mécanisme d'action

Molécules agissant sur la traduction des ARNm et la synthèse des protéines en interférant avec la sous-unité 30S des ribosomes et donne des protéines non-sens qui entraînent la mort bactérienne [43]. Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides rapides et puissants [1].

2.1.2. Mécanisme de résistance

La résistance est apportée par des transposons ou des plasmides, et peut être assurée par 3 mécanismes différents : [44,45]

- Modification enzymatique des aminosides, mécanisme le plus répandu [46].
- Altération de la cible ribosomale.
- Altération de la perméabilité à l'antibiotique [44,45].

2.2. Les β -lactamines :

Premiers antibiotiques découverts, isolées à partir de *Penicillium* [47].

2.2.1. Mécanisme d'action des β -lactamines

Ce sont des antibiotiques bactéricides et ont comme site d'action les PLP qui sont des enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi. Les souches sauvages de *S. aureus* possèdent quatre PLP dont les PLP1, 2 et 3 sont essentielles à sa survie et la PLP4 est accessoire [47].

La fixation covalente entre les PLP et les β -lactamines induit un blocage des réactions de transglycosylation et transpeptidation consécutif à l'acylation des PLP, ainsi qu'une stimulation de l'activité des auto-lysines [48].

CHAPITRE II : SENSIBILITE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUX ANTIBIOTIQUES

2.2.2. Mécanisme de résistance

2.2.2.1. Résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases

Premier mécanisme de résistance à un antibiotique décrit et identifié.

En effet, en 1942, la découverte de la pénicillinase, produit d'expression du gène *blaZ* porté par un plasmide ou un transposon et capable d'hydrolyser le cycle β -lactame, a induit le phénomène de résistance aux antibiotiques. Ces enzymes ne sont pas capables d'inactiver les pénicillines M et les céphalosporines. De plus, il existe des inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) qui restaurent l'activité des antibiotiques qui leur sont associés. [1].

2.2.2.2. Résistance à la méticilline

❖ Génome du SARM

Le SARM est né après avoir acquis un élément génétique appelé *SCCmec*, il s'agit d'un fragment d'ADN qui s'intègre dans le chromosome du staphylocoque à un site unique (*attB_{scc}*). Pour son intégration chromosomique le *SCCmec* porte deux gènes spécifiques *ccrA* et *ccrB*. Ces complexes contiennent entre autres le gène *mecA*, codant pour la résistance aux bêtalactamines. En effet, *mecA* permet la production de la PBP2a de faible affinité pour les β -lactamines.

Il existe 04 types de *SCCmec*:

- Le type I qui s'est disséminé à partir des premières souches de SARM, ne contient que le gène *mecA*.
- Les types II et III sont devenus dominants dans les années 1980, et contiennent plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques.
- Un type IV résulte d'une nouvelle combinaison d'un complexe *ccr* de type 2 et d'un complexe *mec* de classe B, et qui est retrouvé chez les différentes souches de CA-MRSA isolées dans le monde. Cet élément ne contient pas d'autre gène de résistance que *mecA*, ce qui explique que les CA-SARM sont largement sensibles aux antibiotiques autres que bêta-lactamine [49].

☞ Mécanisme de résistance

Il s'agit d'une résistance acquise par modification de la PLP2. La nouvelle PLP2a produite à une faible affinité vis-à-vis de toutes les β -lactamines.

La PLP2a possède la capacité de catalyser seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont inactivées par les β -lactamines. Son expression peut être hétérogène au sein d'une même souche. Ils existent quatre classes d'expression de I à IV [50].

CHAPITRE II : SENSIBILITE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUX ANTIBIOTIQUES

2.2.2.3. Autres mécanisme de résistance à la méticilline

Ces résistances sont de bas niveau et sont nommés BORSA et MODSA.

- BORSA : Les mécanismes impliqués peuvent être divers mais le plus fréquemment retrouvé est une hyper production de la pénicillinase [47].
- MODSA : la résistance résulte de la modification des PLP majeures (PLP-1 et 2) en faveur d'autres PLP d'affinité moindre comme la PLP-4 [47].

2.3. Fluoroquinolones

2.3.1. Mécanisme d'action

Ces antibiotiques ont comme cible la synthèse des acides nucléiques. Ils agissent sur les topoisomérases ou ADN gyrases. Les fluoroquinolones vont interagir avec les complexes ADN/topoisomérases et inhibent cette activité indispensable à la réplication et à la survie de la bactérie. Ces molécules ont une activité bactéricide concentration-dépendante vis-à-vis de *S. aureus* [1].

2.3.2. Mécanisme de résistance

Cette résistance est due à deux mécanismes de type chromosomique exclusivement.

- La première est une mutation du gène *parC*. L'antibiotique ne pourra plus se fixer sur le complexe ADN/ topoisomérase. Ce mécanisme de résistance est de haut niveau [51].
- La seconde étant liée à une surexpression des pompes à efflux *NorA* [52].

2.4. Fusidanes

Cette famille d'antibiotiques stéroïdique est représentée par une seule molécule : l'acide fusidique [53].

2.4.1. Mécanisme d'action

L'acide fusidique est un bactéricide inhibiteur de la biosynthèse des protéines, il bloque la traduction en complexant le facteur d'élongation (EF-G) [54].

2.4.2. Mécanisme de résistance :

Peut-être chromosomique par mutation du gène *fusA* codant le facteur EF-G ou plasmidique par défaut de pénétration dans la bactérie (gène *fusB* ou *fusC*) [55].

CHAPITRE II : SENSIBILITE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUX ANTIBIOTIQUES

2.5. Glycopeptides

Antibiotiques bactéricides réservés au traitement des infections à SARM multi-résistant. L'émergence de la résistance été notifiée au Japon en 1977, elle est rare mais fait l'objet d'une surveillance étroite [56].

2.5.1. Mécanisme d'action

Ces molécules agissent sur le peptidoglycane des bactéries à Gram+, en se fixant sur le dimère D-alanyl-D-alanine entrainant le blocage de la transglycosilation [57].

2.5.2. Mécanisme de résistance

Regroupés principalement en deux sous types :

-VRSA : haut niveau de résistance, CMI ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ suite à l'acquisition de l'opéron VanA des Entérocoques. Dans ce cas, le dimère D-alanyl-D-alanine est substitué par le D-alanyl-D-lactate de faible affinité pour les glycopeptides [51,58].

-Les souches de sensibilité diminuée aux Glycopeptides : rares, principalement retrouvés chez les SARM et englobe selon le phénotype les souches VISA, GISA et h-VISA.

Les mécanismes menant à ces phénotypes sont multiples dont l'épaississement de la paroi, l'autolyse importante, l'expression de la PLP-4 peu active ainsi que l'hyperproduction de précurseurs du peptidoglycane ont été évoqués.

2.6. Macrolides, Lincosamides et Synergistines (MLS)

Regroupe les Macrolides et les macrolides apparentés (Lincosamides et Synergistines).

2.6.1. Mécanisme d'action

Ces antibiotiques possèdent le même mécanisme d'action en se fixant sur la sous-unité 50S des ribosomes et inhibent ainsi la synthèse protéique par encombrement stérique, les macrolides et lincosamides sont des antibiotique bactériostatiques vis-à-vis des *S. aureus* tandis que les Synergistines sont bactéricides [43].

2.6.2. Résistance aux MLS

Trois mécanismes ont été décrits : la modification de cible, l'inactivation et l'efflux, le mécanisme de résistance le plus connu est la modification de la cible ribosomale [43].

2.7. Phénicolés

La principale molécule est le chloramphénicol [54].

CHAPITRE II : SENSIBILITE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUX ANTIBIOTIQUES

2.7.1. Mécanisme d'action

Les phénicolés se fixent à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens et inhibent la synthèse des protéines en empêchant la liaison du complexe amino-acyl-ARNt à son site de fixation [54].

2.7.2. Mécanisme de résistance

Il existe trois mécanismes de résistance aux phénicolés :

- Une réduction de la perméabilité de l'antibiotique.
- Une mutation de la sous unités 50S du ribosome bactérien.
- Présence de l'enzyme chloramphénicol acétyltransferase qui neutralise l'antibiotique [54].

2.8. Les ATB phosphoniques

Cette famille est représentée par la Fosfomycine.

2.8.1. Mécanisme d'action

La fosfomycine agit sur la paroi bactérienne. Elle inhibe la synthèse du peptidoglycane en rendant inapte l'enzyme énoylpyruvyl-transférase. Les antibiotiques phosphoniques sont bactéricides envers *S. aureus* [59].

2.8.2. Mécanisme de résistance

Cette résistance est due à deux mécanismes :

- Mutation chromosomique au niveau du gène *murA*
- Production d'une protéine FosB qui hydrolyse la fosfomycine en ouvrant le noyau époxyde [59].

2.9. Rifamycines

La molécule rifamycine est divisée en sept rifamycines différentes A, B, C, D, E, S et SV [57].

2.9.1. Mécanisme d'action

Ces molécules se lient à la sous-unité β de l'ARN polymérase-ADN dépendante et bloquent l'initiation de la transcription de l'ADN bactérien en ARN messager [57].

2.9.2. Mécanisme de résistance

Des mutations sur le gène *rpoB* qui code la sous-unité β de l'ARN polymérase-ADN dépendante altèrent la structure de l'ARN polymérase site d'action de la rifamycine [43].

2.10. Sulfamides et triméthoprime ou pyriméthamine

Les sulfamides ne peuvent pas être utilisés seuls (sauf pour le sulfaméthizole) mais en association avec le triméthoprime [60].

CHAPITRE II : SENSIBILITE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUX ANTIBIOTIQUES

2.10.1. Mécanisme d'action

Ces molécules agissent en synergie et sont impliquées dans la synthèse des folates. Les sulfamides entrent en compétition avec le PAB ce qui va enrayer l'action de la DHPS et ainsi la synthèse des dihydrofolates est bloquée. Le triméthoprimine exécute son intervention en aval des sulfamides, il neutralise la DHFR et stoppe la synthèse des folates. Les sulfamides sont des antibiotiques bactériostatiques mais leur association avec le triméthoprimine rend leur activité bactéricide [60].

2.10.2. Mécanisme de résistance

Plusieurs mécanismes existent :

- Une imperméabilité d'origine chromosomique ou plasmidique.
- Une augmentation significative de DHPS ou de DHFR par hyperproduction [61].

2.11. Tétracyclines et glycylyclines

Ces molécules font partie d'un groupe homogène structurellement et ont comme point commun quatre cycles (tétracyclines) [60].

2.11.1. Mécanisme d'action

Ces molécules agissent au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en inhibant l'élongation peptidique. Ils sont bactériostatiques envers le SARM [60].

2.11.2. Mécanisme de résistance

Peut-être de deux types, le premier entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines situées dans la membrane interne, le second entraîne une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines [60].

2.12. Acide pseudomonique

La mupirocine est la seule représentante, elle est utilisée en thérapeutique par voie locale (nasale) dans le but de décoloniser le portage de SARM [53].

2.12.1. Mécanisme d'action

Inhibe la synthèse protéique en se liant à l'isoleucyl-ARNt synthétase des bactéries, ce qui entraîne une compétition sélective entre la mupirocine et l'isoleucine, substrat de l'isoleucyl-ARNt synthétase [62].

2.12.2. Mécanisme de résistance

Selon les souches de *S. aureus*, deux types de résistances sont recensés :

CHAPITRE II : SENSIBILITE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUX ANTIBIOTIQUES

- Une résistance de bas niveau (CMI allant de 8 à 256 mg/L) : liée à une mutation du gène *ileS* qui code l'isoleucyl-ARNt synthétase. La mutation du gène implique que l'antibiotique ne peut plus se fixer sur l'enzyme.
- Une résistance de haut niveau (CMI = 512 mg/L) nécessite l'acquisition d'un plasmide ayant le gène *mupA*. Ce déterminant modifie également l'isoleucyl-ARNt synthétase [62].

CHAPITRE III :
ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

1. Introduction

Comme tous les mammifères, l'homme naît axénique et doté d'un système immunitaire peu efficace [63]. Dès son passage ex utero, il est exposé à une avalanche de bactéries qui vont progressivement coloniser sa peau puis ses cavités naturelles, par vagues successives finement régulées, pour atteindre un équilibre à l'âge adulte [64-65]. Cette remarquable adaptation microbiologique joue un rôle important dans la mise en place du système immunitaire, et est prédictive de la santé future de l'individu [66]. Le microbiote de l'adulte constitue alors un véritable écosystème, estimé à près de 1150 espèces bactériennes différentes portées par l'homme, correspondant à 10 fois plus de bactéries que de cellules humaines et 100 fois plus de gènes bactériens qu'humains [67-68]. Son équilibre est dynamique du fait des nombreuses interactions à la fois entre les microorganismes, et leur hôte ; tout dysmicrobisme pouvant initier un processus pathologique, infectieux, immunitaire ou inflammatoire [66]. La santé de l'homme est donc directement liée à celle de son microbiote. Cette niche écologique complexe est également soumise aux conditions locales et environnementales, ce qui est particulièrement vrai pour le microbiote cutané en contact direct avec l'environnement extérieur [69].

2. L'Homme et ses microbiotes

L'Homme n'héberge pas un mais plusieurs microbiotes et leur prolifération dépend totalement de leur lieu d'hébergement.

Source de nutriments, conditions d'humidité, présence ou absence d'oxygène, plusieurs facteurs influencent la nature des microorganismes capables de proliférer dans telle ou telle zone [70].

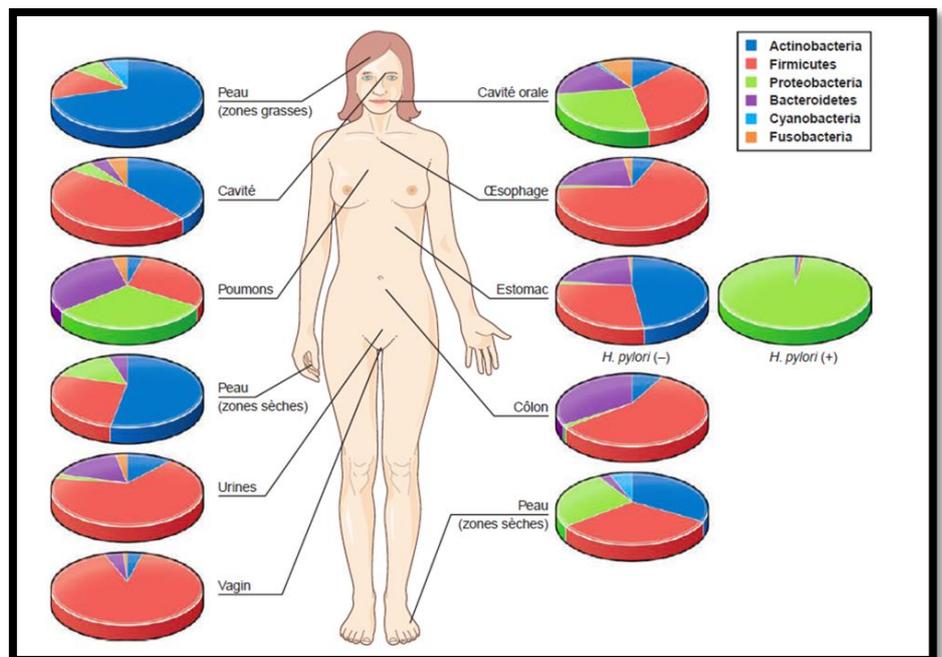


Figure n° 9 : Diversité bactérienne du microbiote humain selon le site anatomique [71].

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

Les espèces bactériennes appartiennent à différents phyla que l'on peut ordonner sur un arbre dit "phylogénétique"[70].

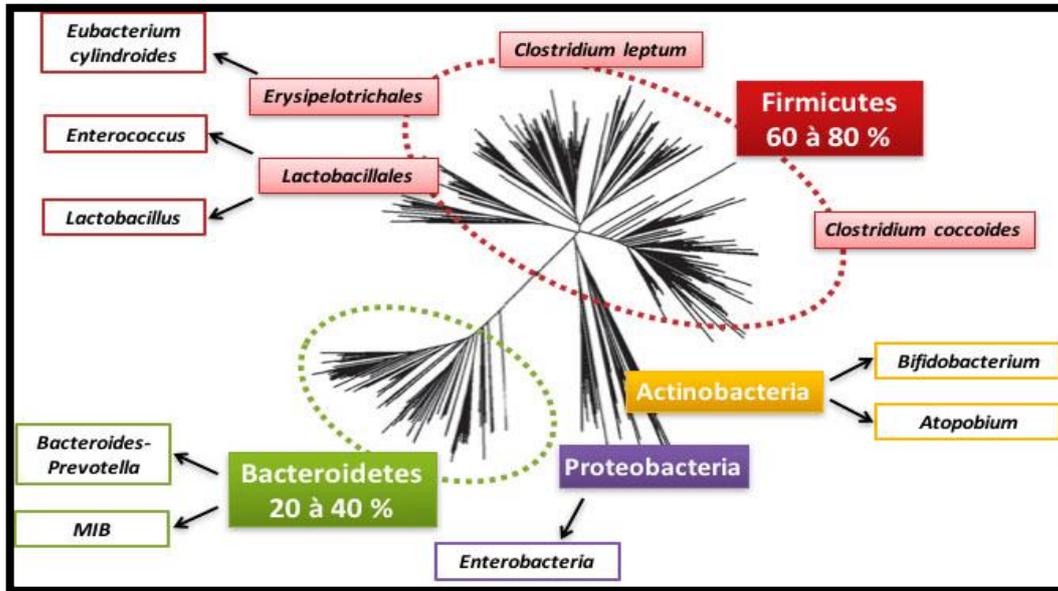


Figure n° 10 : arbre phylogénétique des sous-ensembles de groupes bactériens [70].

Les trois phyla majoritaires sont les Firmicutes, les Bacteroidetes, et les Actinobacteria qui sont identifiées chez tous les individus d'où ressortent deux grandes catégories d'espèces, qui sont :

- présentes chez tous les individus : noyau central
- propres à chaque individu : identité métagénomique [72].

Les Proteobacteria et les Verrucomicrobia sont minoritaires mais néanmoins essentiels [70].

Les phyla regroupent plusieurs familles bactériennes dans lesquelles on retrouve différents genres et espèces. Ainsi au sein du phylum des Firmicutes, on retrouve par exemple le genre bactérien Staphylococcus [71].

2.1. Microbiote intestinal

C'est l'ensemble des micro-organismes colonisant le tube digestif et vivant en harmonie avec l'hôte. Il est considéré comme un organe à part entière et possède ses propres moyens de communication avec l'ensemble de l'organisme [73].

Les bactéries du microbiote intestinal sont essentiellement anaérobies strictes (75 %). A peine 30 % d'entre elles sont cultivables en milieu d'étude classique.

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

On estime aujourd'hui que chaque individu adulte héberge en dominance dans son tube digestif un millier d'espèces bactériennes différentes. La densité bactérienne atteint son maximum dans le côlon distal avec 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme de contenu. L'utilisation d'outils moléculaires a montré que la plus grande partie (deux tiers environ) des espèces dominantes observées dans le microbiote fécal d'un individu lui est propre. Trois phyla bactériens, Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria rassemblent la plus grande part des bactéries fécales dominantes (voir annexe 4).

La structure et la biodiversité du microbiote intestinal varient significativement selon l'étage anatomique du tube digestif. Il y a notamment une différence marquée en nombre de bactéries qui va de 10^1 à 10^{12} par gramme de contenu de l'œsophage au colon (ce dernier contenant environ 70 % des micro-organismes du microbiote humain). Ce gradient de densité bactérienne est aussi proportionnel à l'augmentation du pH, la baisse de la tension en O₂ et la diminution de la vitesse du transit. Il y a également une différence axiale entre le microbiote de la lumière intestinale et celui associé à la muqueuse [75].

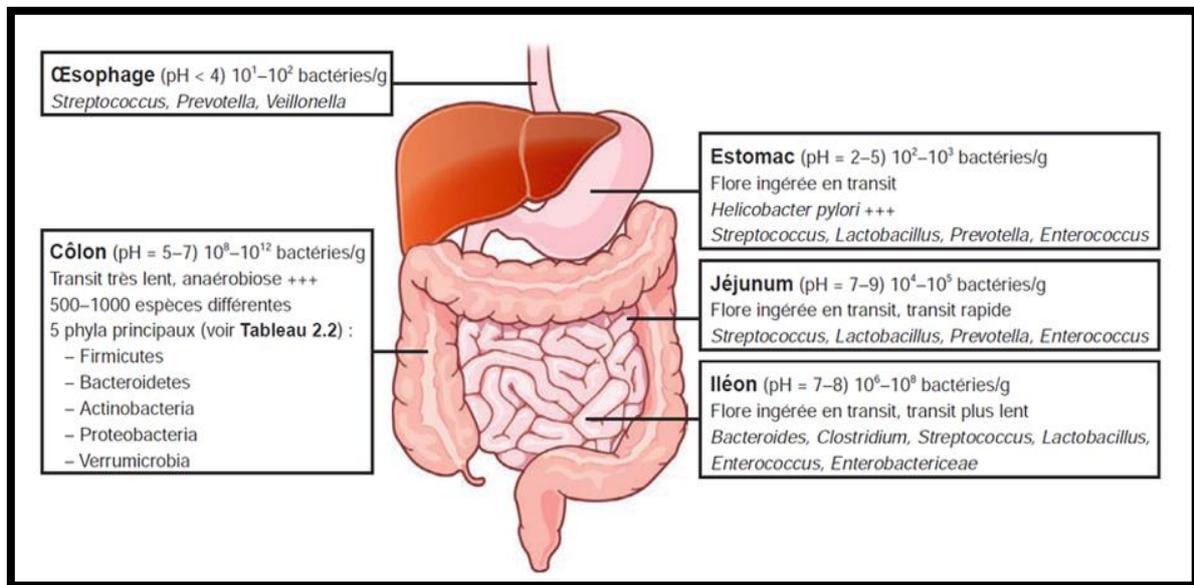


Figure n° 11 : Caractéristiques physiologiques et microbiotes associés des différentes niches écologiques du tube digestif [71].

Alors que la composition du microbiote intestinal est très divergente d'un individu à un autre, la métagenomique a montré que les fonctions portées par les gènes du microbiote sont similaires d'une personne à l'autre [71-76].

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

2.2. Microbiote cutané

Dès la naissance, de nombreux germes de l'environnement et une flore cutanée vont coloniser la peau. Cette flore vit sur la surface et dans la profondeur de l'épiderme. Elle réalise ainsi un écosystème complexe dont la composition résulte d'un équilibre entre les conditions locales et les propriétés métaboliques de ces microorganismes [77]. Ainsi, les bactéries aérobies se développent sous la forme de microcolonies dans les couches externes du *stratum corneum*, alors que les bactéries anaérobies se rencontrent principalement dans la profondeur des follicules pileux [78].

La diversité microbienne est très importante, quatre principaux phyla, composés de milliers d'espèces différentes, sont retrouvés : Actinobacteria (52 %), Firmicutes (24 %), Proteobacteria (16 %) et Bacteroidetes (6 %). Il existe de grandes variations du microbiote cutané selon la localisation anatomique.

- ✓ Les sites « gras » : prédominance de micro-organismes lipophiles comme les espèces du genre *Propionibacterium* (*Propionibacterium acnes*), principaux résidents de l'unité pilosébacée.
- ✓ Les sites « humides » : principalement *Staphylococcus* spp. (*Staphylococcus epidermidis*) et *Corynebacterium* spp. (*Corynebacterium jeikeium*), tandis que les *Pseudomonas* spp sont aussi bien représentés.
- ✓ Les sites « secs » : diversité plus importante avec une abondance (40 %) de bactéries à Gram négatif (*Acinetobacter* spp.) suivies des genres *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* et *Staphylococcus*.

La diversité bactérienne est généralement moins importante dans les zones « grasses » tandis qu'elle est la plus élevée dans les zones sèches exposées [71].

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

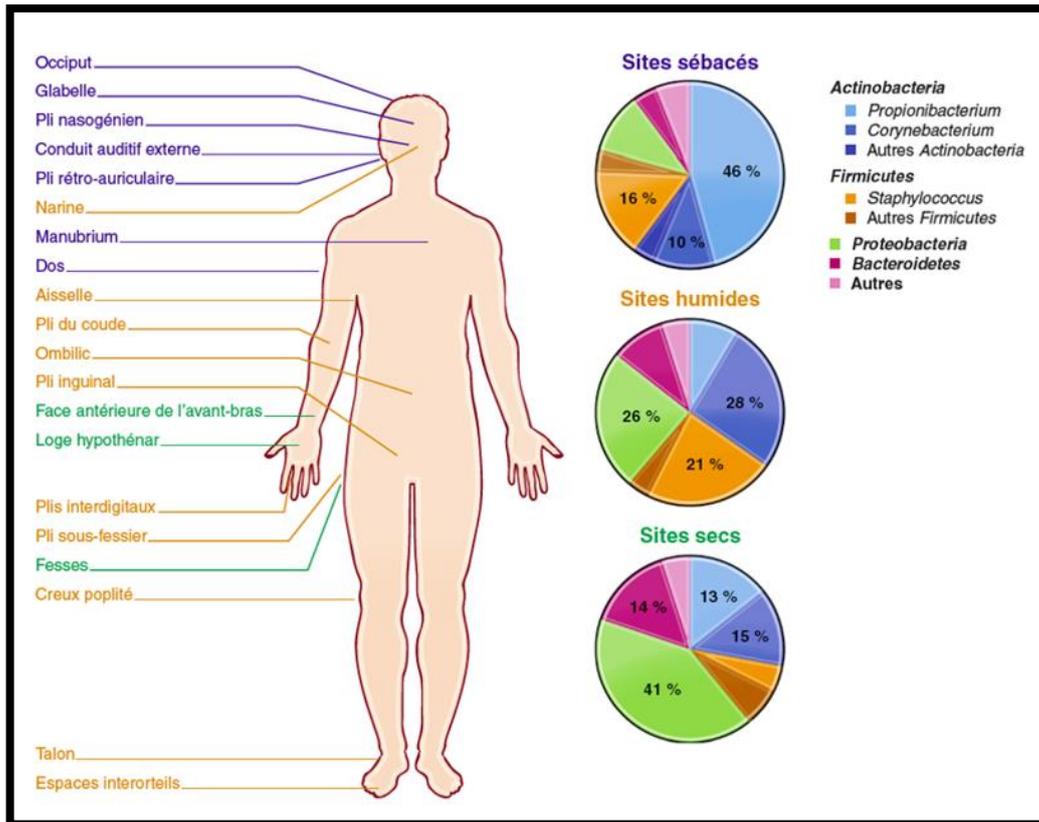


Figure n° 12 : Composition du microbiome cutané [79].

2.3. Microbiote respiratoire

La cavité nasale et le nasopharynx contiennent : Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria et Fusobacteria [71].

Le microbiote nasal a une diversité relativement faible au niveau des phylums bactériens. La plupart des échantillons ont été dominés par les Actinobactéries (en particulier le genre *Corynebacterium*), Firmicutes (principalement *Staphylococcus* ou *Dolosigranulum*), Gammaproteobacteria (en particulier *Moraxella*) et, dans certains cas, Fusobacteria, ou Bacteroidetes. D'autres phyla ne représentaient collectivement qu'une faible proportion des bactéries présentes [80].

Les espèces du nasopharynx sont pour la plupart celles retrouvées au niveau des narines et de l'oropharynx (*Streptococcus*). Les pathogènes bien connus peuvent également coloniser les voies aériennes supérieures, comme *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* mais aussi *Neisseria meningitidis*. La capacité de

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

colonisation et la densité de pathogènes potentiels peuvent être modulées par les bactéries commensales [71].

3. Dysbiose (variation pathologique)

Perturbation qualitative et quantitative de la composition du microbiote. Un déséquilibre se crée entre les bactéries symbiotiques et les opportunistes au profit de ces dernières. L'altération de la diversité bactérienne en générale est à l'origine de nombreuses maladies [81] (voir annexe 05).

4. Interactions *S. aureus* microbiotes

Bien que le microbiote nasal soit différent d'un individu à un autre, *Corynebacterium* spp, *Propionibacterium* spp et *Staphylococcus* spp restent les genres dominants dans ce biotope [82].

Dans plusieurs études s'étant intéressé aux variations du microbiote nasal en fonction de l'état de santé, il a été démontré que les individus en bonne santé, comparés à des individus hospitalisés avaient une flore diversifiée dominée par *Propionibactéries* et les *Corynebactéries* alors que les individus malades présentaient une dominance des *Staphylococques* notamment *aureus* et *epidermidis* [82].

Il a été en l'occurrence prouvé que certaines espèces bactériennes pouvaient exercer un effet inhibiteur in vitro sur la croissance de *Staphylococcus aureus* par production de molécules anti-Staphylococciques (peroxyde d'hydrogène, Lugdunine...) [82].

Dans d'autres cas, cet effet défavorable à la colonisation et survie de *S. aureus* s'exerce par d'autres mécanismes comme l'inhibition de l'adhésion ou l'auto-agrégation. Cet antagonisme a été déjà testé avec succès sur des individus par inoculation de *Corynebacterium* spp à 156 volontaires porteurs, ayant entraîné une éradication du portage chez 71% d'entre eux.

D'autres études ont évalué l'interaction entre MSSA et MRSA, dans ce cas il semble qu'une colonisation par un MSSA soit un facteur protecteur contre le MRSA, mais un individu adulte porteur nasal de *S. aureus* est prédisposé à une colonisation ultérieure que les non porteurs [82].

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

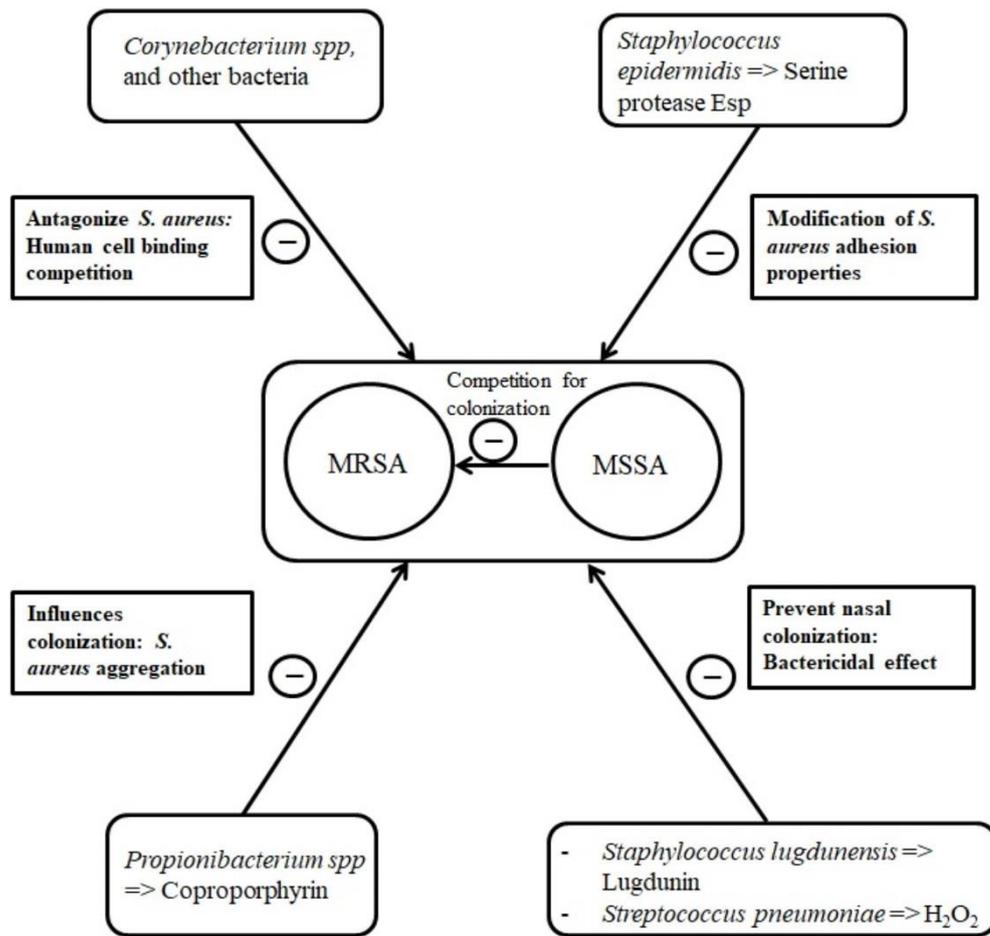


Schéma n°1 : Principales interactions bactériennes avec *S. aureus* nasal [82]

5. Méthodes d'études des microbiotes :

- **Définition de microbiome** : c'est l'ensemble du génome exprimé par le microbiote.
- **Définition de métagénome** : c'est l'ensemble du matériel génétique, c'est-à-dire le génome de l'homme associé au microbiome [83].

5.1. Les techniques de cultures

5.1.1. La culture in vitro

Les premières études s'intéressant au microbiote ont utilisé des méthodes basées sur la culture in vitro pour identifier les espèces dominantes. Actuellement, il apparaît que la majorité des bactéries ne sont pas cultivables in vitro et qu'il y a donc un biais évident dans l'étude du microbiote par les méthodes de culture classiques [71].

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

5.1.2. La culturomique

Correspond à la diversification des conditions de culture, en utilisant d'une part des conditions permettant de faciliter la croissance des espèces fastidieuses et, d'autre part, des inhibiteurs de croissance des espèces majoritaires, combinée avec une méthode d'identification rapide et peu coûteuse par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF [84,85].

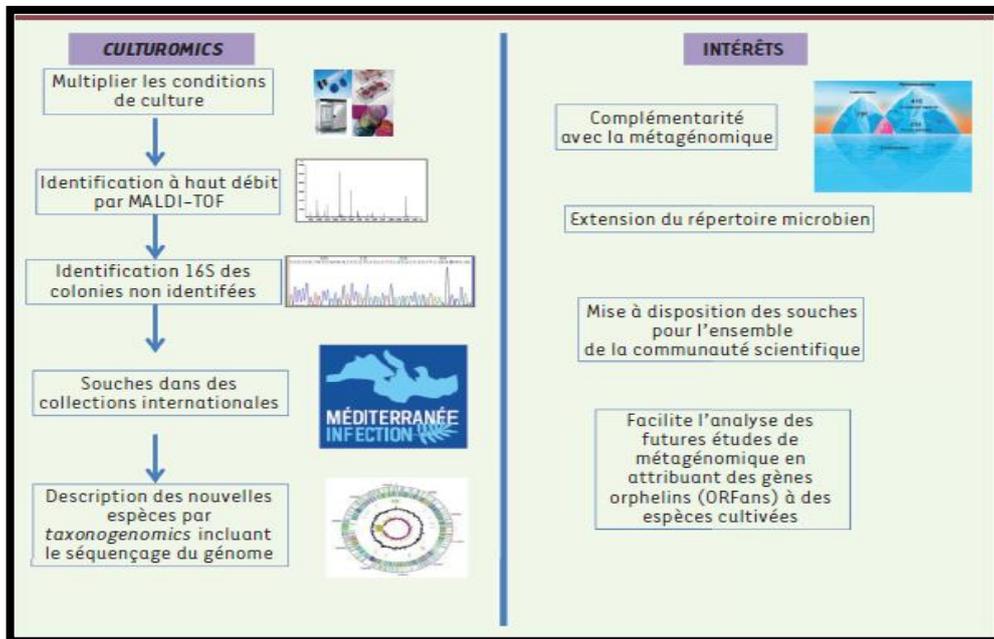


Figure n° 13 : Schéma explicatif de la culturomique et de son intérêt [86].

Elle constitue un formidable effort pour la constitution du répertoire des bactéries isolées chez l'homme, permettant de disposer de souches pures afin d'établir les relations existant entre bactéries composant le microbiote humain et santé humaine [86].

Étant une technique longue, fastidieuse et coûteuse, les microbiologistes l'ont progressivement abandonnée à la suite de l'avènement des méthodes moléculaires, à la fin du XXe siècle [71].

5.2. Les méthodes moléculaires

5.2.1. La métagénomique

Appliquée pour la première fois en 2005 au microbiote digestif humain, et elle est devenue la seule et unique méthode utilisée pour explorer les écosystèmes complexes [87].

Chapitre III : ETUDE DU MICROBIOTE HUMAIN

L'approche métagénomique basée sur l'extraction de l'ADN génomique des microorganismes colonisant un écosystème suivie par leur séquençage sans aucune étape d'amplification PCR et l'analyse bio-informatique de la masse de données générées [88].

Elle permet d'éviter le biais significatif introduit par le procédé de PCR, les fragments obtenus étant sélectionnés de manière aléatoire parmi tous les génomes présents dans l'échantillon initial [89].

- * Comparaison des différentes techniques d'études (voir annexe 06)

CHAPITRE IV :
ERADICATION DU PORTAGE
NASAL DE *STAPHYLOCOCCUS*
AUREUS

1. Généralité :

L'émergence de souches de CA-MRSA, constitue actuellement une vraie menace. La prévention de la transmission de ces dernières est essentielle et repose sur le respect des règles d'hygiène élémentaires [98].

2. Impact du portage nasal de *S. aureus* :

Le portage nasal est le principal réservoir impliqué dans la transmission interhumaine de *S. aureus* à l'hôpital, comme en milieu communautaire, il est au deuxième rang des infections nosocomiales derrière *Escherichia coli* et au deuxième des intoxications alimentaires après les salmonelles.

C'est aussi le principal facteur de risque d'infection puisque la colonisation peut être une étape préalable à l'infection par *S. aureus*, le plus souvent dues à la souche retrouvée au niveau des gîtes de colonisation.

Des travaux ayant analysé la relation colonisation - infection ont montré l'identité des souches de portage et d'infection à *S. aureus* dans plus de 80 % des cas, qu'il s'agisse de SASM ou SARM [99].

Dans une étude, Von. Eiff rapporte que chez les 14 patients porteurs nasaux de *S. aureus* qui ont fait une bactériémie, 12 cas (86%) étaient dus à des souches identiques (PFGE) dans le sang et le nez [100]. Pour Wertheim, les patients porteurs de *S. aureus* dans leur nez, ont 3 fois plus de risque de faire une bactériémie que les non porteurs. Néanmoins les bactériémies sont moins graves chez les porteurs avec un taux de mortalité de 18% vs 46% chez les non porteurs.

Des études [101] ont confirmé ces données, mettant en évidence un génotype identique de la souche responsable de l'infection cutanée et de celle présente au niveau nasal. En moyenne, chez 80% des patients présentant une infection cutanée à staphylocoque, un portage nasal de *S. aureus* est enregistré dont 65% avec le même génotype au niveau de la lésion cutanée et narinaire [102].

On savait également que les démangeaisons cutanées, les poux et la gale étaient liés à des infections cutanées à staphylocoques.

En 1932, le dermatologue Niels Danbolt pourrait montrer que les 22 patients atteints de furonculose récurrente avaient staphylocoques avec les mêmes propriétés biochimiques à la fois dans le nez et dans les lésions [103].

3. Indications de l'éradication du portage nasal du MRSA

- Intervention chirurgicale récente (< 1 mois) ou programmée en particulier pour la chirurgie avec implant, chirurgie propre (orthopédique/cardiaque).
- Patient en dialyse.
- Présence de cathéter veineux.
- Présence de plaie opératoire.
- Diabète insulino-dépendant, insuffisance rénale chronique, traitement immunosuppresseur, patient immuno-compromis.
- Présence de sonde vésicale chez patient à risque d'infection [104].
- Furoncles

4. Traitement de décontamination topique du SARM

➤ Traitement topique de 1 choix

1. **Mupirocine (Bactroban®)** : 3x/j dans chaque narine pendant 5 à 7 jours.
2. **Chlorhexidine 4% savon** (Lifoscrub®, Hibiscrub®) : 1x/j pendant 5 à 7 jours.
3. **Chlorhexidine 0,1% spray buccal** (Collunovar®) : 3-4x/j pendant 5 à 7 jours.

➤ Traitement topique alternatif

1. **Acide fucidique** crème nasale.
2. **Bacitracine** pommade nasale ou crème 3x/j pdt 5-7j.

☞ Application de la pommade nasale

- Utiliser un coton tige.
- Mettre une pointe de pommade (une noisette) sur la coton tige.
- L'insérer dans la narine afin de déposer la substance (s'assurer que la pommade ne reste pas au bord de la narine).
- Masser la narine pour répartir la pommade.

5. Traitement de décontamination systémique

L'utilisation d'antibiotiques systémiques est réservée à des situations particulières chez le patient porteur de MRSA. Le choix du traitement se fait en fonction de l'antibiogramme. L'association d'antibiotiques est recommandée. Il faut privilégier des antibiotiques bactéricides. La durée du traitement est à apprécier en fonction du site de colonisation et de la présence de facteurs de risque sous-jacents.

➤ Traitement systémique proposé

1. Co-trimoxazole (160 mg TM et 800mg SMZ) 2x/j pendant 5-7 jours.
2. Rifampicine 300-600mg x2/j pendant 5-7 jours [104].

6. Utilisation du microbiote pour éradiquer le *S. aureus*

6.1. Utilisation du microbiote pour éradiquer le portage nasal de *S. aureus*

Des travaux récents indiquent que les interactions entre *S. aureus* et les espèces de *Corynebacterium* cutanés et nasales affectent le comportement et la forme physique de *S. aureus* en analysant les changements de l'expression du gène de *S. aureus* au cours d'une co-culture in vitro versus monoculture avec *Corynebacterium striatum*, une diminution de la transcription des gènes de virulence de *S. aureus* a été observée au contact de *C. striatum* ainsi que le système agr était fortement inhibé. Phénotypiquement, *S. aureus* exposé à *C. striatum* présentait une adhésion accrue aux cellules épithéliales reflétant un état commensal et une diminution de l'activité de l'hémolysine reflétant une atténuation de la virulence.

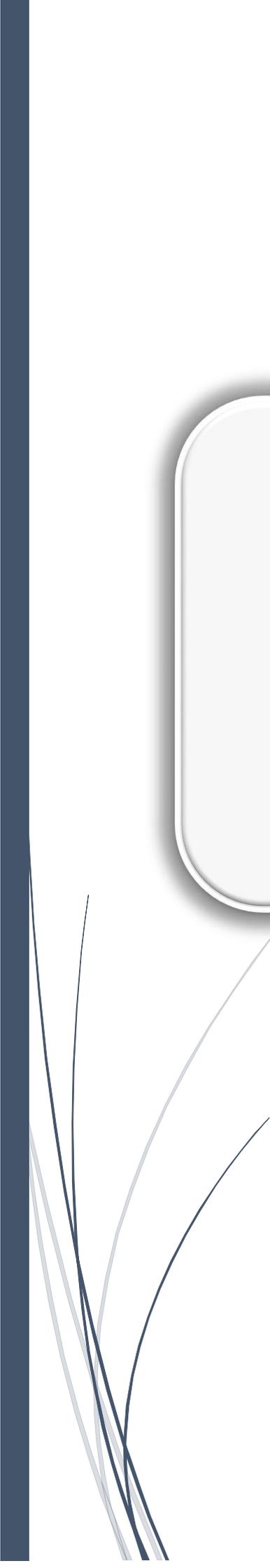
A partir de ces données les auteurs suggèrent l'intérêt de l'utilisation de *Corynebacterium spp* comme probiotiques pour éradiquer la colonisation de *S. aureus* par les narines et la possibilité de son rôle alternatif pour limiter la virulence de *S. aureus* [105].

6.2. Transplantation microbienne fécale :

La perfusion d'une préparation fécale d'un donneur en bonne santé dans le tractus gastro-intestinal d'un patient est proposée comme nouvelle thérapie pour moduler les maladies associées à la dysbiose. Des études récentes ont signalé des cas d'entérocolite à MRSA guéris par transplantation de microbiote fécal et des modifications du microbiote dans les selles des patients au cours du processus thérapeutique ont été observé [106].

6.3. Utilisation des bactéries lactiques pour éradiquer *S. aureus* :

Pour tester l'efficacité des probiotiques sur les infections dues au SARM, une étude a été effectuée en testant in vitro le potentiel inhibiteur des souches de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* sur le SARM en utilisant des mono et des poly cultures. Le dénombrement des colonies a montré une diminution des cellules de SARM dans les monocultures et les polycultures, mais dans les polycultures, l'inhibition était plus efficace en donnant de plus grande zone d'inhibition, ce qui a permis de conclure que les souches des bactéries lactiques utilisées dans cette étude ont été capables de produire des substances antibactériennes permettant d'éliminer la présence de SARM. De ce fait, ils ont constaté que l'utilisation de ces bactéries dans un traitement probiotique peut représenter une alternative des antibiotiques en cas d'infections au SARM [107].



Partie pratique

Objectifs de l'étude

Dépistage du portage nasal de *Staphylocoque aureus* chez les étudiants de la faculté de médecine de l'université mouloud Mammeri Tizi-Ouzou et étudié les facteurs de risque et la sensibilité aux antibiotiques ainsi que l'impact du microbiote des non porteurs sur la culture des souches du portage.

CHAPITRE I :
MATÉRIELS ET MÉTHODES

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Population et type de l'étude

Il s'agissait d'une étude prospective portant sur :

- le portage nasal de *Staphylococcus aureus* notamment en matière de facteurs de risque du portage et des profils de sensibilité aux antibiotiques
- impact du microbiote des non porteurs sur la culture des souches du portage chez les étudiants de l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.
- Population de jeunes adultes âgés entre 18 et 26 ans.

2. Lieu et période de l'étude

Cette étude a été menée au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou et ce durant une période de quatre mois, allant du 10 Avril au 20 Juillet 2019.

3. Caractéristiques de l'étude

3.1. Critères d'inclusion

Tous étudiants acceptant de faire le prélèvement (écouvillonnage nasal).

3.2. Critères de non inclusion et d'exclusion

Aucun critère de non inclusion n'a été retenu pour cette étude.

3.3. Ethique médicale

Cette étude a été faite avec le consentement des sujets et dans le respect de l'anonymat.

4. Méthodes

I. Dépistage du portage nasal de *S. aureus* :

I.1. Le prélèvement

Il s'agissait d'un écouvillonnage des deux narines à l'aide d'un seul écouvillon stérile en coton pour les deux narines de chaque sujet (réalisé une seul fois).

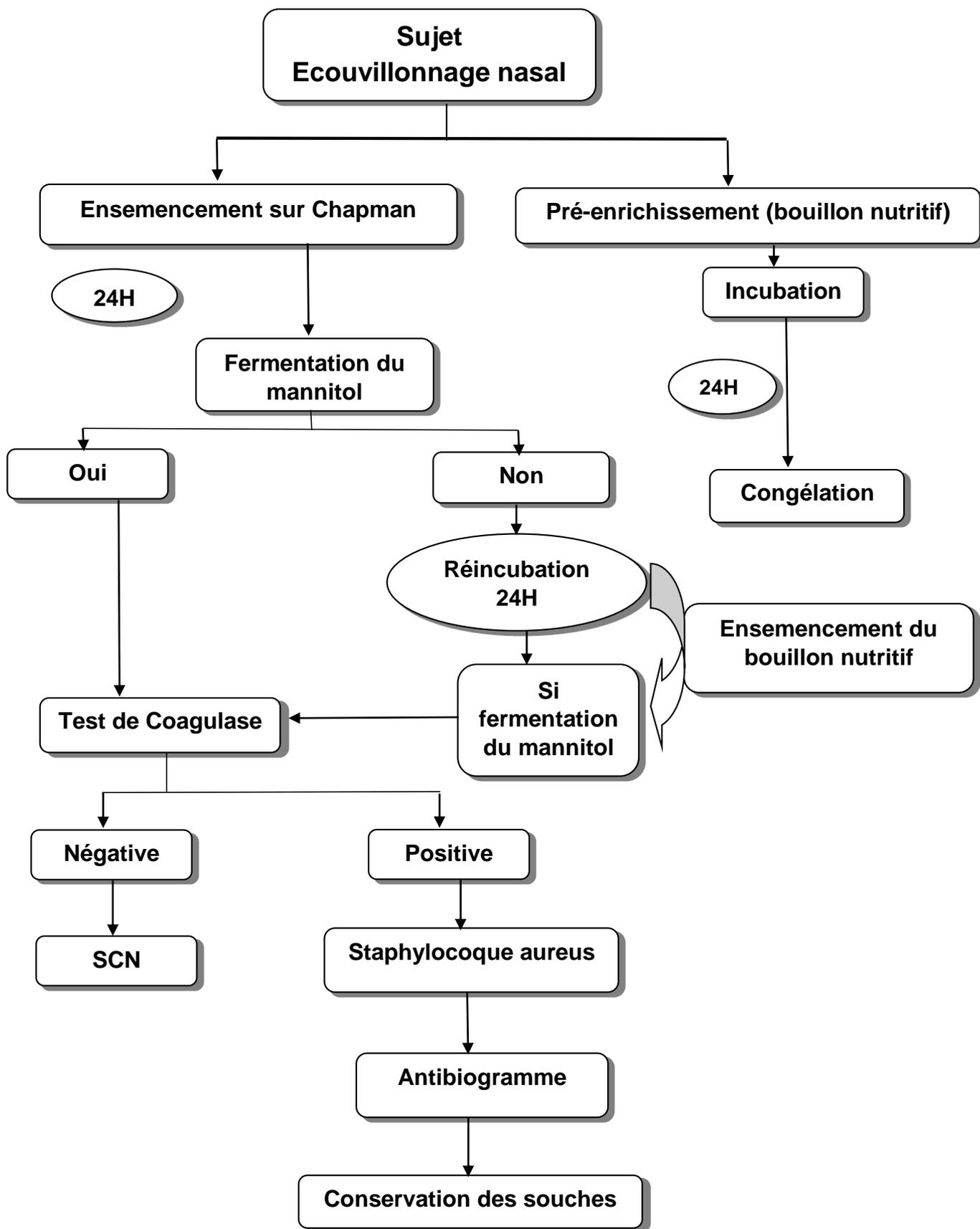
Les prélèvements ont été réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine de Tizi ouzou.



Figure n°14 : Matériels utilisée pour les prélèvements

Le traitement des prélèvements est détaillé dans le schéma suivant :

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES



CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

I.2. Recueil des informations

Les données ont été recueillies à l'aide d'une fiche de renseignements, qui a été dédiée à chaque sujet prélevé (Voir Annexe 07).

I.3. Ensemencement

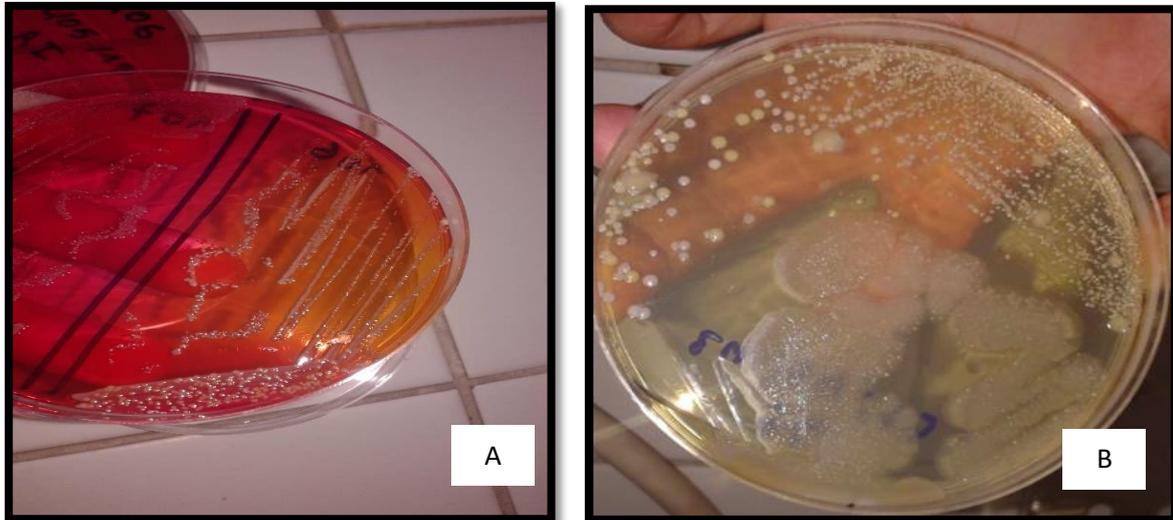


Figure n°15 : Ensemencement du prélèvement, (A) sur milieu Chapman et (B) sur MH*

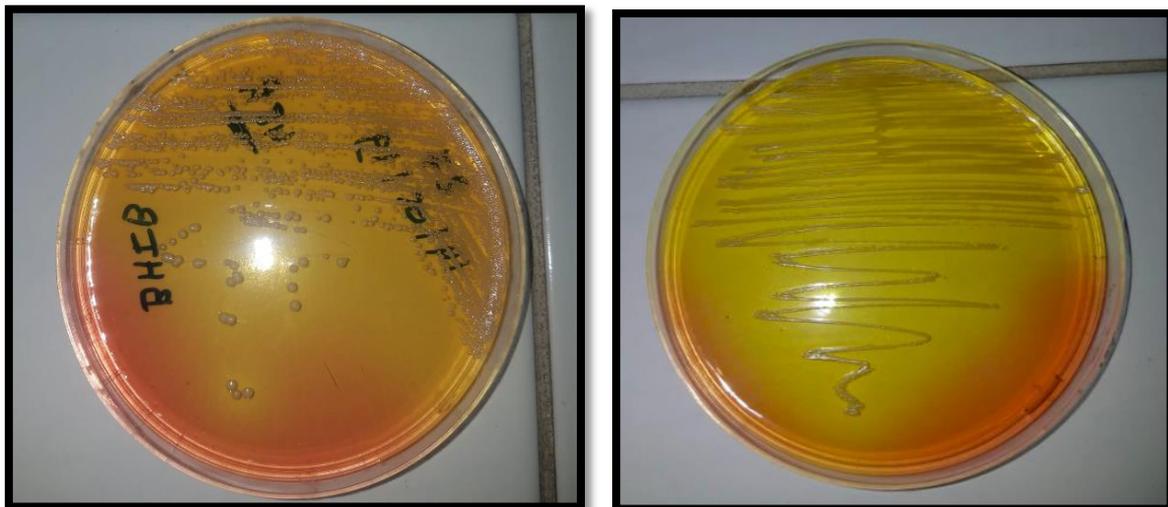


Figure n°16 : Isolement et purification de *S. aureus*.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

I.4. Identification

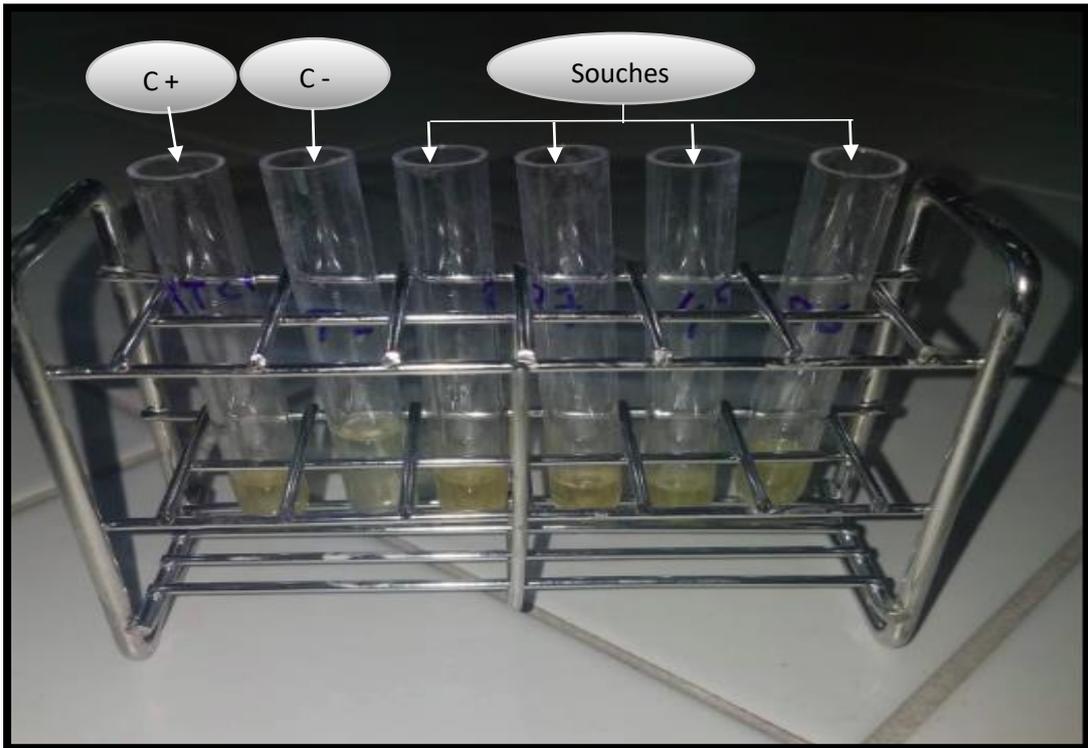


Figure n°17 : tests de coagulase.



Figure n°18 : Coagulase positive



Figure n°19 : Coagulase négative

En raison de non disponibilité du plasma de lapin, ce dernier a été remplacé par le plasma humain citrate et une incubation de 24h.

Un contrôle de qualité a été réalisé :

- contrôle positif : ajout de *S. aureus* ATCC 25923
- contrôle négatif : ajout de l'eau distillé.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

I.5. Tests de sensibilités aux antibiotiques

L'antibiogramme a été réalisé par deux méthodes selon les recommandations de l'AARN (7eme éditions) il comprend :

1. Diffusion en milieu gélosé de Mueller-Hinton, cette méthode a été appliquée pour les 18 antibiotiques suivants : Pénicilline G 10 μ g, Oxacilline 5 μ g, Céfoxitine 30 μ g, Gentamicine 10 μ g, Kanamycine 30 μ g, Amikacine 30 μ g, Erythromycine 15 μ g, Clindamycine 2 μ g, Pristinamycine 15 μ g, Ofloxacine 5 μ g, Ciprofloxacine 5 μ g, Lévofloxacine 5 μ g, Teicoplanine 30 μ g, Chloramphenicol 30 μ g, Trimethoprime-Sulfamethoxazole (1,25/23,75 μ g), Tétracycline 30 μ g, Rifampicine 5 μ g, l'acide fusidique 10 μ g.

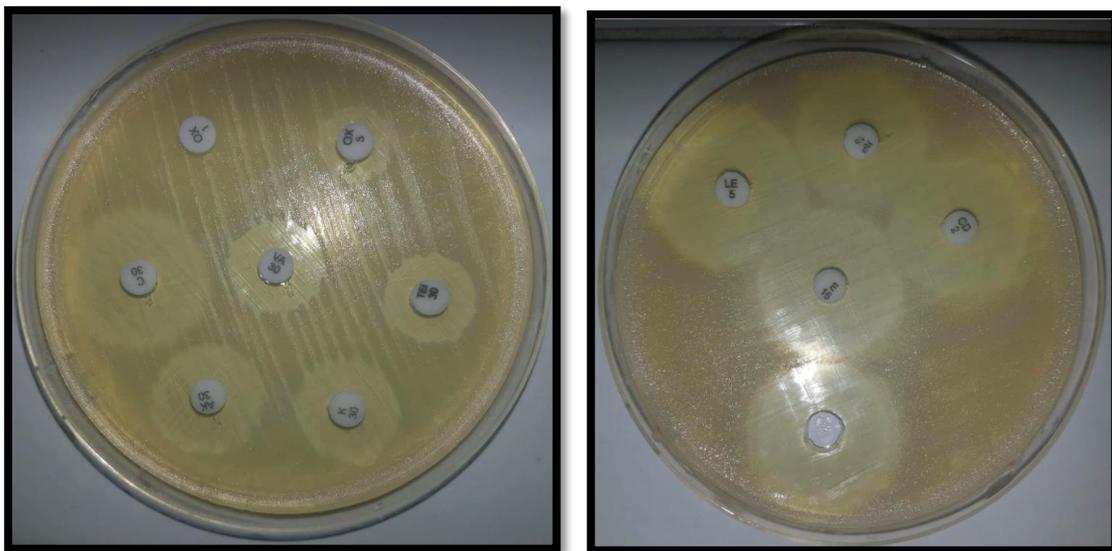


Figure n°20 : Tests de sensibilité aux antibiotiques

N.B :

Le disque d'Erythromycine doit être placé toujours à 25mm centre à centre des disques de Clindamycine et de Pristinamycine, dans le but de rechercher la résistance inductible aux Lincosamide et Streptogramines.

2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), concerne deux antibiotiques qui sont la Vancomycine et la Fosfomycine. Nous avons opté pour la micro-méthode.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES



Figure n°21 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice sur micro-méthode.



Figure n°22 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice sur macro-méthode.

I.6. Test complémentaires de sensibilité aux antibiotiques

- Recherche de la pénicillinase (test de trèfle)

La recherche de la sécrétion de la β -lactamase est nécessaire pour les souches de Staphylocoques. Ce test doit être effectué précocement, en raison des implications thérapeutiques évidentes. Dans notre pratique on a utilisé une technique microbiologique.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

Technique :

- Ensemencer une souche de *S. aureus* ATCC 25923 sur une gélose Mueller Hilton simple.
- Appliquer un disque de pénicilline G au centre de la boîte.
- Ensemencer en stries du centre de la boîte vers la périphérie la souche à tester, une souche témoin négatif (*S. aureus* 25923), une souche témoin positif (*S. aureus* ATCC 43300).
- Incuber la boîte 18-24h à 35°C.

Lecture et interprétation :

La production de pénicillinase (β -lactamase) par la souche testé de *S. aureus* et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la pénicilline) jusqu'au contact du disque de pénicilline.



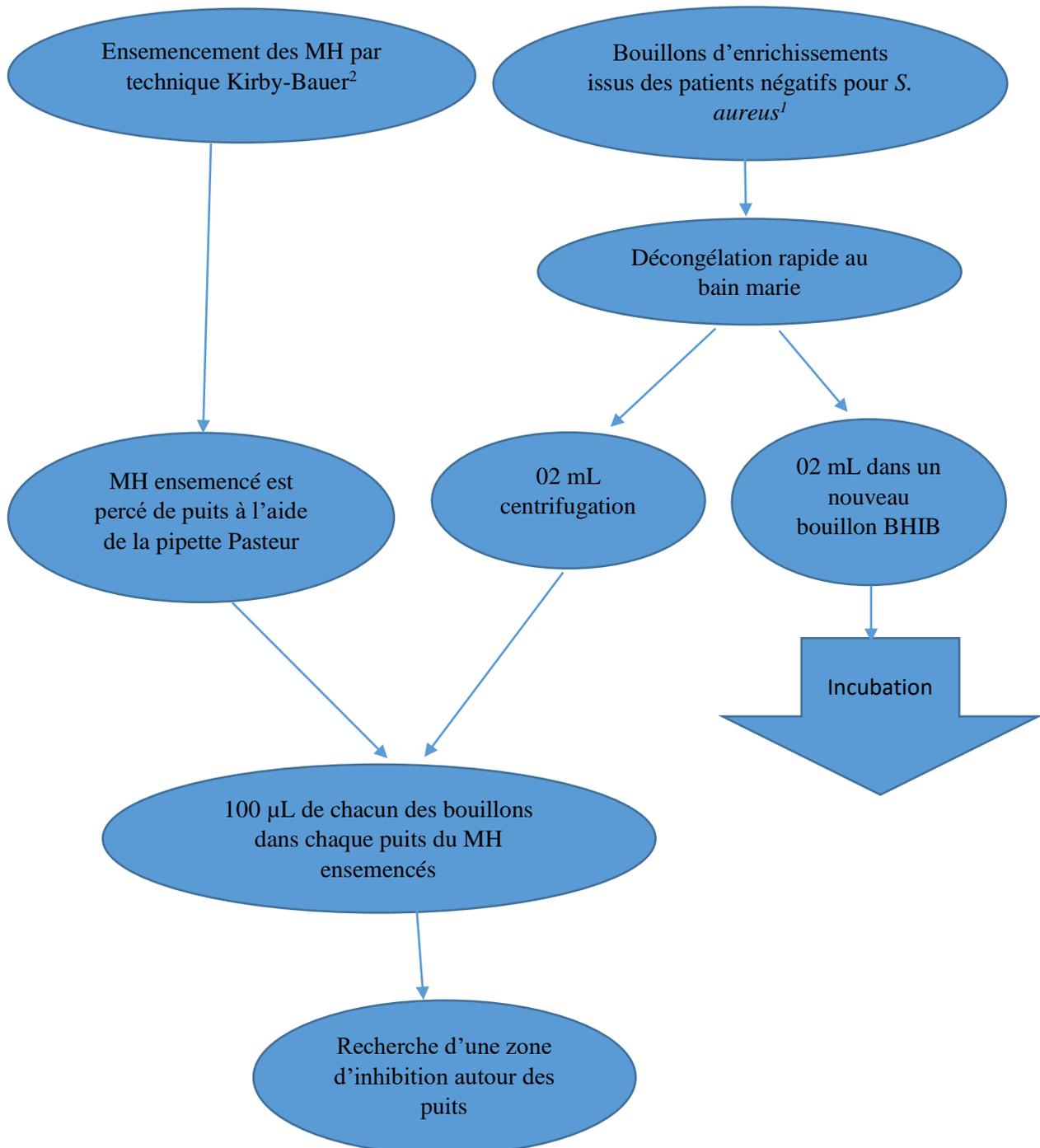
Figure n°23 : Test de β -lactamase

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

II. Recherche de l'effet inhibiteur du microbiote des non porteurs sur la culture des souches de portage :

Hypothèse : est que le microbiote cultivable des non porteurs exerce un effet bactériostatique/bactéricide direct sur les souches de portage de *Staphylococcus aureus* ?

A. Expérience 1 : est que le microbiote cultivable produits des métabolites II^{aires} ayant un effet inhibiteur sur la culture d'une souche type de *S. aureus* ?

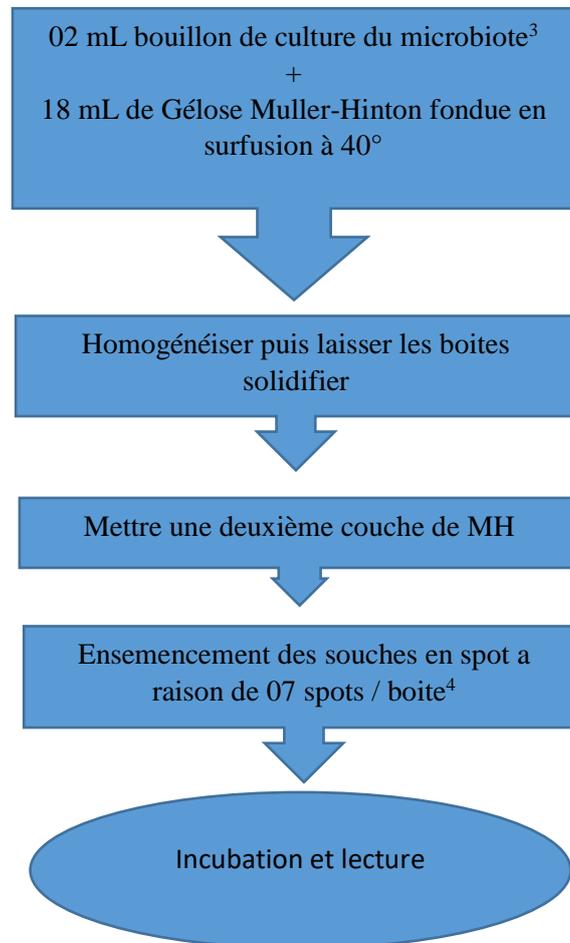


¹ : 07 Bouillons ont été choisis au hasard parmi les négatifs

² : la souche test est *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

B. Expérience 02 : est que le microbiote cultivable produits des métabolites II aires diffusibles en milieu gélosé et affectant la qualité de culture des souches de portage de *Staphylococcus aureus* ?

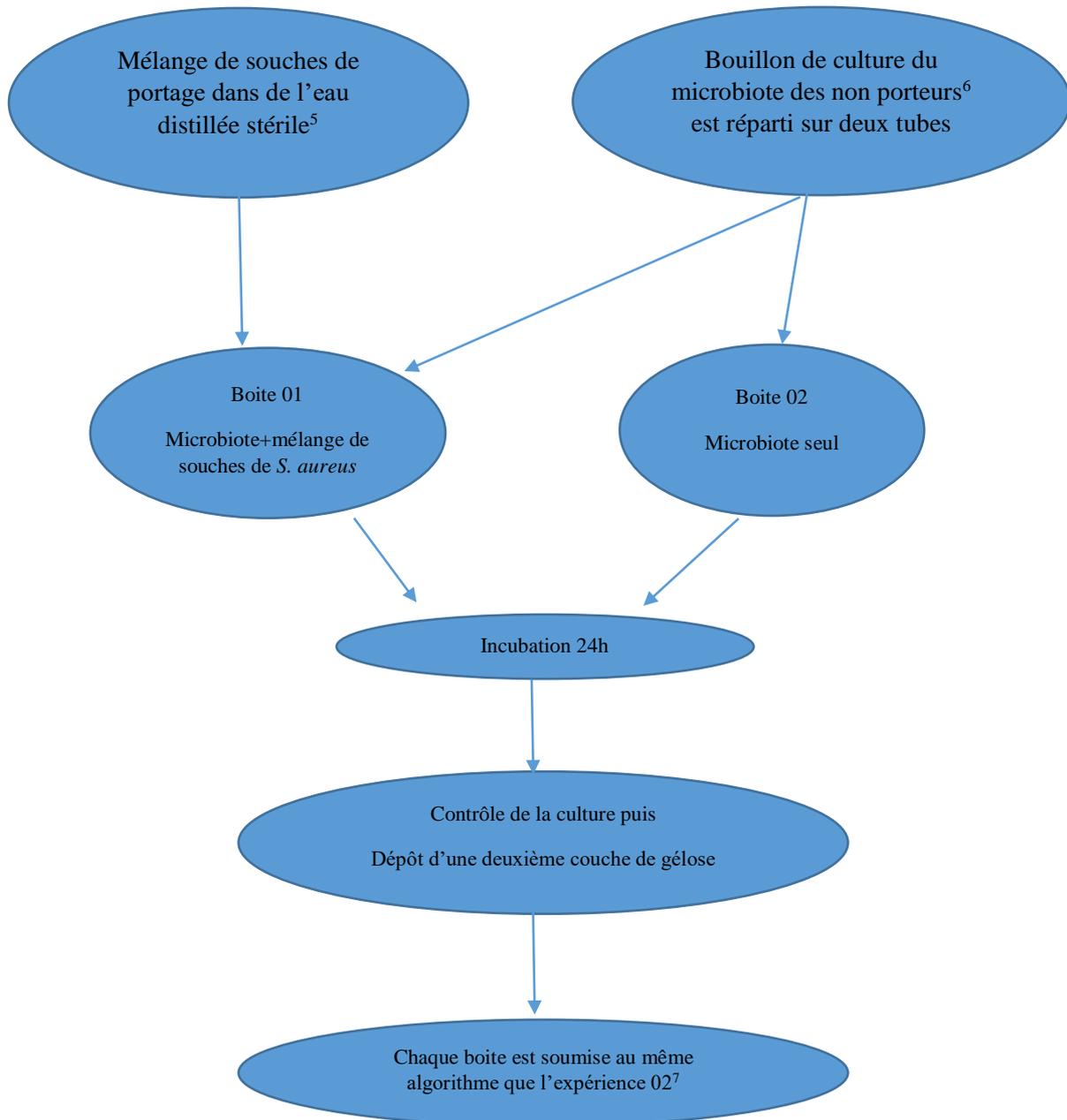


³ : Les bouillons ont été choisis au hasard.

⁴ : les souches ont été choisies au hasard. Les mêmes souches ont été appliquées sur toutes les boites.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

C. Expérience 03 : est qu'une coculture des microbiotes des non porteurs avec un mélange de souches de portage entrainerait la production de métabolites II^{aires} diffusibles qui altéreraient la croissance des souches de portage ?



⁵ : 09 souches de portage ont été choisies au hasard.

⁶ : 09 bouillons de non porteurs choisies au hasard.

⁷ : un papier imbibé d'alcool chirurgical a été collé au couvercle inférieur pour tenter d'inhiber l'envahissement par le *Proteus*.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES



Figure n°24 : Préparation du matériel, et des suspensions de travail (contrôle +et – inclus)



Figure n°25 : Dépôt des suspensions.



Figure n°26 : Solidification de la première couche de gélose.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

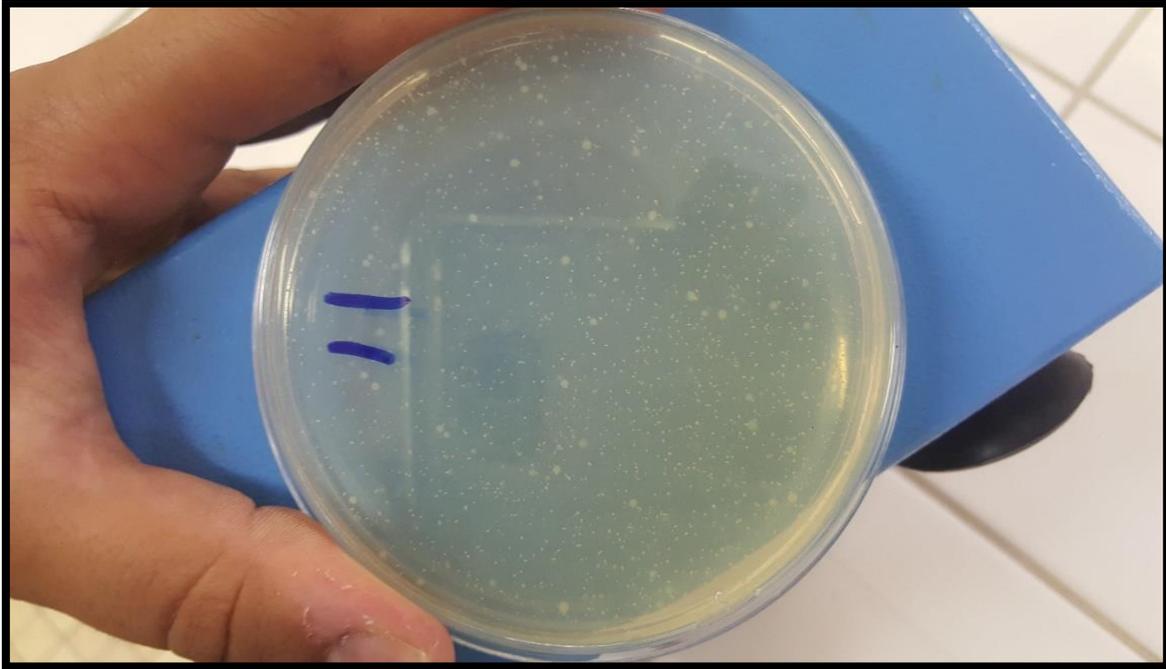


Figure n°27 : Contrôle de la croissance des germes incorporés dans la gélose.

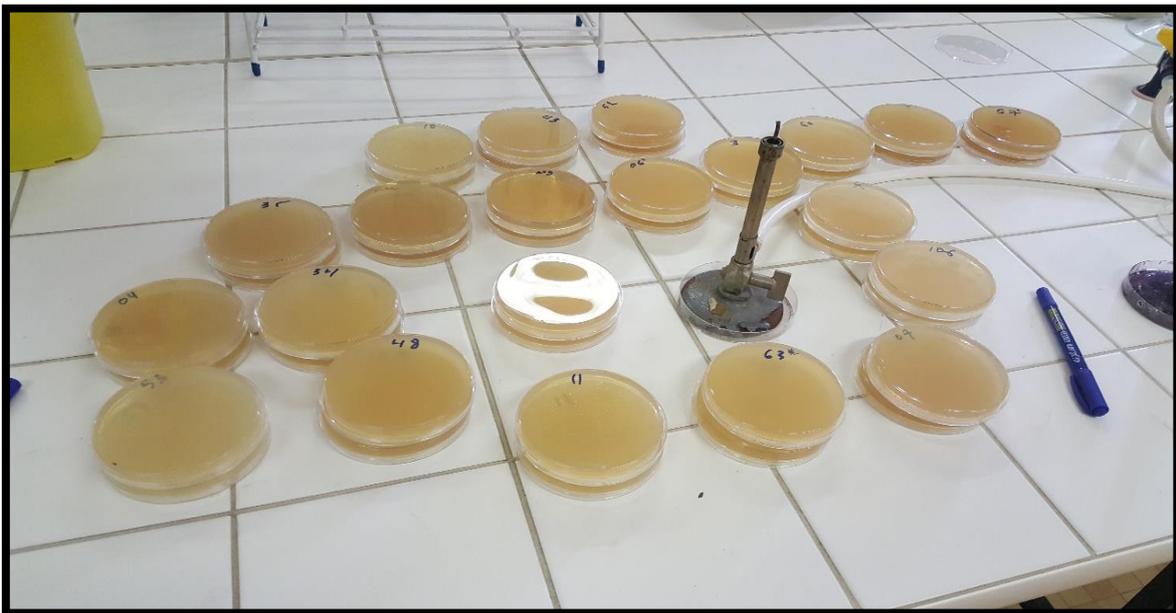


Figure n°28 : Solidification de la deuxième couche de gélose.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES



Figure n°29 : Inoculation des souches de portage.



Figure n°30 : Dépôt du papier imbibé d'alcool.

5. Contrôle de qualité (CQ)

- Un CQ a été lancé pour chaque identification (coagulase) et pour chaque test de sensibilité aux antibiotiques (y compris tests complémentaires et CMI)
- La fréquence des contrôles de qualité :

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

- Vu que les antibiogrammes ont été lancés par groupes les CQ ont été effectué et validé pour chaque lancement
- Les souches de controles qualité utilisé sont :
 - *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - *Staphylococcus aureus* 43300
 - *Escherichia coli* 25922
 - *Pseudomonas aeruginosa* 27853

6. Enregistrement et traitements des résultats

Les données collectées sur les fiches de renseignement et les données de l'antibiogramme ont été saisies dans le logiciel Whonet 5.6.

L'étude statistique a été réalisée grâce aux outils statistiques standards sur Microsoft office Excel 2013 et logiciel Whonet 5.6.

CHAPITRE II : RÉSULTATS

CHAPITRE II : RÉSULTATS

1. population de l'étude

Nous avons totalisé 108 prélèvements, la culture était positive à *Staphylococcus aureus* chez 59 sujets (54,6%), les principaux résultats obtenus sont comme suit :

1.1 Données démographiques

1.1.1. Répartition de la population globale selon le sexe et l'âge (n=108)

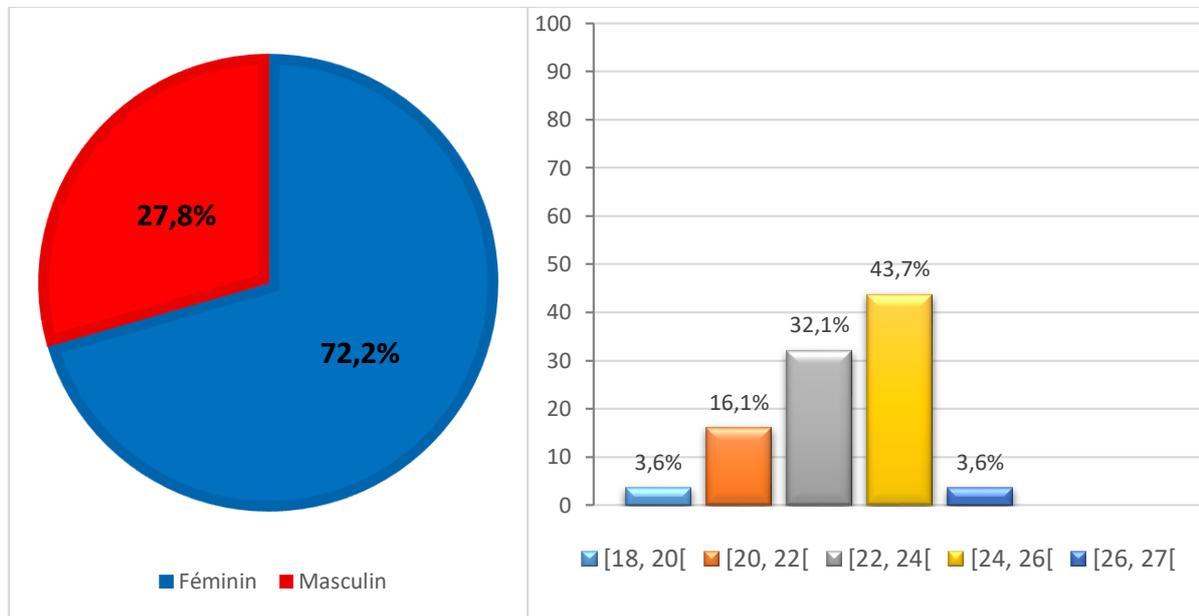


Figure n°31 : Répartition de la population selon le sexe.

Figure n°32 : Répartition de la population selon les tranches d'âge.

-la moyenne d'Age de nos sujets d'étude est de 23 ans.

1.1.2. Répartition de la population selon la Wilaya de provenance et la spécialité d'étude (n=108)

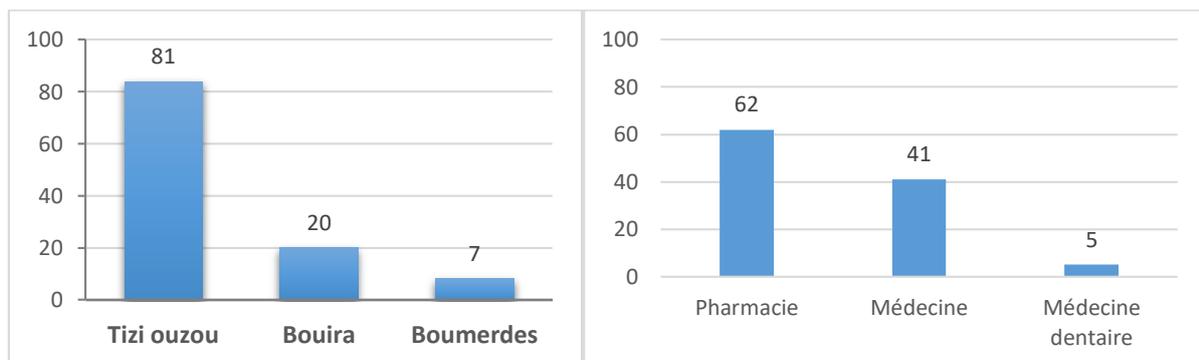


Figure n°33 : Répartition de la population selon la wilaya de provenance.

Figure n°34 : répartition de la population selon la spécialité d'étude

CHAPITRE II : RÉSULTATS

Notre population est constituée d'étudiants en pharmacie (62/108).

1.1.3. Répartition de la population selon la situation familiale et la notion de voyage international (n=108) :

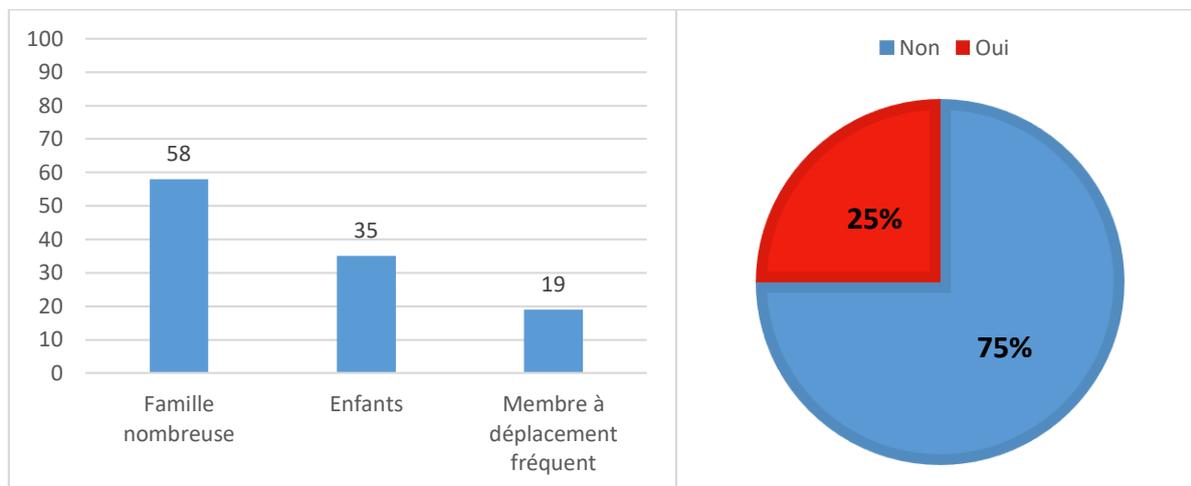


Figure n°35 : répartition de la population selon la situation familiale

Figure n°36 : répartition de la population selon la notion de voyage international

1.1.4. Répartition de la population selon la notion de promiscuité (n=108)

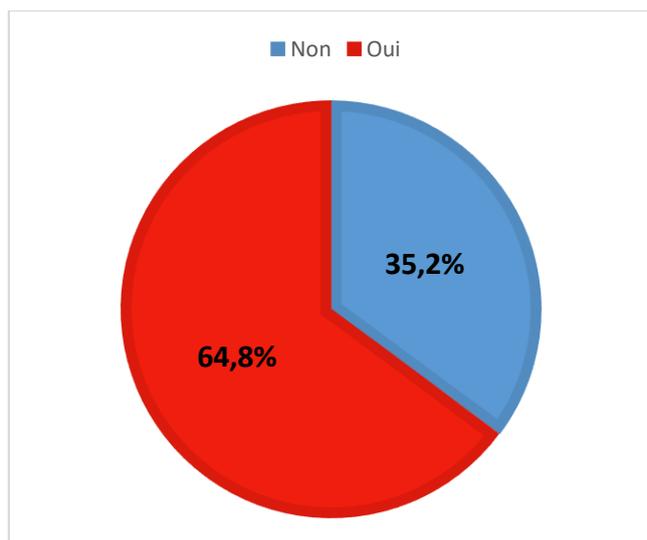


Figure n°37 : répartition de la population selon la notion de promiscuité

Nos sujets d'études fréquentent dans leurs majorités une cité universitaire (64,8%).

CHAPITRE II : RÉSULTATS

1.1.5. Répartition de la population selon les antécédents pathologiques et d'hospitalisation (n=108)

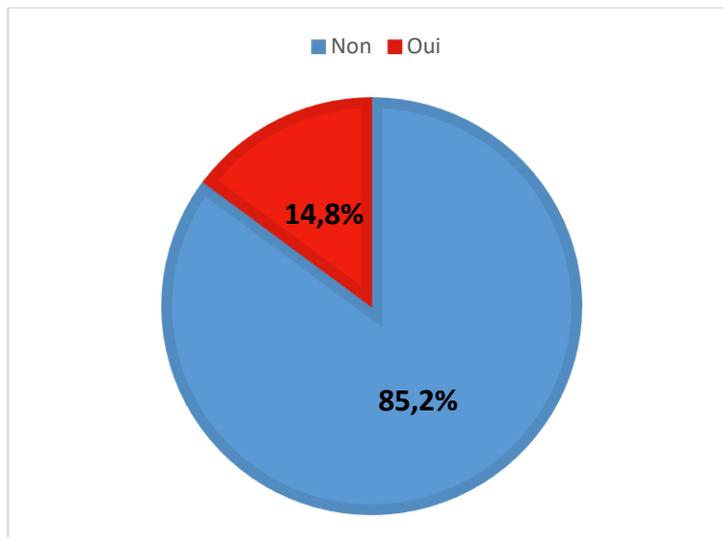


Figure n°38 : Répartition de la population selon les antécédents d'hospitalisation.

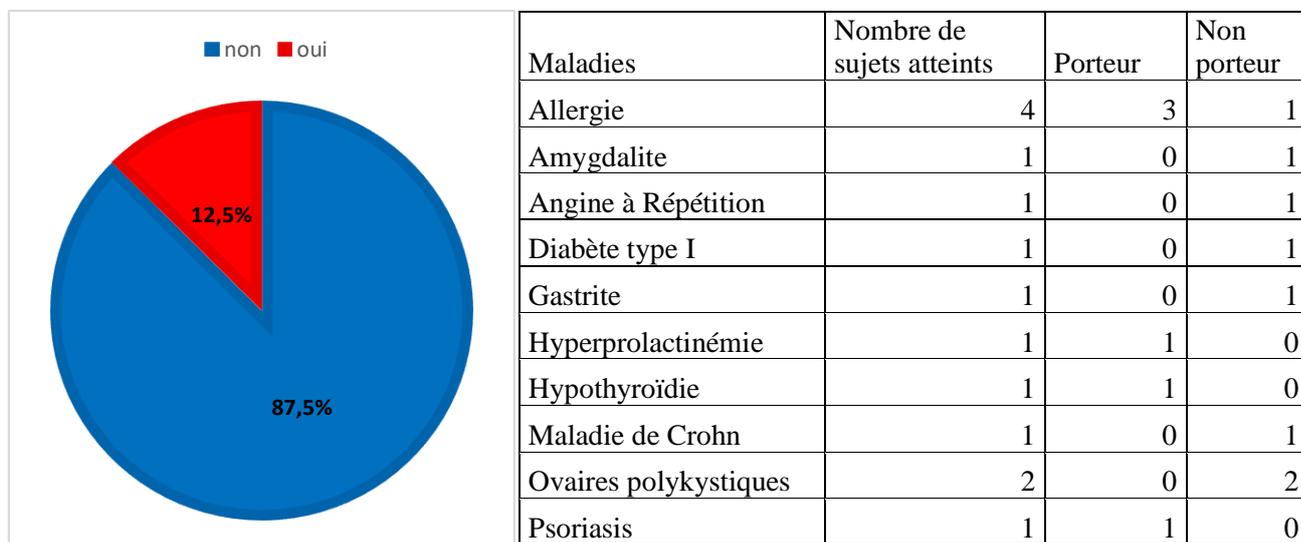


Figure n°39 : Répartition de la population selon les antécédents pathologiques

Tableau n°1 : Nature de pathologies citées

CHAPITRE II : RÉSULTATS

1.1.6. Répartition de la population selon la prise d'antibiotiques dans les 06 derniers mois (n=108)

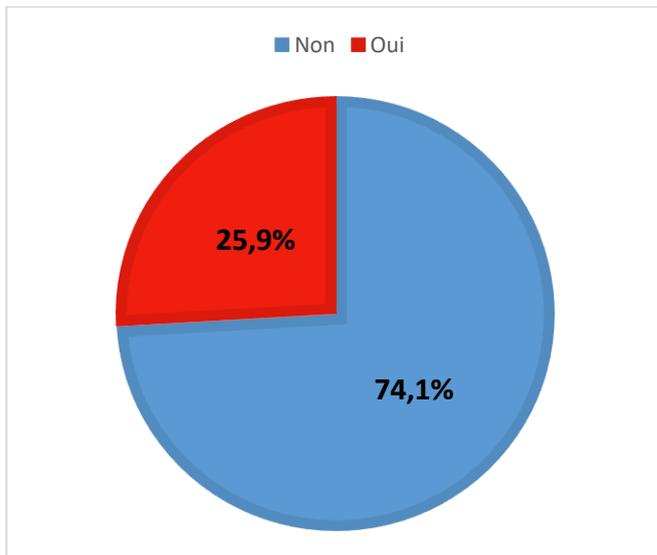


Figure n°40 : répartition de la population selon la prise d'antibiotiques dans les 06 derniers mois

ATB	Nombre
Amoxicilline	13
Amoxicilline +acide clavulanique	3
Cefalexine	02
Gentamicine	01
Spiramycine	01
Rifamycine	01

Tableau n°2 : Nature des antibiotiques prescrits dans les 06 derniers mois

1.1.7. Répartition de la population selon leur contact avec les animaux (n=108)

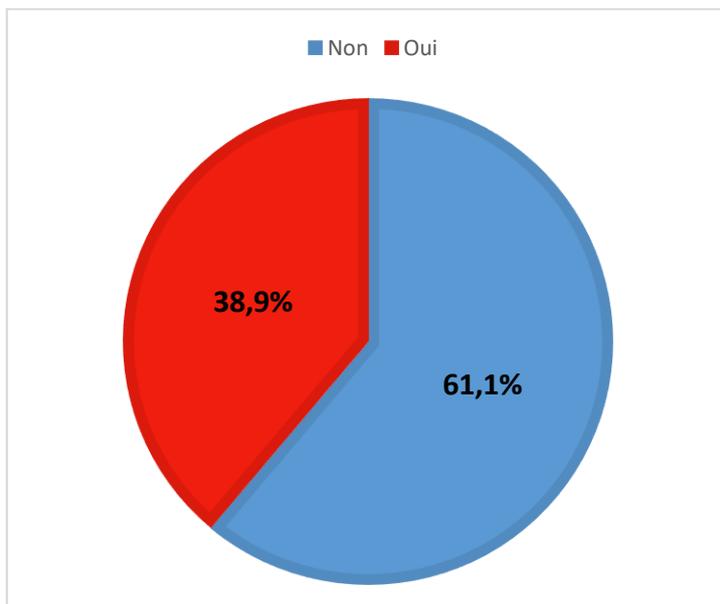


Figure n°41 : Répartition de la population selon leur contact avec les animaux

CHAPITRE II : RÉSULTATS

2. Etude comparative entre porteurs et non porteurs (taux de positivité global et répartition des porteurs selon les différents facteurs de risque) (n=108) :

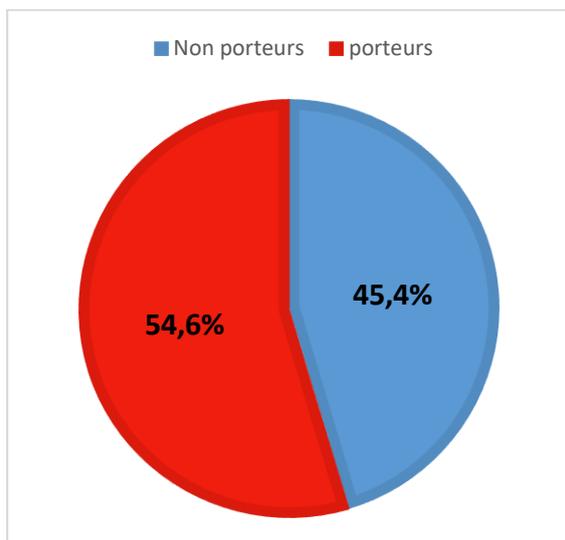


Figure n°42 : Répartition de la population selon positivité des prélèvements.

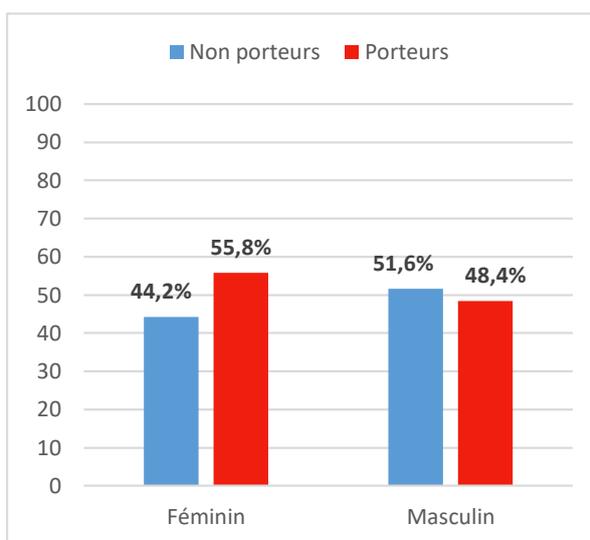


Figure n°43 : Répartition des sujets porteurs et non porteurs selon le sexe.

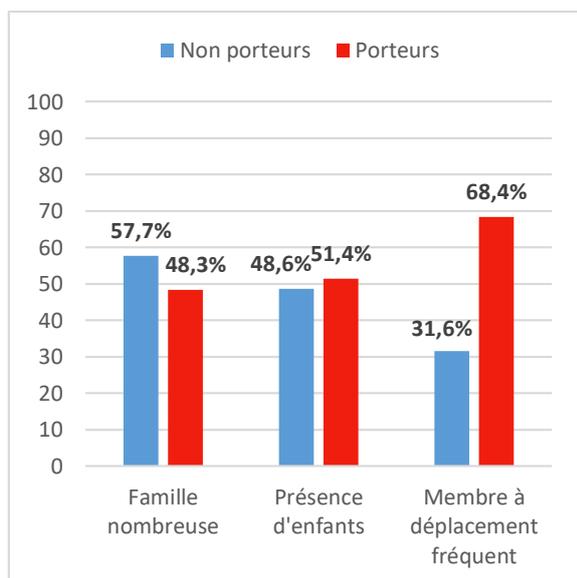


Figure n°44 : répartition des sujets porteurs et non porteurs selon la situation familiale.

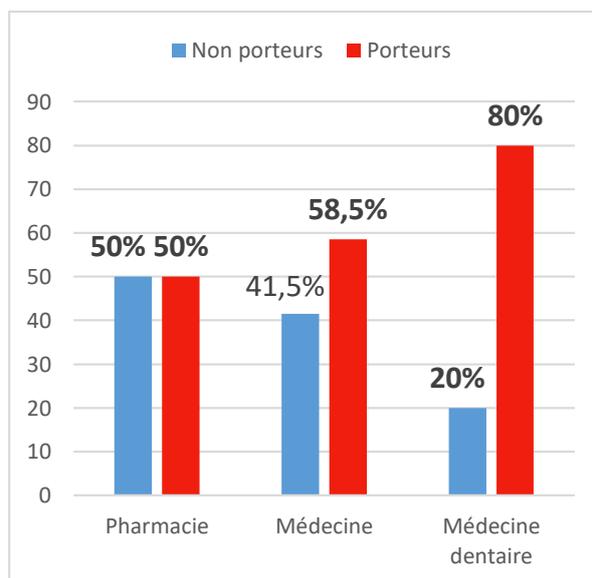


Figure n°45 : répartition des sujets porteurs et non porteurs selon la spécialité d'étude.

CHAPITRE II : RÉSULTATS

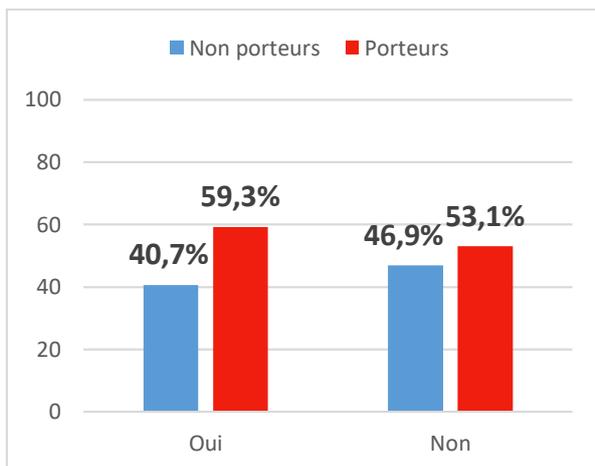


Figure n°46 : répartitions des sujets porteurs et non porteurs selon la notion de voyage

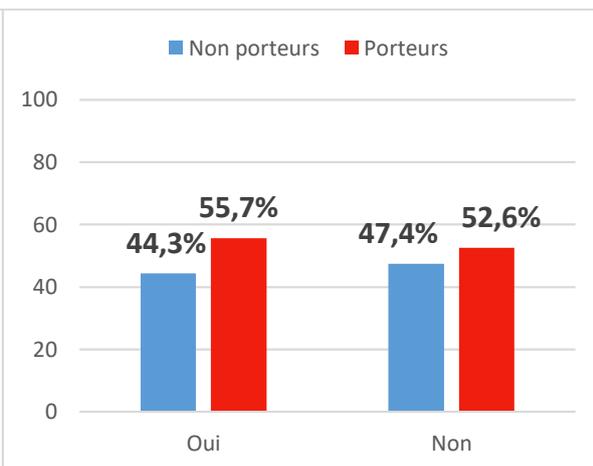


Figure n°47 : répartition des porteurs et non porteurs selon la notion de promiscuité

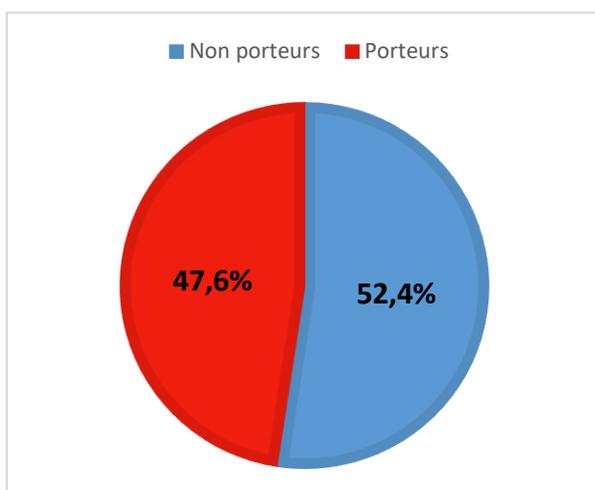


Figure n°48 : répartitions des sujets porteurs et non porteurs selon la notion de contact animalier récent

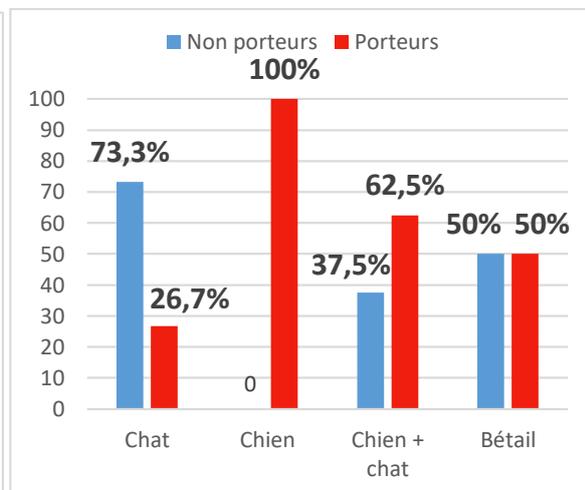


Figure n°49 : Répartition des sujets porteurs et non porteurs selon le type de contact avec les animaux de compagnie

CHAPITRE II : RÉSULTATS

3. Etudes de la résistance aux antibiotiques

3.1. Profil global de sensibilité aux antibiotiques (n=59)

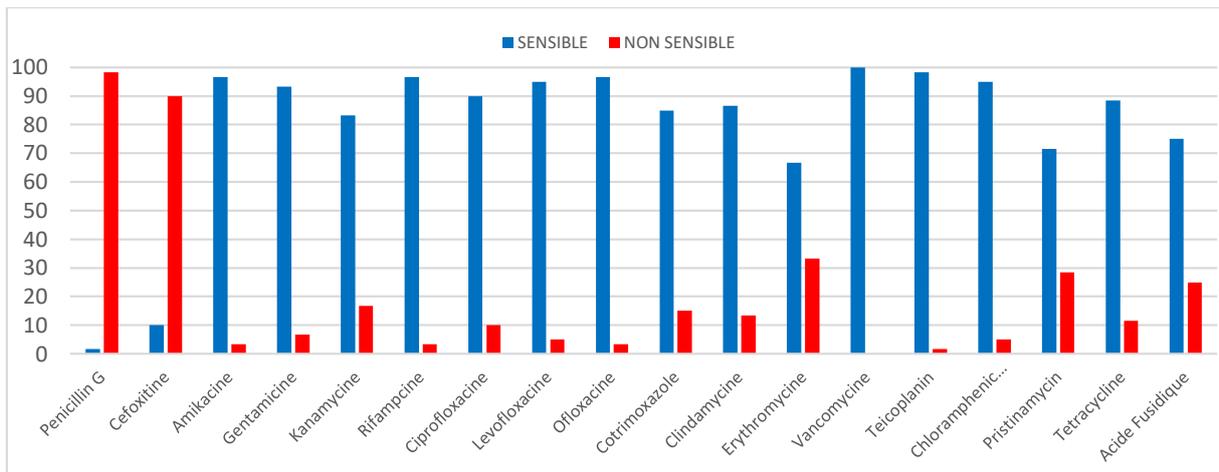


Figure n°50 : Profil global de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées

3.1.1. Profil global de sensibilité aux antibiotiques des souches SASM (n=05)

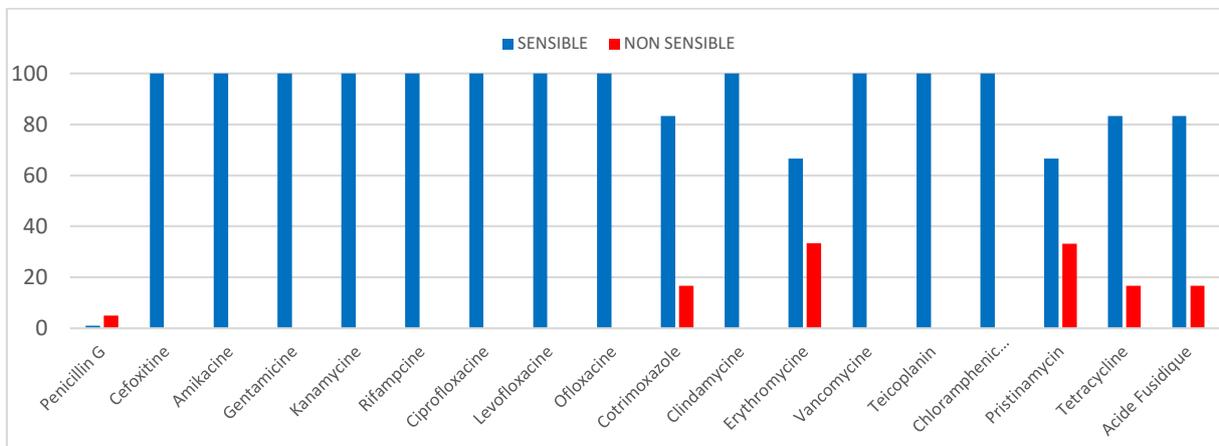


Figure n°51 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches SASM (n=05)

3.1.2. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches SARM

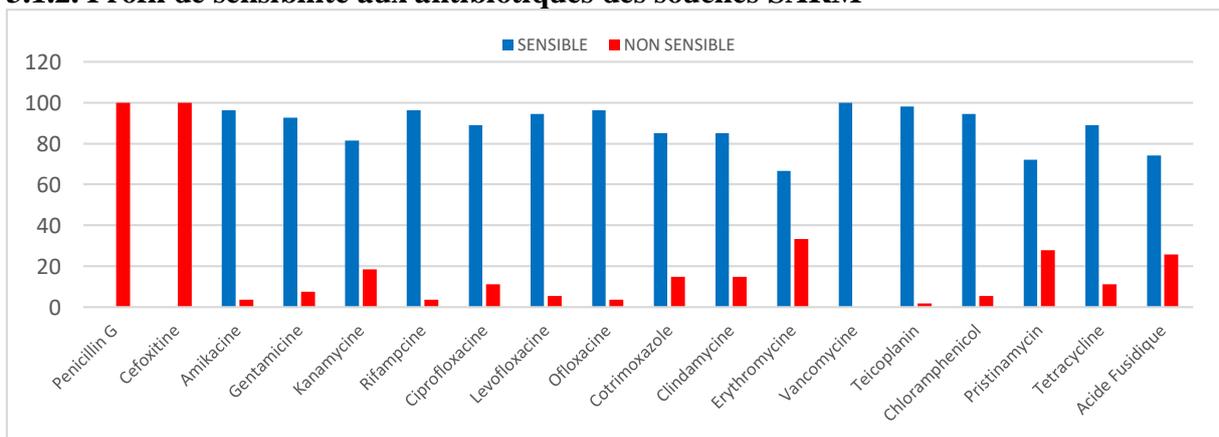


Figure n°52 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches SARM (n=54)

CHAPITRE II : RÉSULTATS

Le phénotype global de résistance le plus retrouvé chez les SARM est β -lactamines seules (n=22) suivi de β -lactamines+MLS (n=07) et β -lactamines + Acide fusidique (n=05)

3.2. Les Béta-lactamines

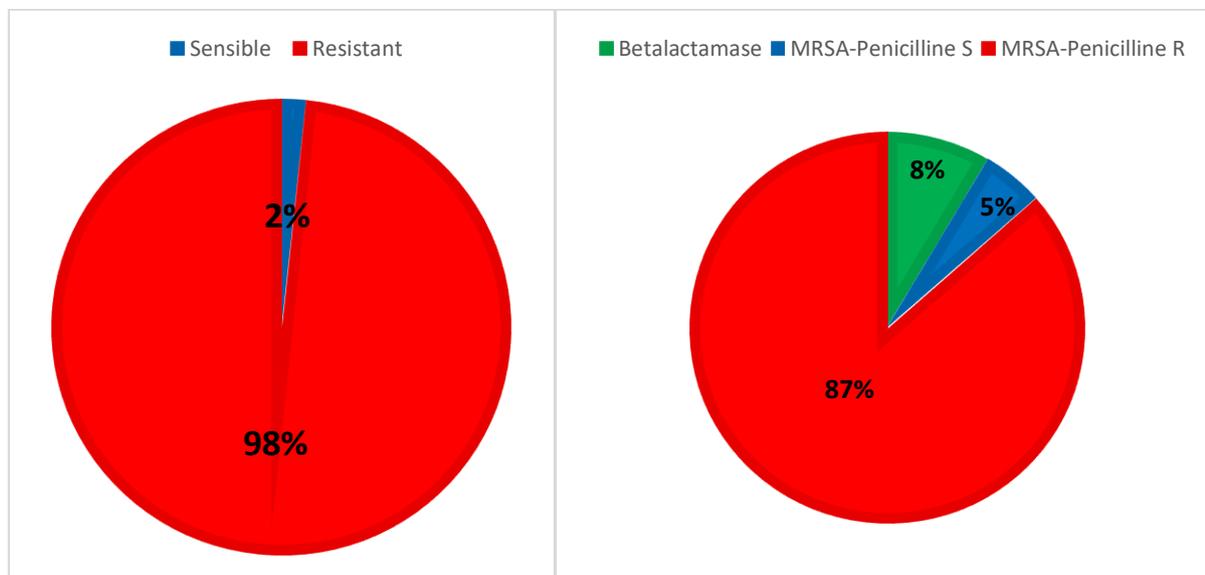


Figure n°53 : Profil de sensibilité aux β -lactamines (n=59)

Figure n°54 : Phénotype de résistance aux β -lactamines (n=58)

Tableau n°3 : diamètres obtenues après lectures des antibiogrammes des souches 31, 59

Souche	Penicilline G	Céfoxitine	Oxacilline	Céfotaxime	Imipinème
31	26	18	22	24	44
59	32	15	18	25	36

CHAPITRE II : RÉSULTATS

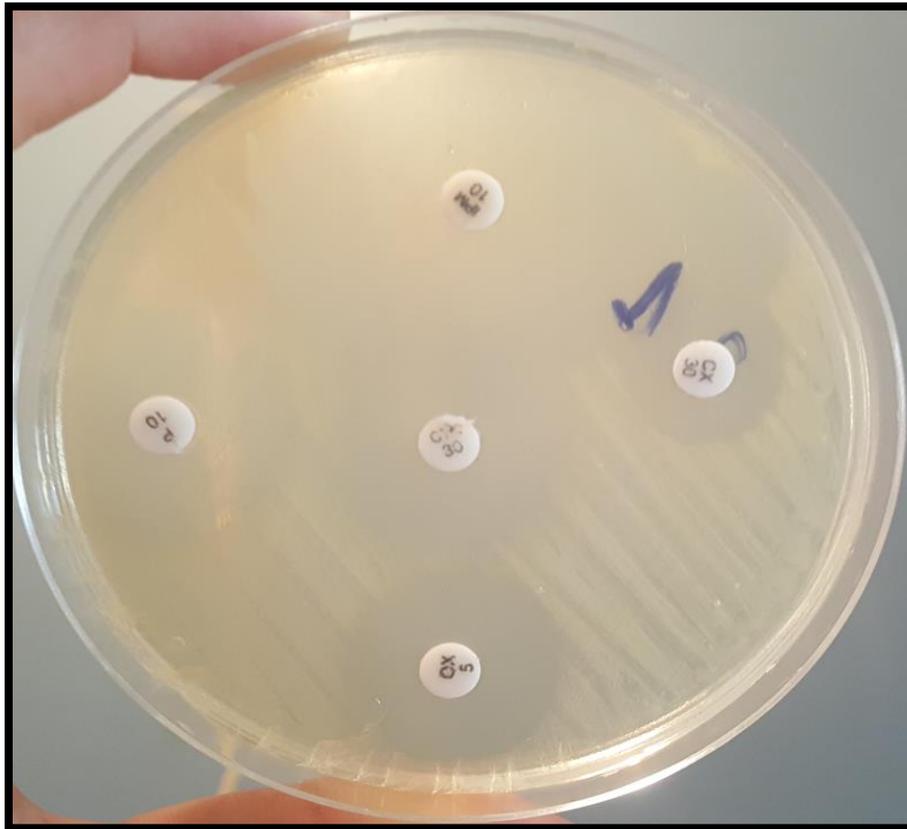


Figure n°55 : Résultat de l'antibiogramme de la souche 31

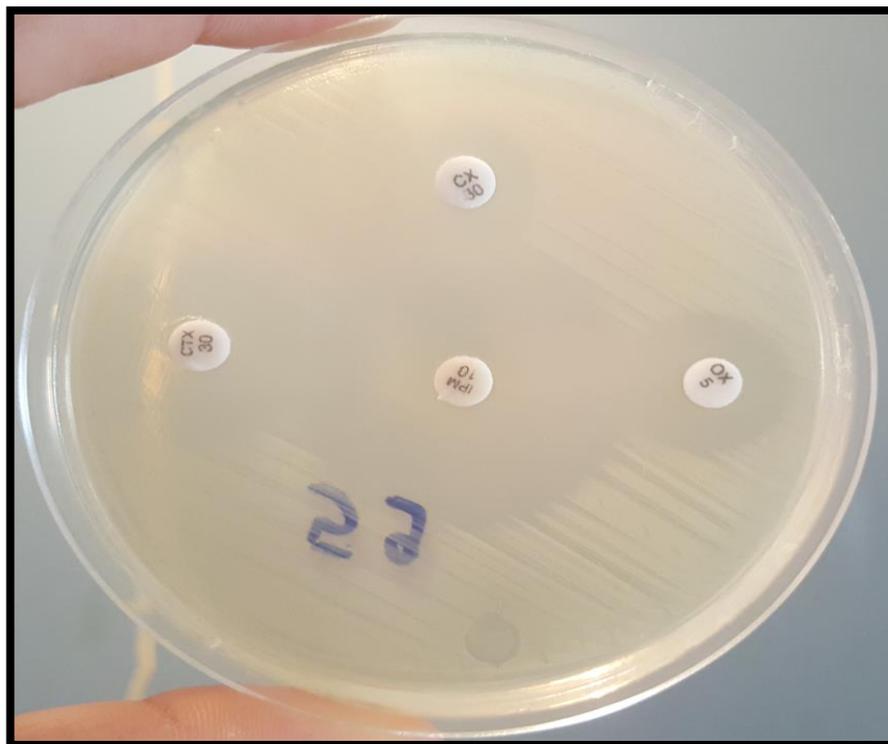


Figure n°56 : Résultat de l'antibiogramme de la souche 59

CHAPITRE II : RÉSULTATS

3.3. Groupe MLS

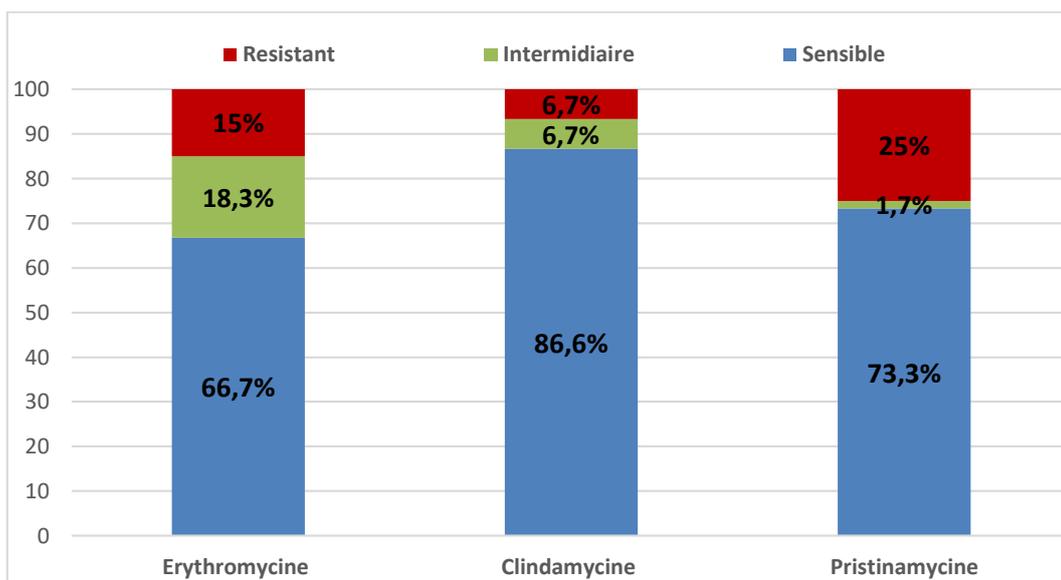


Figure n°57 : Profil de sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux MLS (n=59)

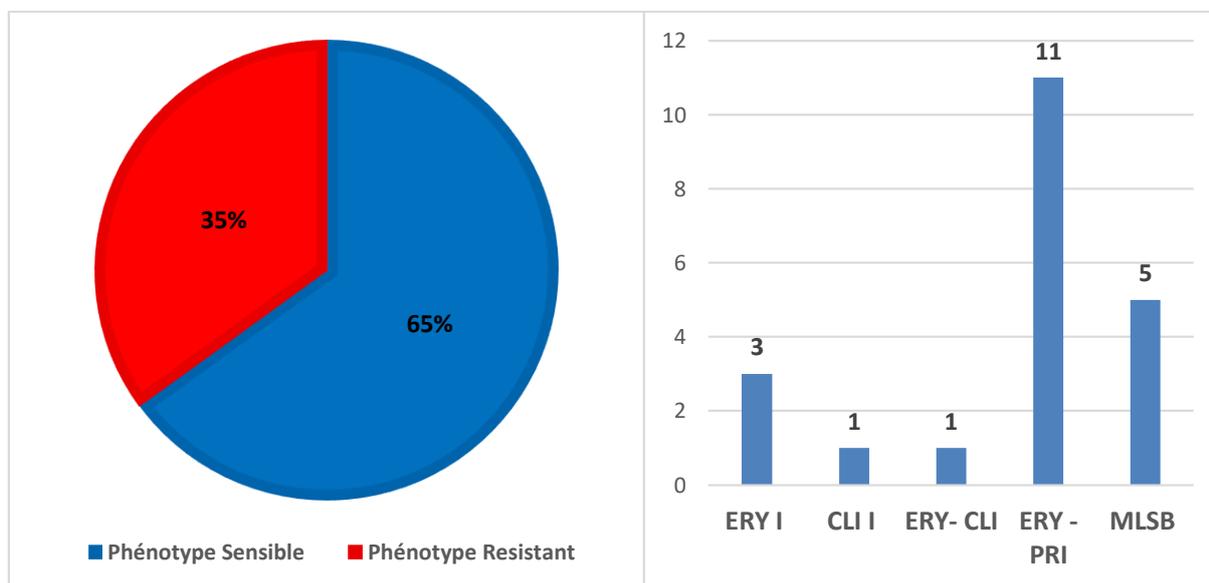


Figure n°58 : phénotypes de sensibilité aux MLS (n=59)

Figure n°59 : répartition des phénotypes de sensibilité aux MLS (n=59)

CHAPITRE II : RÉSULTATS



Figure n°60 : phénotype de résistance LSA : image d'antagonisme entre Clindamycine et Pristinamycine.



Figure n°61 : phénotype de résistance MLSB inductible : image d'antagonisme entre Erythromycine et Clindamycine.

CHAPITRE II : RÉSULTATS

3.4. Aminosides

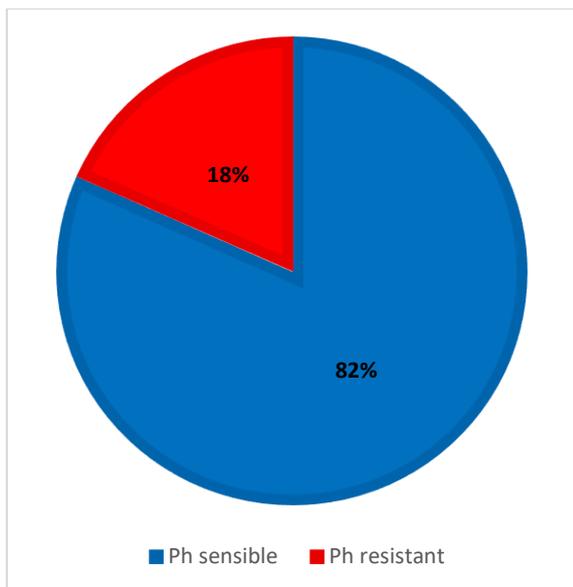


Figure n°62 : Phénotypes de sensibilité aux aminosides (n=59)

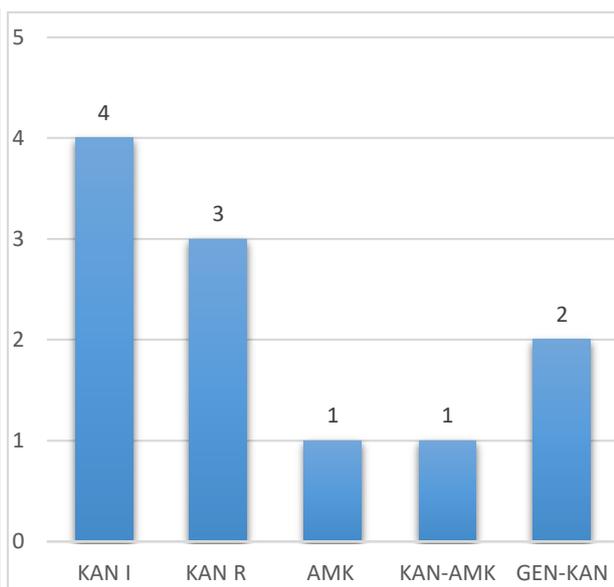


Figure n°63 : répartition des phénotypes de sensibilité aux aminosides (n=59)

3.5. Fluoroquinolones

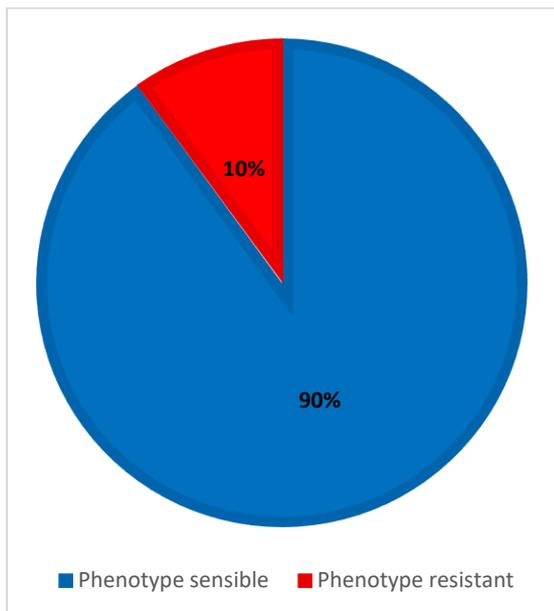


Figure n°64 : Phénotypes de sensibilité aux fluoroquinolones (n=59)

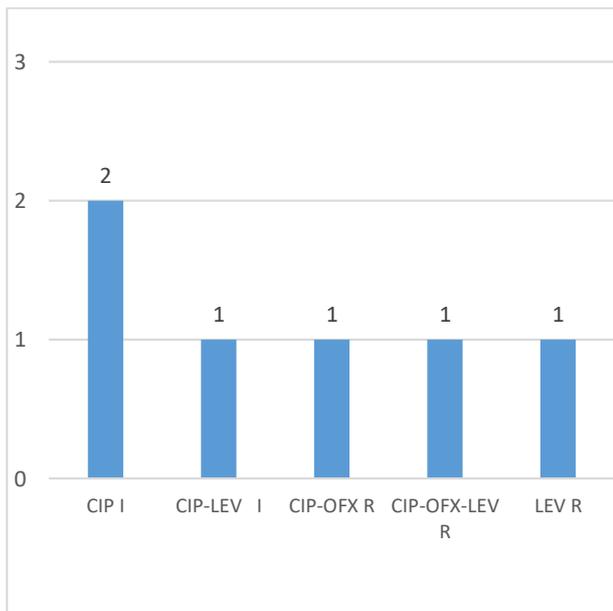


Figure n°65 : répartition des phénotypes de sensibilité aux fluoroquinolones (n=59)

CHAPITRE II : RÉSULTATS

3.6. Familles restantes :

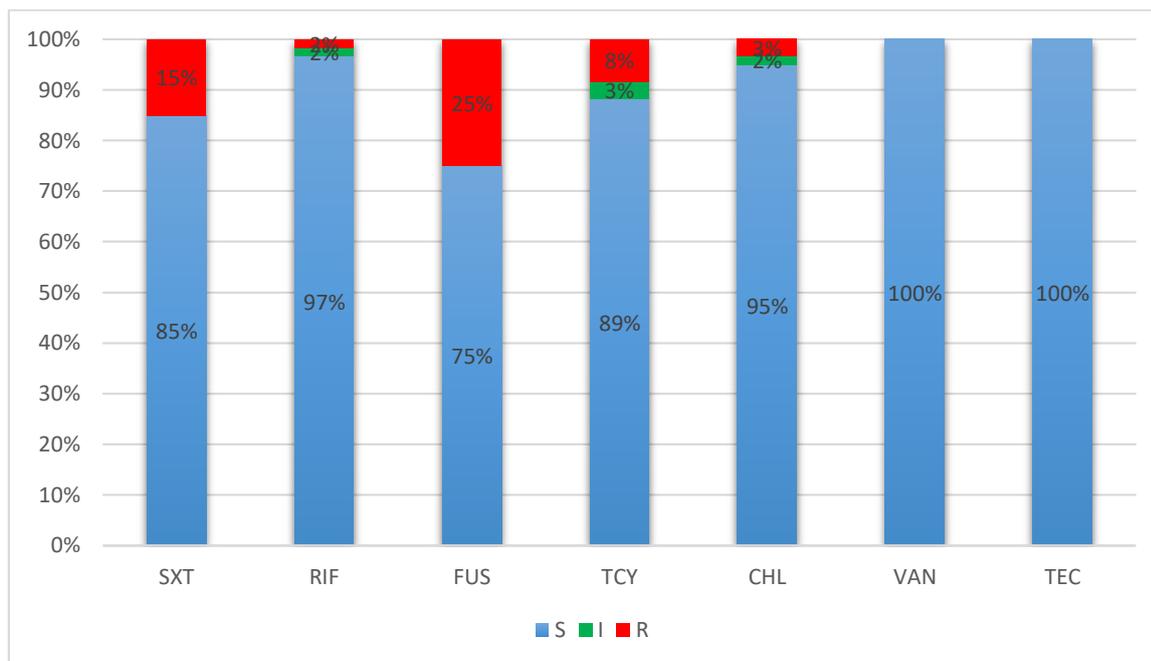


Figure n°66 : Profil de sensibilité de *S. aureus* aux différentes familles d'antibiotiques (n=59)

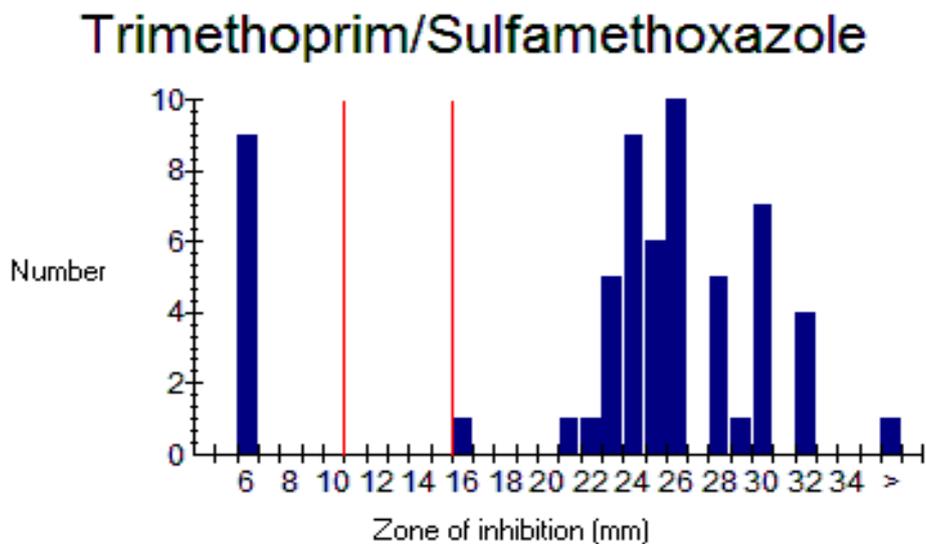


Figure n°67 : distribution des zones d'inhibition de STX

CHAPITRE II : RÉSULTATS

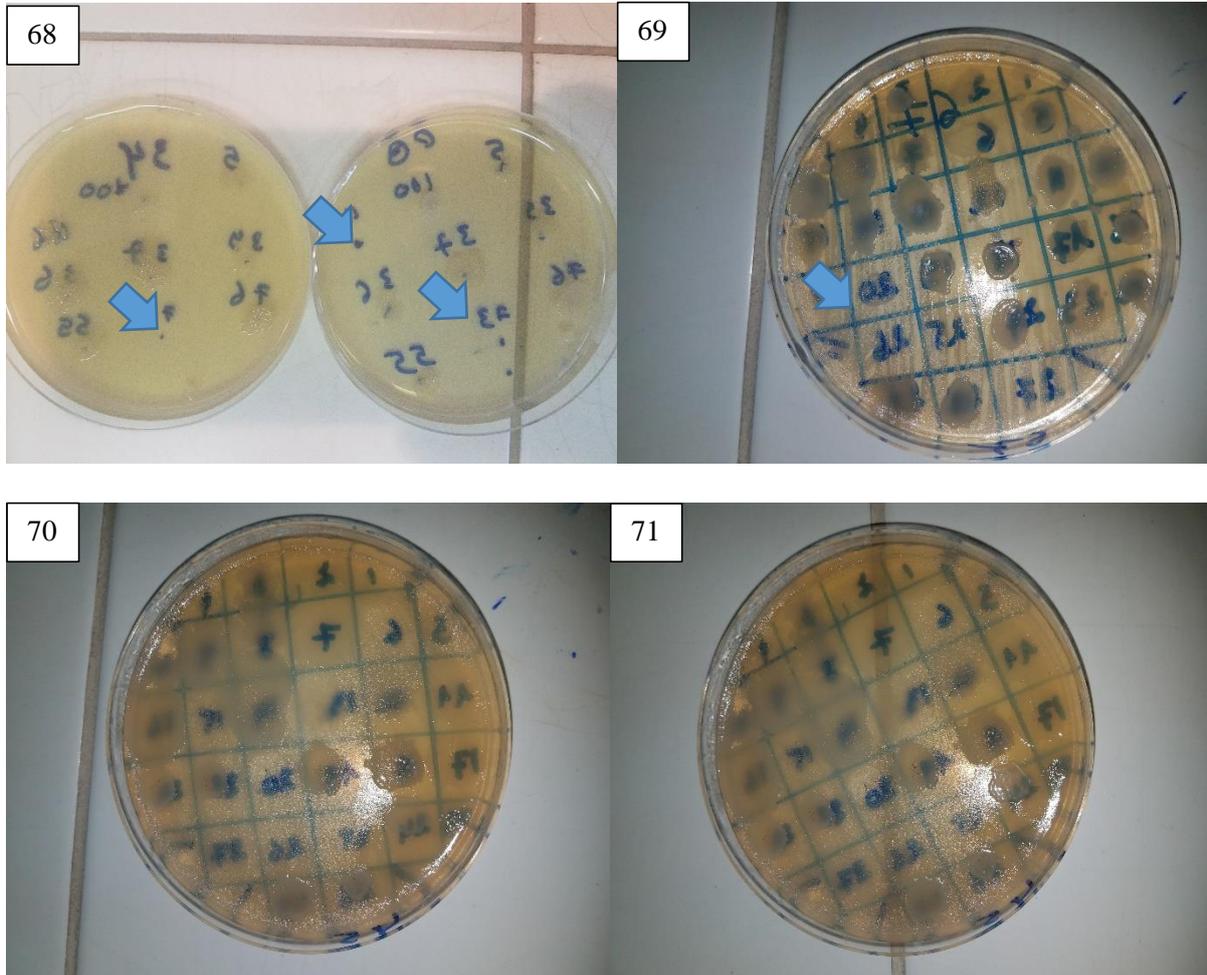
Résultats de l'étude du microbiote :

A. Expérience 01 :

Aucun diamètre d'inhibition n'a été relevé en partie masqué par l'envahissement par le *Proteus*.

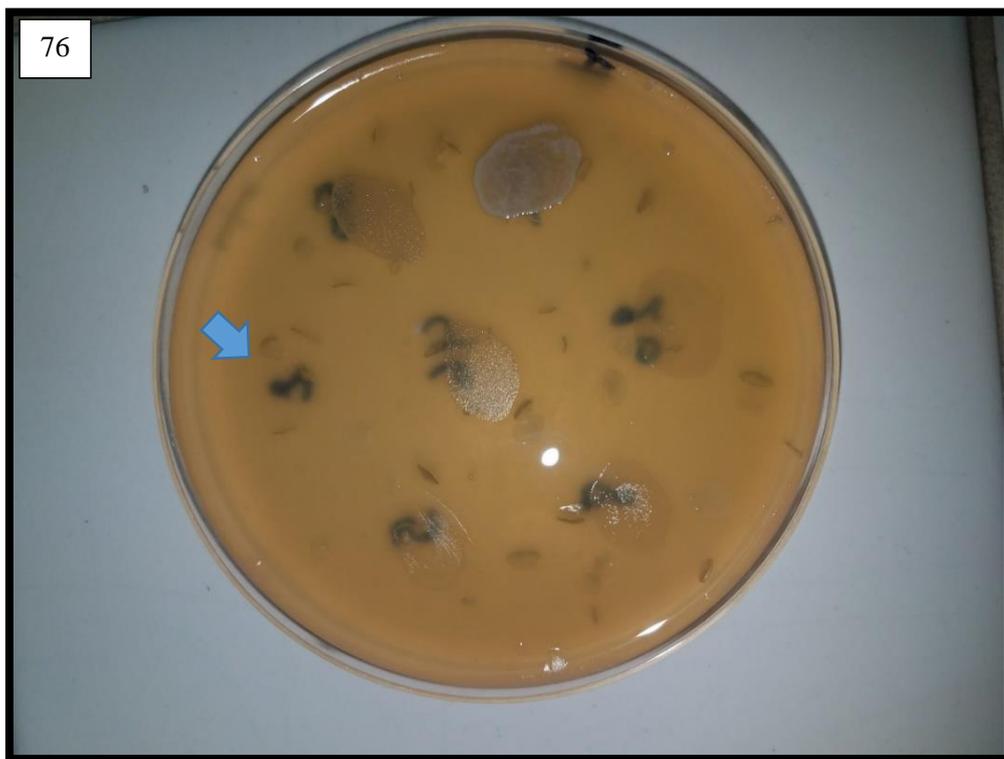
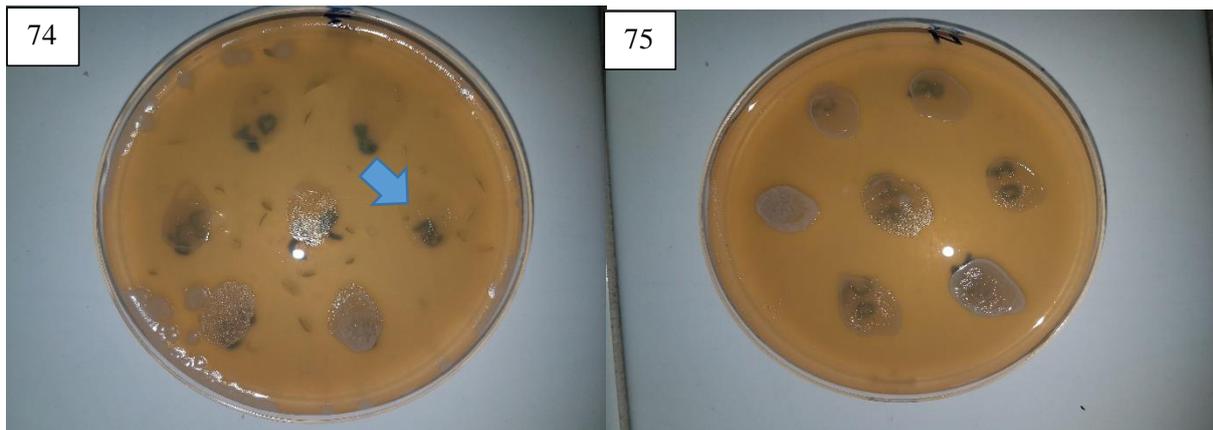
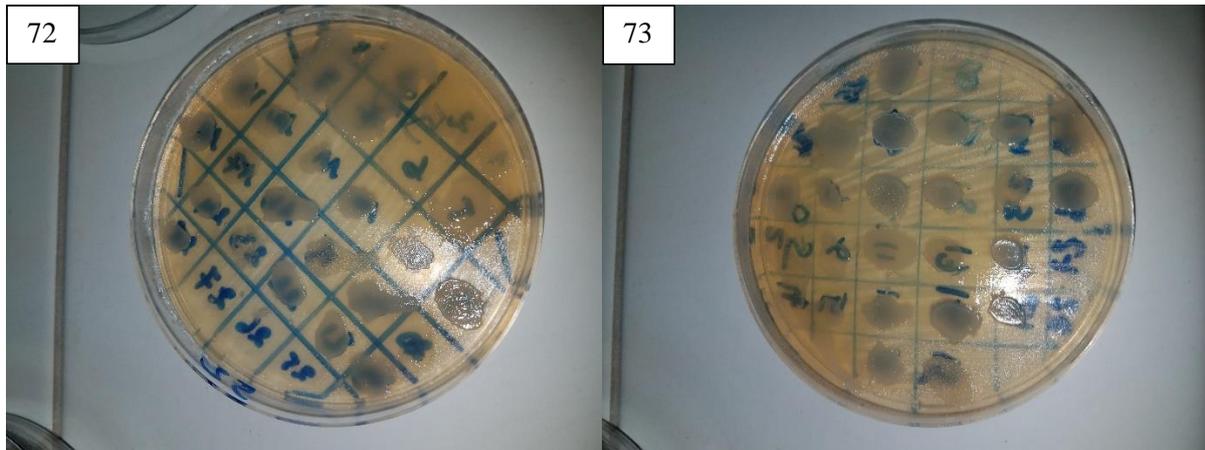
B. Expérience 02 :

Plusieurs souches ont montré une diminution de la densité de culture voire une culture négative.



Figures n°68-71 : résultats essais microbiote.

CHAPITRE II : RÉSULTATS



Figures n°72-76 : résultats essais microbiote.



Figures n°77 : résultats essais microbiote.

C. Expérience 03 :

Aucune lecture n'a été possible en raison de la contamination de la totalité des boites par le *Proteus* et le *Bacillus*.

CHAPITRE III :
DISCUSSIONS

CHAPITRE III : DISCUSSIONS

Le taux de portage global est de 54,6%. En comparaison ces taux sont plus élevés que ceux retrouvés dans d'autres régions d'Algérie : 39.2% à Tlemcen [108], 21.57% à Blida [109] ; à noter que toutes ces études, ce sont intéressées à la population générale. Ainsi l'étude menée à Tizi-Ouzou 2017 menée par S. AZRARAK, J.FILALI dans la population générale donne un taux de 37% [110].

En raison de l'intervalle d'âge étroit, le taux de portage oscille autour de 50% pour toutes les classes rapportées dans la figure n°36 [111].

Dans cette étude nous avons trouvé que le sexe féminin présentait un taux plus élevé de portage que celui rapporté par rapport au sexe masculin sachant que notre population d'étude est à prédominance féminine.

-En matière de spécialité d'étude, la quasi-totalité des étudiants en sciences médicales qui constituent l'essentiel de notre échantillon, sont des internes en pharmacie et des externes en médecine ayant une activité d'apprentissage dans une structure de soins. Ce fait est rapporté comme facteur de risque par plusieurs publications [112], [110].

-Promiscuité, la présence d'enfants, vie dans une famille nombreuse : nos résultats rejoignent ceux de l'étude de Rafee en 2012 (58%) [113], et les résultats d'une étude effectuée au Maroc en 2018 [114]. Une étude menée par V. Shetty et al (en Inde) [115] a démontré que la prévalence de porteurs de SA est plus élevée chez les individus vivants avec 10 personnes par rapport aux malades ayant des contacts proches ≤ 4 .

Une autre étude faite par CJ. Chen et al. (Taiwan) a rapporté que vivre avec un plus grand nombre d'enfants est un facteur important pour la colonisation par le SARM. [116], [117].

Le contact animalier est un facteur de risque pour le portage de *S.aureus* comme rapporté par plusieurs études [118], [119], [120], [121].

Avec toutes les données collectées, une comparaison avec des études internationales montre que les taux de portage sont bien plus élevés dans notre étude. Ceci peut être justifié par la multitude de facteurs de risque relevés (promiscuité, filière d'étude, la présence des enfants en bas âge, notion de voyage, contact animalie r). Mais pourrait aussi être spécifique à notre population d'étude et les modalités de prélèvement. Il est à signaler que nos échantillons proviennent d'individus volontaires qui eux même ramenaient leurs camarades et ainsi de suite. Une étude sur une période plus longue, incluant une population plus hétérogène d'étudiants, et

CHAPITRE III : DISCUSSIONS

comparant les étudiants ayant une activité hospitalière de ceux qui n'en ont pas pourrait apporter des éléments de réponse.

- La résistance aux antibiotiques

a. Pénicilline G : Les taux de résistance concordent avec les données de l'AARN qui ont trouvé un taux de 95,31% chez les patients externes, l'étude menée par D. Eibach et al 95,1% [122], 91,4% Tizi-Ouzou 2017 menée par S. AZRARAK, J.FILALI [110].

b. Céfoxitine : traduisant la méthicillino-résistance, nos taux sont bien plus élevés que ceux rapportés dans divers publications nationales (étude de Tlemcen 10,6% [108], Djoudi et al 1,5% [123], ainsi que ceux rapportés par AARN avec un taux de 23,75% chez les patients externes [124]. EU/EEA rapporte des taux de 0% en Islande [125], et jusqu'à 57,2% en Roumanie en 2015. Une autre étude menée par GUSHIKEN et al au Brésil a trouvé un taux de 16,6% chez les étudiants en médecine en 2016 [126].

Cela peut être due soit aux :

- ☞ Erreur analytique.
- ☞ Des taux réels soutenu par les taux élevés retrouvés à Tizi-Ouzou 2017 menée par S. AZRARAK, J.FILALI [110], dans ce cas la catégorie d'âges étudiés associées au différents facteurs de risques notamment les études médicales (50% contre 25% de portage de *S. aureus* chez les étudiants n'appartenant pas aux filières médicales de plus la seule souches isolés chez cette catégories est méthicillino-sensible comme rapportés dans l'étude de Tizi-ouzou 2017 menée par S. AZRARAK, J.FILALI [110]).

c- Nous avons relevé 9 cas de discordance entre oxacilline et céfoxitine (oxacilline S céfoxitine R) soulignant la meilleure sensibilité à la céfoxitine par rapport à l'oxacilline pour la détection des SARM mais pouvant être évocateurs de gène *mec C*.

d. Aucun phénotype BORSA n'a été détecté

e. 03 souches ont présenté une discordance entre pénicilline G et céfoxitine, le phénotype MODSA a été évoqué et testé selon les recommandations de l'AARN.

Une des souches retestées (n=3) n'as pas poussé cependant pour les autres les résultats semblent orienter un phénotype avec modification de la PLP4 pour la souche 31 et PLP4/ PLP3 pour la souche 59 mais nos tests ne peuvent en apporter la confirmation définitive.

CHAPITRE III : DISCUSSIONS

Ces résultats concordent avec l'étude du Sénégal de 2010 à 2012 [127].

f. Groupe MLS : Otsuka et al, ont rapporté que 97% des MRSA et 34,6% des MSSA étaient résistants à un ou plusieurs agents MLS dans une étude menée entre 2001 et 2006 [128].

.Erythromycine :

Les taux retrouvés dans cette étude sont plus élevés que ceux rapportés dans les études de Tizi -Ouzou [110] 11,4%, Tlemcen [108] 17,6%, aux taux nationaux 24 ,05% et plus faibles que ceux d'Annaba [129] avec un taux de 46,2%.

L'étude menée par Eibach et al au Maroc [130], les taux de résistance à l'Erythromycine étaient de 11.4%.

.Clindamycine :

Les taux de résistance sont comparables à ceux de l'AARN [124] qui ont trouvé un taux de 10,15% chez les patients externes, cependant ce taux est élevé à celui de l'étude de Tizi-Ouzou (2,9 %) [110]. L'étude de Tlemcen a montré un taux de 23,5 % [108]. Une étude menée par GUSHIKEN et al au Brésil [126] a trouvé un taux de 42,8 % chez les étudiants en médecine.

.Pristinamycine :

Les taux retrouvés dans cette étude sont bien plus élevés que ceux de l'AARN (5,88 %) chez les patients externes [124] et ceux de Tizi-Ouzou (2,9%) [110].

.Les phénotypes de résistances :

Le phénotype de résistance aux MLS le plus dominant semble être le MSB suivi de MLSB ;

- Phénotype MLSB inductible : traduisant l'expression d'une Méthylase inductible, il se manifeste par une résistance aux Macrolides et Lincosamides. La signature de ce phénotype est la zone d'inhibition en forme de D entre l'Erythromycine et la Clindamycine.
- Phénotype MLSB constitutive : traduisant l'expression d'une Méthylase constitutive et entraîne une résistance de haut niveau à l'ensemble des macrolides, les Lincosamides et les Streptogramines B.

CHAPITRE III : DISCUSSIONS

- Phénotype MSB : est dû à un efflux actif de l'antibiotique. Il se différencie du phénotype MLSB inductible par l'absence d'image d'antagonisme
- Phénotype L : il s'agit d'une modification enzymatique des Lincosamides (Nucléotidyl-transférase) .La Clindamycine dans ce cas est modérément touché avec augmentation des CMI. Dans notre étude il se pourrait que les souches exprimant le phénotype Clindamycine Intermédiaire présent ce mécanisme de résistance.
- Phénotype LSA : une résistance de bas-niveau à la clindamycine et aux streptogramines A. Le mécanisme exact n'est pas bien élucidé et pourrait être associé à un efflux actif.
- Phénotype S : se manifeste par une résistance isolée aux Streptogramines. les mécanismes sont multiples incluant un efflux actifs et/ou une modification enzymatique.

g. Aminosides :

Nous avons noté chez les souches de Staphylocoques aureus isolées une résistance de 18% à un ou plusieurs aminosides.

- 10 % sont résistantes à la kanamycine, ce taux est concordant avec celui retrouvé au Maroc [193, supérieure à celui signalé à Tizi-Ouzou en 2017 [110] et inférieure à celui publié par l'AARN [124] et retrouvé à Blida [109].

- Le phénotype dominant est celui de la kanamycine intermédiaire seul (4 souches) suivi de celui de la kanamycine R.

-La littérature rapporte 04 phénotypes de résistance prédominant chez Staphylococcus aureus correspondant à la présence d'enzymes modificatrices. Dans notre étude, seul le phénotype Gentamicine Résistant peut être attribué de manière hypothétique à une [AAC (6')-APH (2'')] conférant une résistance à tous les aminosides.

h. Fluoroquinolones :

Le taux de résistance trouvé dans notre étude est de 10%. Ce résultat concorde avec les données de l'AARN qui ont trouvé un taux de 8,81%, Maroc (7,3%) [130]. Toutes nos souches ont été trouvées chez les MRSA.

CHAPITRE III : DISCUSSIONS

-La littérature rapporte plusieurs mécanismes de résistance aux Fluoroquinolones avec un impact variable sur les différents antibiotiques testés, notamment la mutation de la cible et l'efflux actif.

-Dans le cas de la résistance de haut niveau aux 03 antibiotiques testés il est possible de proposer un mécanisme mutationnel (phénotypes CIP+OFX ET CIP+OFX+LEV) en particulier que ce mécanisme se fait par étapes avec réduction progressives de la sensibilité.

Le phénotype CIP+LEV R mais OFX S et le phénotype LEV R détectés, cependant leur mécanisme de résistance est mal connu.

i. Triméthoprime/Sulfaméthoxazole : la résistance étant de 15 %, ce taux est supérieur à celui retrouvé en 2017 à Tizi-Ouzou (0%) [110]. Lors de l'étude de la distribution des zones d'inhibition nous avons noté que toutes les souches résistantes l'étaient à un haut niveau suggérant une combinaison de mécanismes de résistances probablement mutationnels.

j. Acide fusidique : nous avons noté une résistance de 25% à l'Acide fusidique ; similaire avec l'étude de Tlemcen [108] mais inférieur à celle du taux national (31,67%) [124]

k. Tétracycline : une résistance de 8%, ce taux est similaires à ceux retrouvé a Tizi ouzou (2015) [110] et Tlemcen [108] mais inférieurs à celui publié par l'AARN qui est de 27,71% [124].

l. Chloramphénicol : nous avons détecté 02 souches de haut niveau de résistance pouvant être causé par l'acquisition d'une Chloramphénicol acétyltransférase.

m. Rifamycine : la majorité des souches sont sensible 97% respectivement.

n. Vancomycine et Teicoplanine : toutes les souches sont sensibles (100%)

En l'absence de disques d'antibiotiques multiples testant plusieurs membres d'une même famille d'antibiotiques, il devient difficile de théoriser sur le mécanisme de résistance probable devant être confirmé par des techniques spécialisées.

CHAPITRE III : DISCUSSIONS

Discussion microbiote :

- **Expérience 01** : plusieurs scénarios possibles
- Absence de métabolites II^{aires} dans le bouillon de culture
- Métabolites secondaires en concentration faible par rapport à l'inoculum bactérien
- Existence de métabolites II^{aires} mais absence d'activité sur la souche testée (orientée par l'effet inhibiteur de l'extrait d'Aristoloché).
- **Expérience 02** : plusieurs souches ont montré une diminution de la densité de culture voire une culture négative.
- **Expérience 03** : aucune lecture n'a été possible en raison de la contamination de la totalité des boîtes par le *Proteus* et le *Bacillus*.

Limites de l'expérience :

- la limitation importante de temps et de moyens est la principale raison pour l'échec de ces expériences. Nous n'avons pas pu tester d'autres expériences comme une co-culture en milieu liquide, ces expériences sont laborieuses et nécessitent des conditions optimales en matériel et propreté.
- Impossibilité probable de cultiver une partie des bactéries contenues à l'origine dans les prélèvements.
- Perte probable d'une partie de la culture à chaque sub-culture en faveur de bactéries à croissance rapide comme le *Proteus*

Limite de l'étude :

Homogénéité de la population (prédominance du sexe féminin) ce qui n'est pas en notre faveur pour comparer et discuter aisément nos résultats avec d'autre.

Non disponibilité de matériel au niveau du laboratoire.

La difficulté et la rareté des informations collectés et souvent la non coopération des étudiants interrogés.

Impossibilité de la confirmation du taux de SARM (90%) par défaut du non disponibilité des techniques de biologie moléculaire.

Pour la conservation des souches, nous avons utilisé le BHIB à cause de non disponibilité de la glycérine au niveau de notre laboratoire.

Absence de densitomètre, gélose Muller Hinton salée ayant des répercussions sur la qualité de l'antibiogramme.

Enfin le facteur de temps.

Conclusion, recommandations et Perspectives

A l'issu de ce travail nous avons totalisé un échantillon de 108 écouvillonnages nasaux, il en est sorti un taux de portage de 54,6% dont 90% de SARM, chose qui n'était pas attendu vu les résultats de 2017(54%).

Autres constatations sont que le taux de portage était plus élevé chez le sexe féminin mais aussi qu'il existait un cumul de facteurs de risque de portage du SARM dans notre population d'étude.

Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont montré que le caractère SARM sans autre résistance associée représentait un tiers des isolats. Les autres familles les plus touchées par la résistance étaient le groupe MLS (35%), l'acide fusidique (25%) et le Cotrimoxazole (15%). Mais dans la globalité, nos souches étaient sensibles aux autres familles antibiotiques. Nous avons noté l'existence de souches multirésistantes.

Cette expérience nous a permis de proposer quelques humbles recommandations pour les futurs doctorants désirant mener ce type d'études :

- En matière de théorie :
 - ✓ Elle est la base des investigations, elle nous a permis de formuler des hypothèses, constituer notre fiche de renseignements et comparer nos résultats. Nous recommandons vivement de la constituer au plus vite avant de se lancer dans la pratique.
 - ✓ Nous recommandons vivement l'utilisation d'un logiciel de gestion des bibliographies pour faciliter l'assemblage du document.
- En matière de pratique :
 - ✓ Il est impératif, avant même de commencer les investigations, de s'assurer de la disponibilité du plateau technique, du consommable ainsi que des souches de références pour toute l'étude.
 - ✓ Certaines techniques microbiologique comme la culture et les CMI sont laborieuses et peuvent être très chronophages, une optimisation des pratiques est donc nécessaire : il faut bien planifier sur papier avant de se lancer sur la paillasse.
 - ✓ Le milieu de travail, incluant matériel, consommable, air et surfaces doivent être parfaitement propres pour éviter toute contamination induisant des erreurs de lecture voir même à un échec total de l'expérience conduisant à une perte préjudiciable de temps et de matériel.

- ✓ Il peut être judicieux de rassembler les souches en groupe pour les tests de sensibilité aux antibiotiques / tests d'identification. Dans ce cas il faut s'assurer de la disponibilité des milieux de congélation et de la stabilité des congélateurs.
- ✓ Les CMI en milieu liquide sont des opérations laborieuses et se contaminent facilement en plus de la concentration requise par le manipulateur, nous proposons donc que les CMI soient lancées en petites séries au lieu de grandes séries.
- ✓ Les contrôles de qualité ont été un incontournable dans notre pratique à tous les niveaux, en plus de nous permettre de valider nos résultats, elles ont permis de récupérer plus d'une dizaine de cas positifs grâce à l'identification d'un lot défaillant de Milieu Chapman. Nous conseillons de les lancer avec chaque groupe d'identification et d'antibiogramme.

Enfin, ce modeste travail constitue un maillon d'une chaîne qu'il serait fort apprécié de continuer, dans cet esprit nous proposons comme suite :

- ✓ La recherche du gène *mec* dans nos souches pour en confirmer le caractère MRSA
- ✓ Effectuer un typage moléculaire (spa, MLST, SCCmec...) afin d'identifier les clones circulants en milieu communautaire
- ✓ Recherche des gènes de résistance pour les différentes familles d'antibiotiques antistaphylococciques.
- ✓ Dédier une étude aux étudiants non médicaux et ne vivant pas en cité universitaire afin de confirmer l'implication de ces facteurs comme réel facteur de risque du portage de *S.aureus* surtout MRSA.

ANNEXES

Annexe 01 : Classification phénotypique des espèces et sous-espèces du genre *Staphylococcus* [5]

Espèces et sous espèces à coagulase positive		Espèces et sous-espèces à coagulase négative	
1. <i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	1. <i>S. auricularis</i>	24. <i>S. arlettae</i>	
2. <i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	2. <i>S. capitis</i> subsp. <i>Capitis</i>	25. <i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	
3. <i>S. delphini</i>	3. <i>S. capitis</i> subsp. <i>Ureolyticus</i>	26. <i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i>	
4. <i>S. hyicus</i>	4. <i>S. caprae</i>	27. <i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>	
5. <i>S. intermedius</i>	5. <i>S. carnosus</i> subsp. <i>Carnosus</i>	28. <i>S. equorum</i> subsp. <i>linens</i>	
6. <i>S. lutrae</i>	6. <i>S. carnosus</i> subsp. <i>Utilis</i>	29. <i>S. gallinarum</i>	
7. <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	7. <i>S. chromogenes</i>	30. <i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	
	8. <i>S. condimentii</i>	31. <i>S. kloosii</i>	
	9. <i>S. epidermidis</i>	32. <i>S. nepalensis</i>	
	10. <i>S. felis</i>	33. <i>S. saprophyticus</i>	
	11. <i>S. haemolyticus</i>	34. <i>S. fleurettii</i>	
	12. <i>S. hominis</i> subsp. <i>Hominis</i>	35. <i>S. lentus</i>	
	13. <i>S. lugdunensis</i>	36. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>caraticus</i>	
	14. <i>S. muscae</i>	37. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>Rodentium</i>	
	15. <i>S. pasteurii</i>	38. <i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>Saprophyticus</i>	
	16. <i>S. piscifermens</i>	39. <i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>	
	17. <i>S. saccharolyticus</i>	40. <i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>	
	18. <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>Schleiferi</i>	41. <i>S. succinus</i> subsp. <i>succinus</i>	
	19. <i>S. simulans</i>	42. <i>S. xylosum</i>	
	20. <i>S. warneri</i>	43. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>Sciuri</i>	
	21. <i>S. vitulinus</i>	44. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>lentus</i>	
	22. <i>S. pettenkoferi</i>	45. <i>S. pseudointermedius</i>	
	23. <i>S. simiae</i>	46. <i>S. pulvereri</i>	

Annexe 02 : Facteurs de croissance et de toxinogénèse chez *S. aureus* (14)

Facteur	Croissance optimum	Limites de croissance	Production d'entérotoxine Optimum	Limite de production d'entérotoxine
Température	35-41°C	6-48°C	34-40°C	10-45°C
pH	6-7	4-10	7-8	5-9,6

ANNEXES

NaCl	0-4 %	0-20%	0-4%	0-10%
Atmosphère	Aérobie	Aéro- anaérobie	Aérobie	Aéro-anaérobie

Annexe 03 : Les principaux caractères biochimiques permettant de différencier *S. aureus* des autres espèces :

<i>Staphylococcus</i>	Diamètres des colonies (\bar{s} > 5mm)	Croissance anaérobie en thioglycate	lysostaphine (R à 50 µg/ml)	Hémolyse (érythrocytes de bœuf)	Réduction du nitrate	Phosphatase	Novobiocine (R à 1,6µg/ml)	Coagulase	Fructose	Galactose	Mannose	Xylose/Arabinose	Ribose	Maltose	Lactose	Saccharose	Tréhalose	Turanose	Mélézitose	Mannitol	Xylitol
<i>aureus</i>	+	+	-	(+)	+	+	-	+	+	+	(+)	-	+	+	(+)	+	+	(+)	-	+	-
<i>saprophyticus</i>	+	+/-	+	-	-	(-)	+	-	+	-	-	-	-	+	(+)	+	+	+	-	+	+/-
<i>epidermidis</i>	-	+	+	+/-	+/-	+	-	-	+	(+)	(+)	-	-	+	(+)	+	-	V	(-)	-	-
<i>haemolyticus</i>	(+)	±C	+	(+)	+	(-)	-	-	+/-	V	-	-	(-)	+	-	+	+	V	-	+/-	-

Annexe 04 : Répartition des phyla bactériens majoritaires du microbiote humain intestinal

Firmicutes	<ul style="list-style-type: none"> ▪ groupe <i>Eubacterium rectale</i> – <i>Clostridium coccoides</i> (14 à 31 %) ▪ groupe <i>Clostridium leptum</i>, avec les espèces <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>, <i>Ruminococcus albus</i> et <i>Ruminococcus flavefaciens</i> (16 à 22 %)
Bacteroidetes	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Genres <i>Bacteroides</i>, <i>Prevotella</i> et <i>Porphyromonas</i> (9 à 42)
Actinobacteria	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les bifidobactéries (0,7 à 10 %) ▪ Bactéries du groupe <i>Collinsella-Atopobium</i> (0,3 à 3,7 % en moyenne).

ANNEXES

Autres	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les entérobactéries (0,4 à 1 %) ▪ les lactobacilles et streptocoques (2 %) [88].
--------	---

Annexe 05 : les différentes maladies associées à la dysbiose

MICROBIOTE		Bactéries prédominantes	Bactéries quasi-absentes
MALADIES			
Maladies intestinales	maladies inflammatoires chroniques intestinales	enterobacteriaceae dont <i>Escherichia coli</i> [90]	Lactobacilles, <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , actinobactériés dont bifidobactériés [90]
pathologies métaboliques	obésité		<i>Akkermensia muciniphila</i> [91]
	Diabète de type 2	Dévers bactéries pathogènes [92]	<i>Akkermensia muciniphila</i> [92]
Hypersensibilité	asthme allergique	Les entérocoques et le genre <i>clostridium</i> [93]	lactobacilles, <i>bifidobacteria et bacteroidetes</i> [93]
Pathologies neurologiques	L'autisme	<i>Clostridium</i> , <i>Bacteroidetes</i> et <i>Desulfovibrio</i> [94]	<i>Firmicutes</i> , <i>Bifidobacterium</i> [94] et <i>Akkermansi amuciniphila</i> [95]
	la maladie de parkinson	Les entérobactéries [96]	<i>Prevotellaceae</i> [96]

ANNEXES

	la maladie d'Alzheimer	<i>E. coli, Salmonella typhinurium, Bacillus subtilis, Mycobacterium Tuberculosis et Staphylococcus aureus</i> [97]	
--	------------------------	--	--

Annexe 06 : Comparaison des différentes techniques d'études [120].

Technique	Avantages	Limites
Culture	- Prend en compte les bactéries vivantes	-Peu de bactéries cultivables -Méthode de comptage -Conditions de conservation desEchantillons
Séquençage ARNr 16S	-Permet d'identifier des espèces Bactériennes	Technique faiblement quantitative

ANNEXES

Métagénomique	<ul style="list-style-type: none"> -Permet d'observer la composition microbienne sans amplification -Déecte les gènes présents dans un échantillon -Permet de comparer des profils génomiques entres échantillons 	Ne donne pas d'information sur l'expression des gènes
Métatranscriptomique	<ul style="list-style-type: none"> -Déecte l'expression des gènes -Compare l'expression des gènes entre deux échantillons 	Difficulté de mise en œuvre, instabilité de l'ARNm
Métaprotéomique	<ul style="list-style-type: none"> -Déecte des profils protéiques -Permet de comparer la production de protéines entre deux échantillons 	Difficulté de mise en œuvre
Métabolomique	<ul style="list-style-type: none"> - Déecte des profils métaboliques - Permet de comparer les métabolites entre deux échantillons 	Métabolites de l'hôte et du microbiote mélangés

ANNEXES

Annexe 08 : Equipements utilisés au niveau de notre laboratoire

- Gants
- Etuve
- Réfrigérateur
- Microscope optique
- Bec benzène
- Boîtes de pétri
- Tube conique
- Portoir
- Lame et lamelle en verre
- Pince porte objet
- Pipette pasteur
- Anse de platine
- Ecouvillons simples en tubes stériles
- Pied à coulisse
- Eau physiologique
- Plasma humain
- Disques d'antibiotique

Les références :

- [1] Robert. D. *Staphylococcus aureus* résistant à la methicilline (SARM) : Généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises et implication en pathologie communautaire illustré par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive (thèse).université Angers .2013.
- [2] le loir. Y. Gautier. M *Staphylococcus aureus*. Chapitre Taxonomie et habitat. Monographies de microbiologie ; Collection dirigée par Jean Paul Larpent. France. Édition Lavoisier.2010
- [3] Hennekine, JA., Kerouanton, A., Brisabois, A., De Buyser, ML. Discrimination of *Staphylococcus aureus* biotypes by pulsed-field gel electrophoresis of DNA macro-restriction fragments. *J Appl Microbiol*. 2003; 94, p321-329.
- [4] Kloos, WE., Zimmerman, RJ., Smith, RF. Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Appl Environ Microbiol*. 1976; 31, p53-49.
- [5] Williams, RE. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev*. 1963; 27, p56-71.
- [6] Smith, AJ., Jackson, MS., Bagg, J. The ecology of staphylococcus species in the oral cavity. *J Med Microbiol*. 2001; 50, p940-946.
- [7] Dworkin,M., Falkow,S., Rosenberg,E., Schkeufer, KH., Stackebrandt,E. The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme éd. ;Springer, New-York, 2006.Vol 4, Chap.1.2.1. The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*, p4-75.
- [8] Corn. P, *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation, étude génétique phénotypique et épidémiologique (thèse). Montpellier. Université Montpellier 2014.
- [9] Bactériologie niveau DCEM1. Service microbiologie. Paris. Université Pierre et Marie Curie .2003.p.13.
- [10] ADEL, TALBI. Etude de la résistance du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline aux autres antibiotiques. 2017
- [11] Garry. P.*Staphylococcus aureus*-Etat des lieux dans la filière porcine. Ifip.2010
- [12] Tchougoune ML (2007). Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline au CHU du Point G. Thèse de doctorat : Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie. 89.

- [13] Brun Y, Bes M (2000). Staphylococcus. In : *Precis de Bacteriologie Clinique*, Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C. eds. ESKA, Paris. 783-790
- [14] Le Minor L, Veron M. *Bactériologie Médicale: «Staphylococcus et Micrococcus»*, 2nd edn. Paris: Flammarion Médecine-Sciences 1990. 773-794
- [15] Couture B. *Bactériologie médicale: Étude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical*. Montréal: Décarie 1990. 13-32
- [16] LAYS. C. *ARN régulateurs de Staphylococcus aureus : Rôle de RsaA dans la formation du biofilm et de la capsule, Niveaux d'expression des ARN dans les prélèvements cliniques (thèse)* .Lyon. Université CLAUDE BERNARD LYON 1.2012.
- [17] AVRIL. JL. *Livre Bactériologie clinique 2^{ème} édition*. 1992.
- [18] Leijh, P.C., M.T. van den Barselaar, M.R. Daha and R. van Furth. 1981. Participation of immunoglobulins and complement components in the intracellular killing of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by human granulocytes. *Infect. Immun.* 33: 714-724.
- [19] O'Toole, G., H.B. Kaplan and R. Kolter. 2000. Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* **54**: 49-79.
- [20] Otto, M. 2012. Staphylococcal Infections: Mechanisms of Biofilm Maturation and Detachment as Critical Determinants of Pathogenicity. *Annu. Rev. Med.*
- [21] Staphylocoque doré. *Wikipédia.com*.
- [22] Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, et al. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol* 1994;48:585–617. doi:10.1146/annurev.mi.48.100194.003101.
- [23] Buckingham SC, McDougal LK, Cathey LD, et al. Emergence of Community-Associated Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee Children's Hospital. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2004; 23 (7):619–624. doi:10.1097/01.inf.0000131981.67342.c4.
- [24] D'après Maren von Köckritz-Blickwede (<http://schaechter.asmblog.org/schaechter/2009/03/a-pathogens-swissarmy-knife.html>).
- [25] Freney J, Renaud F, Hansen W, et al. *Précis de bactériologie clinique*. Paris, [Lyon]: ESKA; A. Lacassagne 2000.
- [26] Aly R, Levit S. Adherence of *Staphylococcus aureus* to Squamous Epithelium: Role of Fibronectin and Teichoic Acid. *Clinical Infectious Diseases* 1987;9(Supplement 4):S341-S350.

- [27] EL Kouri D., Pottier M.A., Trewick D., Le Gallou F., Baron D., and Potel G, ed. Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. Encycl Méd Chir. paris 1998.
- [28] Williams REO. HEALTHY CARRIAGE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS: ITS PREVALENCE AND IMPORTANCE1. Bacteriol Rev 1963;27:56–71.
- [29] Javad A. M.et Al Journal of Biomolecular Structure & Dynamics Volume 28, Issue Number 1, (2010).
- [30] Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev 1997;10:505–20.
- [31]Williams REO. HEALTHY CARRIAGE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS: ITS PREVALENCE AND IMPORTANCE1. Bacteriol Rev 1963;27:56–71.
- [32] Barbier . F .ED.Bacteriologie.DCEM1. Séminaire sur les staphylocoques, *Staphylococcus aureus*, Staphylocoques à coagulase positive. Paris.2008.
- [33] Panton PN, Valentine FCO. STAPHYLOCOCCAL TOXIN. The Lancet 1932;219:506–8. doi:10.1016/S0140-6736(01)24468-7.
- [34] Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet J-C, Lina G, Bes M, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet 2002;359:753–9. doi:10.1016/S0140-6736(02)07877-7.
- [35] Ladhani, S., et al., *Clinical, microbial, and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndrome*. Clin Microbiol Rev, 1999. **12**(2): p. 224-42.
- [36] Daugherty, S. and M.G. Low, *Cloning, expression, and mutagenesis of phosphatidylinositol-specific phospholipase C from Staphylococcus aureus: a potential staphylococcal virulence factor*. Infect Immun, 1993. **61**(12): p. 5078-89.
- [37] Batard É, El Kouri D, Potel G (2007). Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC - Maladies infectieuses .1-8
- [38] BOYEN F., EECKHAUT V., VAN IMMERSEEL F., PASMANS F., DUCATELLE R. ET HAESEBROUCK F. (2009) : Quorum sensing in veterinary pathogens: mechanisms, clinical importance and future perspectives. *Veterinary Microbiology*, *135*, pp. 187-195.
- [39] ANTUNES L.C.M., FERREIRA R.B.R., BUCKNER M.M.C. ET FINLAY B.B. (2010) : Quorum sensing in bacterial virulence. *Microbiology*, *156*, pp. 2271-2282.

- [40] CAIN C.L., MORRIS D.O., O'SHEA K. ET RANKIN S.C. (2011) : Genotypic relatedness and phenotypic characterization of *Staphylococcus schleiferi* subspecies in clinical samples from dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 72, pp. 96-102.
- [41] CARLOTTI N.D. ET BENSIGNOR E. (2006) : Pyodermites bactériennes : Aspects cliniques et diagnostiques. In : GUAGUERE E. ET PRELAUD P. (EDS.). *Guide Pratique de Dermatologie Canine*, Kaliaxis, p. 597.
- [42] Hôpital Antoine Bécclère, 157 rue de la porte de Trivaux. 92141 CLAMART. Université Paris Sud, 5 rue Jean-Baptiste Clément. 92296 CHATENAY-MALABRY. E-mail : florence.doucet-populaire@abc.ap-hp.fr
- [43] Daurel, C. et Leclercq, R. L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Rev. Fr.Lab.* (2008) ; 407 : 81 90.
- [44] Lyon, B.R. et Skurray, R. Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus*: Genetic Basis. *Microbiol. Rev.*(1987); 51 : 88-134.
- [45] **Winston, L.G., et Chambers, H.F.** (2009). Antimicrobial Resistance in Staphylococci: Mechanisms of Resistance and Clinical Implications. Mayers D.L. Antimicrobial Drug Resistance, volume 2, Clinical and Epidemiological Aspects. Humana Press, New York. p: 735-748
- [46] Shaw .K.J, Rather P.N, Hare R.S, Miller G.H. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationship of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol. Rev.* 1993; 57: 138-163.
- [47] le loir. Y. Gautier M. *Staphylococcus aureus*. Chapitre Physiologie. Monographies de microbiologie ; Collection dirigée par Jean Paul Larpent. France. Édition Lavoisier.2010
- [48] Drugeon, H. β -lactamines et staphylocoques. In :Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. *Antibiogramme*. ESKA, Paris, 2006; p117-123.
- [49] Loulergue P., Tourret S. Les staphylocoques dorés résistant à la methicilline d'origine communautaire. DES de bactériologie, virologie et hygiène hospitalière. 2013. p.13-14

- [50] Tomasz, A., Nachman, S., Leaf, H. Stable class of phenotypic expression in methicillin-resistance clinical isolates of staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991; 35, p124-129. 120
- [51] Lowry, F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* 2003; 111, p1265-1273.
- [52] Crozes, Didier. Izilox, Ketek, Zyvoxid : place des « nouveaux » antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique existant. 2005. Thèse de doctorat : Pharmacie, Université de Toulouse, n° TOU3 2052. p111.
- [53] O'Neil MJ. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14th ed. Whitehouse Station, N.J: Merck; 2006.
- [54] Kasten MJ. Clindamycin, metronidazole, and chloramphenicol. *Mayo Clin Proc* 1999; 74:825–33. doi:10.4065/74.8.825.
- [55] O'Neill, A.J., McLaws, F., Kahlmeter, G., Henriksen, A.S., Chopra, I. Genetic basis of resistance to fusidic acid in staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* (2007); 51, p1737-1740.
- [56] Hiramatsu, K., Aritaka, N., Hanaki, H., Kawasaki, S., Hosoda, Y., Hori, S., Fukuchi, Y., Kobayashi, I., 1997a. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 350, 1670–1673. Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., Tenover, F.C., 1997b. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J. Antimicrob. Chemother.* 40, 135–136.
- [57] Archambaud M., antibiotiques mécanisme de résistance, laboratoire bactériologie-hygiène CHU Rangueil, Toulouse Mars 2009.
- [58] Pr Rabaud, Ch. Les glycopeptides [en ligne], http://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=glycopeptides&source=web&cd=2&sqi=2&ved=0CDQQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.infectiologie.com%2Fsite%2Fmedias%2Fdiaporamas%2Ftraitement%2Fglyco_rabaud04.ppt&ei=G_O9ULCaMMiW0QWph4HoAQ&usg=AFQjCNHpkKDGEfWDR_GVf5kg1Ox_Gs9UA, consulté en décembre 2012.
- [59] Etienne, J., Gerbaud, G., Fleurette, J., Courvalin, P. Characterization of staphylococcal plasmids hybridizing with the fosfomycin resistance gene fosB. *FEMS MicrobiolLett.* (1991); 68, p119-122.
- [60] Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. *Antibiogramme*. Paris: Eska; 2006.
- [61] Pr Benyoussef, S. Les sulfamides antibactériens [en ligne], <http://pharmatox.voila.net/cours/sulfamidesantibacteriens.pdf>, consulté en décembre 2012.

- [62] Patel JB, Gorwitz RJ, Jernigan JA. Mupirocin resistance. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2009;49:935–41. doi:10.1086/605495.
- [63] Martin R, Nauta AJ, Ben Amor K, et al. Early life: gut microbiota and immune development in infancy. *Benef Microbes* 2010;1:367-82.
- [64] Chiller K, Selkin BA, Murakawa GJ. Skin microflora and bacterial infections of the skin. *J Investig Dermatol* 2001;7:170-4.
- [65] Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012;489:220-30.
- [66] Collado MC, Cernada M, Baüerl C, et al. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes* 2012;3:352-65.
- [67] Luckey TD. Introduction to intestinal microecology. *Am J Clin Nutr* 1972;25:1292-4.
- [68] Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464:59-65.
- [69] McBride ME, Duncan WC, Knox JM. The environment and the microbial ecology of human skin. *Appl Environ Microbiol* 1977;33:603-608.
- [70] Cassard. A. M. Thomas. Les microbiotes humains : des alliés pour notre santé. *Encyclopédie de l'environnement*. 2018 (1).
- [71] Denis. F.MC. Ploy. C. Martin. V. cattoir. *Bactériologie médicale. Technique usuelles*. 3em édition Elsevier (4).
- [72] BOURLIOUX. P. Actualité du microbiote intestinal. *Académie de Pharmacie* 2013 (2)
- [73] Chos D. Les échos de la micronutrition, numéro 44, *Microbiote intestinal, la santé du futur...* I.E.D.M – Institut Européen de Diététique et Micronutrition, octobre 2006
- [74] CDU-HGE. Les fondamentaux de la pathologie digestive, chapitre 13, microbiote et immunité intestinale. Elsevier Masson, octobre 2014.
- [75] Hilty M, Burke C, Pedro H, et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PloS One* 2010; 5: e8578.
- [76] L. DESCOINS. *Microbiote et cerveau : corrélation avec les pathologies neurologiques et psychiatriques (thèse) UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER*. 2017
- [77] Price P B . The bacteriology of normal skin : a new quantitative test applied to a study of the bacterial flora and the disinfectant action of mechanical cleansing . *J Infect Dis* 1938 ; 63 : 301 – 18.

- [78] M. Mokni, S. Abdelhak. Flore cutanée, microbiote et microbiome. Elsevier Masson SAS. 2014.
- [79] Grice E A , et al . Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome . Science 2009 ; 324 : 1190 – 2.
- [80] K Biswas¹, M Hoggard, R Jain, M W. Taylor, RG. Douglas¹. The nasal microbiota in health and disease: variation within and between subjects. New Zealand.2015.
- [81] Langella P, Bouix C. Le microbiote intestinal, un organe a part entiere. Le quotidien du pharmacien, novembre 2016.
- [82] A. Sakr, F. Brégeon, J.L. Mège, J.M Rolain and O. Blin : *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization: An Update on Mechanisms, Epidemiology, Risk Factors, and Subsequent Infections. 2018.
- [83] Frayssinhes. L. Implication du microbiote intestinal dans la santé et enjeux thérapeutiques (thèse). Toulouse .Université Toulouse III Paul Sebatier .2017.
- [84] Lagier JC, Hugon P, Khelaifia S, *et al.* The rebirth of culture in microbiology through the example of culturomics to study human gut microbiota. *Clin Microbiol Rev* 2015 ; 28 : 237-64.
- [85] Seng P, Abat C, Rolain JM, *et al.* Identification of rare pathogenic bacteria in a clinical microbiology laboratory: impact of matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2013 ; 51 : 2182-94.
- [86] JC Lagier, D Raoult. *Culturomics* : une méthode d'étude du microbiote humain. Médecine /Science *m/s n° 11*, vol. 32, novembre 2016 **925**.
Doi :10.1051/medsci/20163211005.
- [87] Lagier JC, Armougom F, Million M, *et al.* Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 :1185-93.
- [88] Simon,C.& Daniel,R. Metagenomic Analyses: Past and Future Trends *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 1153–1161 (2011).
- [89] Xie H, Guo R, Zhong H, Feng Q, Lan Z, Qin B, et al. Shotgun metagenomics of 250 adult twins reveals genetic and environmental impacts on the gut microbiome. *Cell Syst.* 2016;3:572–84.
- [90] Altschul S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers, and D. J. Lipman. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 215(3):403–410, Oct 1990.

- [91] S Ishii, M Yamamoto, M Kikuchi, K Oshima, M Hattori, S Otsuka, and K Senoo. Microbial populations responsive to denitrification-inducing conditions in rice paddy soil, as revealed by comparative 16S rRNA gene analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(22):7070–7078, Nov 2009.
- [92] JC Wooley, A Godzik, and I Friedberg. A primer on metagenomics. *PLoS Comput Biol*, 6(2):e1000667, 2010.
- [93] Weissenbach A, Sghir A. Microbiotes et métagénomique. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 937-43.
- [94] B.-S. Kim, Y.-S. Jeon, and J. Chun, “Current Status and Future Promise of the Human Microbiome,” *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, vol. 16, no. 2, pp. 71–79, Jun. 2013.
- [95] Comeau AM, Douglas GM, Langille MG. Microbiome helper: a custom and streamlined workflow for microbiome research. *mSystems*. 2017;2, pii: e00127-16.
- [96] Vincent AT, Derome N, Boyle B, Culley AI, Charette SJ. Next-generation sequencing (NGS) in the microbiological world: how to make the most of your money. *J Microbiol Methods*. 2016, pii:S0167-7012(16)30031-8.
- [97] Ferrer M, Martins dos Santos VA, Ott SJ, Moya A. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut Microbes*. 2014;5:64–70.
- [98] G. Marazza S. Harbarth L. *Borradori Rev Med Suisse* 2007; volume 3. 32213
- [99] ben Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997;10(3):505–20.
- [100] Eiff C von, Becker K, Machka K, et al. Nasal Carriage as a Source of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *N Engl J Med* 2001;344(1):11–16. doi:10.1056/NEJM200101043440102.
- [101] Moran E, Masters S, Berendt AR, et al. Guiding empirical antibiotic therapy in orthopaedics: The microbiology of prosthetic joint infection managed by debridement, irrigation and prosthesis retention. *J Infect* 2007;55(1):1–7. doi:10.1016/j.jinf.2007.01.007.
- [102] Samia GHERNAOUT-BENCHOUK. Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* son rôle dans l'infection du site opératoire. These pour l'obtention du doctorat en sciences médicales. TLEMEN 2013.

- [103] Danbolt, N., 1932. Undersøkelser over stafylokokker. PhD Thesis. Det Norske Vitenskaps-Akademi i Oslo. Ref Type: Generic.
- [104] Référence : MSSA/MRSA - MODALITÉ DU TRAITEMENT DE DÉCOLONISATION D'UN PATIENT PORTEUR DE STAPHYLOCOQUE DORÉ
- [105] [Frontiers in Microbiology August, 2016 doi: 10.3389/fmicb.2016.01230](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01230) [Staphylococcus aureus shifts towards commensalism in response to Corynebacterium species](#)
- [106] Brandt LJ. American Journal of Gastroenterology Lecture: Intestinal microbiota and the role of fecal microbiota transplant (FMT) in treatment of *C. difficile* infection. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(2):177–85. doi: 10.1038/ajg.2012.450. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [107] UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL, RECHERCHE DES EFFETS DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES BACTÉRIES LACTIQUES SUR LE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RÉSISTANT À LA MÉTHICILLINE (SARM), MÉMOIRE PRÉSENTÉ PAR MARI BAZO , Mai 2011
- [108] Benrar. K. Bensnoui. H: PREVALENCE DU PORTAGE NASAL DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN COMMUNAUTAIRE DANS LA REGION DE TLEMCEM. 2016.
- [109] [Mohamed Amine Ouidri](#) ,Screening of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*during admission of patients to Frantz Fanon Hospital, Blida, Algeria en 2018
- [110] AZRARAK S, FILALI J : Détermination du portage nasal de *Staphylococcus aureus* et de sa sensibilité aux antibiotiques en milieu communautaire dans la région de Tizi-Ouz 2017
- [111] Khorvash F, Abdi F, Ataei B, Neisiani H F, Kashani H H, Narimani T: Nasal carriage
- [112] OLSEN K, SANGVIK M, SIMONSEN G. S, SOLLID J. U. E, SUNDSFJORD A, THUNE I, and FURBERG A.-S Prevalence and population structure of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in healthcare workers in a general population. The Tromsø Staph and Skin Study. 2013
- [113] Rafee Y, Abdel-Haq N, Asmar B *et al.* : Increased prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization in household contacts of children with community acquired disease. *BMC Infect Dis* 2012 ; 12 : 45
- [114] Prévalence du portage nasal du Staphylocoque Aureus Méti-R Communautaire chez les enfants en consultation externe du Centre Hospitalier Universitaire Mohamed VI

THÈSE PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 04/07/2018 PAR

Mme. Fatima Zahra AZZOUZI

[115] Veena Shetty, Katherine Trumbull, Amitha Hegde, Vijaya Shenoy, Raghavendra Prabhu, Sumathi K, Elizabeth Palavecino, Av inash K. Shetty Prevalence of Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Nasal Colonization Among Children. Prevalence of Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Nasal Colonization Among Children.

[116] M Bharathi, N Lakshmi, C Siva Kalyani, I Jyothi Padmaja Nasal carriage of multidrug-resistant MSSA and MRSA in children of municipality schools. Indian Journal of Medical Microbiology

[117] Chen CJ, Hsu KH, Lin TY, Hwang KP, Chen PY, Huang YC. Factors Associated with Nasal Colonization of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus among Healthy Children in Taiwan. J Clin Microbiol 2011; 49(1): 131-7.

[118] Rasamiravaka T, Andriatsitohanana TT, Rasamindrakotroka A: Evaluation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal carriage in Malagasy pig and poultry non-industrial farmers. 2017

[119] Fluit A.C: Livestock-associated Staphylococcus aureus. 2012

[120] Wulf MW, Tiemersma E, Kluytmans J, Bogaers D, Leenders AC, Jansen MW, Berkhout J, Ruijters E, Haverkate D, Isken M, Voss AMRSA : carriage in healthcare personnel in contact with farm animals. 2008

[121] M. V. BOOST, M. M. O'DONOGHUE and A. JAMES : Prevalence of Staphylococcus aureus carriage among dogs and their owners 2007

[122] Daniel Eibach, Michael Nagel, Benedikt Hogan, Clinton Azuure, Ralf Krumkamp, Denise Dekker, Mike Gajdiss, Melanie Brunke, Nimako Sarpong, Ellis Owusu-Dabo, Ju`rgen May Nasal Carriage of Staphylococcus aureus among Children in the Ashanti Region of Ghana Herminia de Lencastre 2017

[123] **Djoudi F et al** 18/06/2017 Etude des phénotypes de résistance aux antibiotiques chez les souches de *Staphylococcus aureus* isolées de la sphère ORL Université A. MIRA-Bejaia

[124] Réseau Algérien du Surveillance des Résistances Aux Antibiotiques

[125] European union/ European Environnement Agency

[126] GUSHIKEN et al. Nasal carriage of resistant Staphylococcus aureus in a medical student community. 2016

[127] Service de Bactériologie-Virologie, Faculté de Médecine de Dakar, Sénégal Auteur correspondant : Dr Mouhamadou Lamine Dia, BP 16222 Fann, Dakar, Sénégal, Tél : 00 (221) 77 657 56 34, Email : lamedia2004@yahoo.fr MECANISMES DE LA RESISTANCE AUX B-LACTAMINES DE SOUCHES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLEES AU CHU DE DAKAR (SENEGAL)

[128] Otsuka T et al. Macrolidelincomamide-streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007;**13**:325-327. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2006.01632.x.

[129] Touaitia R et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and/or intermediate susceptibility to vancomycin isolated from private laboratories in Annaba "Algeria".2015

[130] Mme. Fatima Zahra AZZOUZI Prévalence du portage nasal du Staphylocoque Aureus Méti-R Communautaire chez les enfants en consultation externe du Centre Hospitalier Universitaire Mohamed VI en 2018.

Résumé :

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif, pathogène opportuniste de l'homme et de divers mammifères, environ un tiers de la population sont des porteurs de *S. aureus* essentiellement hébergé dans les narines.

La colonisation nasale est un facteur de risque majeur d'infection.

Le point de départ de ce travail était de réaliser un écouvillonnage nasal pour des volontaires étudiants de la faculté de médecine afin d'identifier l'espèce *S. aureus* puis étudier la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques et enfin l'influence de microbiote humain des non porteur sur le portage de *S.aureus*.

108 sujets ont été recrutés, 54,6 % étaient porteurs nasaux de *S. aureus*, avec une fréquence de 90 % des SARM ce taux élevé peut être justifié par l'intervalle d'âge étroit et la quasi-totalité des étudiants en sciences médicales qui constituent l'essentiel de notre échantillon.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*/ le portage nasal/ SARM/ Sensibilité aux ATB/ le milieu communautaire / personnes saines/microbiote / résistance.

Abstract

Staphylococcus aureus is a Gram-positive bacterium, opportunistic pathogen of humans and various mammals. About one third of the population are carriers of *S.aureus* mostly housed in the nostrils. Nasal colonization is a major risk factor for infection.

The starting point of this work was to perform a nasal swab for student medical school volunteers to identify the species *S. aureus*, then study the sensitivity of isolated strains to antibiotics, and finally the influence of human microbiota of non-carriers on the carriage of *S.aureus*.

108 subjects were recruited, 54,6% were nasal carriers of *S. aureus*, with a frequency of 90% of MRSA, and this high rate can be justified by the narrow age range, almost all the medical sciences students who constitute the essential part of our sample.

Keywords: *Staphylococcus aureus* /the nasal port/ ATB Sensitivity/ The community/ Healthy people / Microbiota / Resistance.