

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**



**Faculté d'Agronomie et des Sciences Biologiques**

***Mémoire :***

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

**Prévalence et antibiorésistance de souches de *Staphylococcus aureus* d'origine hospitalière au CHU « NedirMohamed » Tizi Ouzou.**

**Présenté par :**

**CHEBALLAH Nora**

**MOKDEL Imene**

**ZEMIRLI Yamina**

**Soutenu le 29/09/2022 devant le jury :**

- Président : Melle MEGUENNI N. MCA à l'UMMTO**
- Examinatrice : Mme HELLAL Z .MAA à l'UMMTO**
- Promoteur : Mr TITOUCHE Y. MCA à l'UMMTO**
- Co-promoteur : Dr. CHERIFI L . Médecin biologiste au CHU « Nedir Mohamed »**

**Année universitaire 2021 – 2022**

# *Remerciements*

*Nous tenons à remercier Dieu, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour réaliser et mener à terme notre travail.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr TITOUCHE Y. Nous le remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Enfin, nous remercions toutes personnes tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

## **Dédicaces**

*Je dédie avec grand plaisir ce modeste travail à :*

### **Ma chère maman**

*Une femme aussi adorable que toi j'en connais pas, quoi je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

### **Mon cher papa**

*Qui m'a toujours soutenu et motivé dans mes études. Qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis.*

*C'est à vous que je dois cette réussite et je suis fière de vous l'offrir.*

### **A mon frère Mouloud**

*Ma plus grande source de bonheur, j'espère que la vie lui réserve le meilleur.*

### **A mes tantes Djima, Lila, Ghania et Secoura**

*Qui m'ont encouragé et soutenu depuis mon enfance.*

### **A mes grands parents**

*Ce travail est le résultat de vos prières incessantes.*

### **A mon trinôme Nora et Yamina**

*Pour leurs patiences et encouragements tout en long de ce travail.*

*A toute personne qui m'a soutenu et encourager durant cette période.*

**Imene**

*Dédicace*

*En ce moment particulier dans ma vie, grâce à la volonté de dieu et avec beaucoup de courage  
et patience*

*Je tiens à dédier ce modeste travail :*

*A la plus chère et merveilleuse des mamans, le symbole de la tendresse, de l'amour, du  
courage, de la responsabilité et de soutien tout au long de mes études. En témoignage de ses  
prières, sa bénédiction, sa patience et ses sacrifices. Que Dieux te garde, te comble de santé, et  
te donne longue vie.*

*A mon cher papa, pour son éducation qu'il m'a prodigué et l'encouragement durant toutes  
ses années, l'attention qu'il m'a tant préservé, je suis très reconnaissante, que dieu te garde  
toujours en bonne santé.*

*A ma très chère sœur **Imane** et mon cher frère unique **Mouhamed Amine**, je vous remercie  
énormément pour votre amour et votre soutien moral pour moi tout le temps. Je vous souhaite  
une vie pleine de bonheur et de succès. Que Dieu, vous protège et vous garde.*

*A mes très chères tantes et oncles, aux quelles j'exprime mes plus profonds sentiments d'amour.*

*A mes très chers trinômes **Imene et Yamina**, je les remercie pour le courage qu'ils m'ont  
donnés et tous les moments qu'on a passé ensemble.*

**Nora**

*Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à toute personne qui a contribué à sa réalisation de près ou de loin et je tiens à les remercier de tout mon cœur.*

*Yamina*

## Résumé

La présence de *Staphylococcus aureus* en milieu hospitalier et communautaire constitue un problème majeur de santé publique, en raison de la multirésistance des souches circulantes dans ces enceintes et de l'impasse thérapeutique associée.

La présente étude a pour objectifs, d'étudier la prévalence de *S. aureus* au sein des différents services du centre hospitalo-universitaire de Tizi Ouzou (CHU, Nedir Mohamed) et la résistance des souches isolées vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques.

Pour cela, 2798 prélèvements cliniques ont été collectés et soumis à la recherche de ce germe. L'isolement et l'identification biochimique des isolats a été effectuée par des méthodes conventionnelles. La résistance des isolats aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur la gélose Mueller-Hinton.

Au total, 43 prélèvements étaient positifs, soit une fréquence de 1.53%. Les prélèvements positifs étaient principalement de type pus et hémoculture. 43 souches de *S. aureus* ont été isolées. L'étude de la sensibilité de ces souches a montré de fortes résistances vis-à-vis de la pénicilline G et de l'oxacilline. De faibles résistances ont été enregistrées à l'encontre de la lévofloxacine (18,60%), la clindamycine (4,65%), la rifampicine (4,65%) et de chloramphénicol (2,32%), doxycycline (2,32%). Toutes les souches isolées étaient sensibles vis-à-vis de la gentamicine.

La présence de souches résistantes aux antibiotiques au sein des structures hospitalières complique la prise en charge des patients et rend difficile le choix du traitement de première intention. Pour cela, l'application de règles d'hygiène et l'utilisation rationnelle des antibiotiques s'avèrent nécessaires.

**Mots clés :** *S. aureus*, résistance aux antibiotiques, structures hospitalières, prélèvements cliniques

## Summary

The presence of *Staphylococcus aureus* in hospital and community constitutes a major public health problem, due to the multi-resistance of the strains circulating in these enclosures and the associated therapeutic impasse.

The main objectives of this study are to study the prevalence of *S. aureus* within the various departments of the university hospital center of Tizi Ouzou (Nedir Mohamed) and the resistance of the isolated strains to a few molecules of antibiotics.

For this, 2798 clinical samples were collected and tested for the presence of this germ. Isolation and biochemical identification of isolates was performed by conventional methods. The resistance of the isolates to antibiotics was carried out by the diffusion method on Mueller-Hinton agar.

A total of 43 samples were positive, with a frequency of 1.53%. The positive samples were mainly of the pus and blood culture type. 43 strains of *S. aureus* were isolated. The study of the sensitivity of these strains showed a higher resistance to penicillin G and oxacillin. Low resistance was recorded against levofloxacin (18.60%), clindamycin (4.65%), rifampicin (4.65%) and chloramphenicol (2.32%), doxacycline (2,32%). All strains isolated were sensitive to gentamicin.

The presence of antibiotic-resistant strains in hospital structures complicates patient care and makes the choice of first-line treatment difficult. For this, the application of hygiene rules and the rational use of antibiotics are necessary.

**Keywords :** *S. aureus*, resistance to antibiotics, hospital structures, clinical samples

## Liste des abréviations

**Ag:** Aminoglycosides.

**AME :** Enzyme de modification des aminoglycosides

**ATB :** Antibiotique

**.CLSI :** Clinical and Laboratory Standards Institute

**CMI:** Concentration Minimale Inhibitrice.

**cMLSB:** Résistance constitutive aux Macrolides, Lincosamides et Streptogramine.

**D-ala :** D-alanine.

**D-lac :** D-lactate.

**EFG :** Facteur d'allongement G

**EPA :** Extracellular Adhesion Protein

**erm :** l'érythromycine ribosome méthylase

**FAME :** Fatty Acid Modifying Enzym

**IMLSB:** inducible resistance to Macrolides, Lincosamides and Streptogramin (B).

**K:** Kanamycine.

**Kb:** kilobase.

**KDa:** Kilo Dalton.

**MLS(B) :** Macrolides, Lincosamides et Streptogramines(B).

**MSCRAMM :** Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules

**PLP :** Protéines Liants la Pénicilline.

**PLP2a :** Protéine Liant la Pénicilline additionnelle.

**PVL :** Panton-Valentine leucocidine.

**QRDR :** Région déterminant la résistance aux quinolones.

**RPP :** Protéines de protection des ribosomes

**SARM :** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

**SASM :** *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline.

**SCCmec :** Staphylococcique Casette Chromosome mec.

**SE :** Staphylococcal Enterotoxin.

**VISA :** Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus*.

**VRE :** Entérocoques résistants à la vancomycine.

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Mécanisme d'action de l'alpha toxine .....	14
<b>Figure 2</b> : Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> et leur cinétique de production au cours du développement de l'infection .....	18
<b>Figure 3</b> : Mode d'action des antibiotiques avec dihydroptéroate, dihydrofolate, tétrahydrofolate .....	25
<b>Figure 4</b> : Structure du noyau bêta-Lactame .....	26
<b>Figure 5</b> : Mécanisme de résistance de <i>S. aureus</i> à la vancomycine .....	28
<b>Figure 6</b> : Mécanisme de résistance à la kanamycine (aminoside).....	30
<b>Figure 7</b> : Différents compartiments du service du laboratoire de microbiologie (CHU de Tizi Ouzou .....	33
<b>Figure 8</b> : Galerie API 20 Staph .....	36
<b>Figure 9</b> : récapitulatif de la recherche de <i>S. aureus</i> .....	39
<b>Figure 10</b> : Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur la gélose Chapman.....	40

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Caractéristiques des entérotoxines staphylococciques .....	16
<b>Tableau II</b> : Matériels, milieux de culture et réactifs utilisés.....	34
<b>Tableau III</b> : Liste des antibiotiques testés pour <i>Staphylococcus</i> .....	38
<b>Tableau IV</b> : Répartition des prélèvements selon leur nature .....	41
<b>Tableau V</b> : Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon le service.....	42
<b>Tableau VI</b> : Résistance des souches de <i>S. aureus</i> (n=43) vis-à-vis les antibiotiques testés ....	43
<b>Tableau VII</b> : Phénotypes des souches de <i>S.aureus</i> multi résistantes.....	43

## Sommaire

Introduction .....	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre 1 : Généralités sur le <i>Staphylococcus aureus</i> .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Introduction .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Historique .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Taxonomie .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Identification de l'espèce au sein du genre .....</b>	<b>4</b>
<b>1.5. Caractéristiques .....</b>	<b>5</b>
<b>1.5.1. Habitat .....</b>	<b>5</b>
<b>1.5.2. Morphologie.....</b>	<b>6</b>
<b>1.5.3. Caractéristiques culturelles.....</b>	<b>6</b>
<b>1.5.4. Caractères biochimiques.....</b>	<b>6</b>
<b>1.6. Infections nosocomiales à <i>Staphylococcus aureus</i>.....</b>	<b>7</b>
<b>1.6.1. Introduction.....</b>	<b>7</b>
<b>1.6.2. Définition de l'infection nosocomiale .....</b>	<b>7</b>
<b>1.6.3. Principales infections nosocomiales et leurs modes de transmission .....</b>	<b>7</b>
<b>Chapitre 2 : Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. Composants de la paroi.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.1. Peptidoglycane.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.2. Acides téichoïques .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.3. Capsule.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2. Protéines de surface .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.1. Protéine A .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.2. MSCRAMMs.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.3. SERAM .....</b>	<b>11</b>
<b>2.3. Substances élaborées par <i>S. aureus</i>.....</b>	<b>11</b>
<b>2.3.1. Enzymes .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4. Toxines .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.1. L'alpha-toxine .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.2. Bêta hémolysine.....</b>	<b>14</b>
<b>2.4.3. Gamma-toxine ou gamma hémolysine (<math>\gamma</math>).....</b>	<b>14</b>
<b>2.4.4. Delta-hémolysine .....</b>	<b>15</b>

2.4.6. Toxines exfoliatives (TE) .....	17
2.4.7. Entérotoxines Staphylococciques (ESs) .....	17
2.4.8. Toxine du syndrome de choc toxique (TSST) .....	18
2.5. La pathogénie de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
2.5.1. Infections suppuratives.....	18
2.5.2. Infections associées aux toxines (infections toxémiques) .....	19
2.6. Traitement et prophylaxie .....	20
2.6.1. Traitement .....	20
2.6.2. Prophylaxie.....	21
Chapitre 3: Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques .....	22
3.1. Historique .....	22
3.2 Définition .....	22
3.3. Classification .....	22
3.3.1. Classification selon l'origine .....	22
3.3.2. Classification des antibiotiques en fonction de leur spectre d'activité.....	23
3.3.3. Classification en familles d'antibiotiques .....	23
3.3.4. Classification selon le mode d'action.....	23
3.4. Famille et mode d'action des antibiotiques .....	23
✓ Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne.....	23
✓ Antibiotiques inhibiteurs de la membrane des cellules bactériennes.....	24
✓ Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines.....	24
✓ Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques .....	24
✓ Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique .....	24
3.5. Mode d'action des antibiotiques et mécanismes de résistance chez <i>S. aureus</i> .....	25
3.5.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines.....	25
3.5.2. Résistance aux glycopeptides .....	27
3.5.3. Résistance aux MLS (B) .....	28
3.5.4. Résistance aux quinolones .....	29
3.5.5. Résistance aux aminosides.....	29
3.5.6. Résistance aux fusidanines .....	30
3.5.7. Résistance aux tétracyclines.....	30
1. Matériels et méthodes .....	32
1.1. Lieu de l'étude .....	32

1.2. Objectifs .....	32
1.3. Présentation du laboratoire .....	32
Matériels et méthode .....	33
1.4. Matériels.....	33
1.5. Nature des prélèvements.....	34
1.6. Méthodes pratiques .....	34
1.6. 1. Isolement et purification des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
1.6. 2. Identification biochimique des isolats.....	35
Test de la catalase.....	35 □
Test de la coagulase.....	36 □
□ Api 20 Staph .....	36
1.7. Résistance des souches isolées aux antibiotiques.....	37
2. Résultats et discussion.....	40
2. 1. Prévalence de <i>S. aureus</i> .....	40
2.2. Répartitions des souches selon la provenance des prélèvements.....	41
2.3. Antibiorésistance des souches de <i>S. aureus</i> isolées .....	42
2. 4. Discussion .....	43
Conclusion.....	46
Références bibliographiques	
Annexes	

### Introduction

La microbiologie englobe l'ensemble des disciplines biologiques qui concernent les microorganismes, notamment la bactériologie, la virologie et la parasitologie. La microbiologie, qui s'est développée avec la microscopie, étudie non seulement la morphologie des microorganismes, mais également leur mode de vie, leur métabolisme, leur structure moléculaire, leurs éventuelles propriétés pathogènes, leurs caractéristiques antigéniques, ainsi que leur interaction avec l'être humain, la physiopathologie des infections bactérienne et leur antibiothérapie.

Les staphylocoques, membres de notre écosystème cutané, ensemble avec les streptocoques et les pneumocoques qui font parties d'un groupe pathogène à Gram positif opportunistes et envahissants, responsable d'une variété d'infections humaines (Lowy, 1998).

*Staphylococcus aureus*, est à la fois un commensal de l'homme et une cause fréquente d'infections cliniques importantes. Il est associé à de nombreuses maladies, allant de problèmes cutanés moins graves à des infections très sérieuses comme la bactériémie ou la pneumonie (Marcela et al., 2017). La virulence de ce germe dépend de plusieurs composants extracellulaires, incluant les protéines de surface, la capsule, les enzymes et les différentes toxines (De Boer et al., 2009).

Les infections staphylococciques sont observées dans de multiples situations cliniques, aussi bien en pathologie communautaire qu'en pathologie nosocomiale. Globalement, le staphylocoque est le germe le plus souvent incriminé dans les infections nosocomiales (15.7%) (Brun-Buisson et Brucker, 2013).

Au cours de ces cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses infections et leur développement a révolutionné le traitement de ces maladies. L'utilisation abusive et non modérée de ces agents antimicrobiens a mené vers l'émergence de souches multi-résistantes (Hosein et al., 2014; Rad et al., 2015). Les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter. Cette situation apparait particulièrement préoccupante en milieu hospitalier. Dans les années quarante, la pénicilline était l'antibiotique de choix pour traiter les infections à *S. aureus*. Cependant cette sensibilité a été de courte durée suite à l'apparition de souches résistantes productrices de  $\beta$ -lactamases. De nouvelles molécules furent alors commercialisées telles que la méticilline (pénicilline semi-synthétique). Deux ans

après l'introduction de cet anti-staphylococcique puissant, des souches résistantes à la méticilline (SARM) ont été rapportées (Jevons, 1961 ; Lakhundi et Zhang, 2018).

Aujourd'hui, le SARM est distribué à travers le monde entier et constitue une préoccupation majeure en santé humaine, en raison de sa capacité à acquérir de nouveaux mécanismes de résistance aux antibiotiques, limitant les options de traitement (Doulgeraki et al., 2016). Au début, le SARM est retrouvé dans les environnements cliniques et connu sous le terme de SARM-hospitalier (HA-MRSA), mais au cours de ces dernières années, le SARM a été observé en communauté, d'où l'appellation du SARM communautaire (CA-MRSA) (da Silva et al., 2020). Les infections communautaires peuvent être aussi être causées par un troisième type de SARM

Ainsi, les objectifs de cette étude sont :

- L'isolement et l'identification biochimique des souches de *Staphylococcus aureus* à partir de prélèvements cliniques issus de différents services hospitaliers du CHU de Tizi Ouzou ;
- L'évaluation de la résistance des souches isolées vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques.

---

---

# **Synthèse bibliographique**

---

---

### Chapitre 1 : Généralités sur le *Staphylococcus aureus*

#### 1.1. Introduction

*Staphylococcus aureus* est une bactérie responsable d'infections parfois mortelles, qui accompagne l'homme au quotidien. Ce caractère constant, par un effet cumulatif fait de *S. aureus* l'une des bactéries ayant causée plus de pertes humaines dans l'histoire de l'humanité. Sa présence permanente est liée au fait que *S. aureus* est un habitant, presque commensal, de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud. Il est donc aux premières loges pour provoquer des maladies allant de simples infections (furuncle) aux infections graves (endocardite, septicémie, ...). Ce large panel d'infections est lié à l'éventail riche et sophistiqué de facteurs de virulence portés par *S. aureus*.

#### 1.2. Historique

Le *Staphylococcus* fut démasqué à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, l'observation au microscope faisant apparaître des « amas de grains » dans le pus de furoncles. D'abord observé par Robert Koch en 1878, il fut reconnu par Louis Pasteur deux ans plus tard. En 1881, Alexander Ogston isola la bactérie à partir d'abcès post-opératoires et reproduisit l'infection chez l'animal. Ces amas furent à l'origine du nom qu'il lui donna, Staphyle désignant la grappe de raisin en grec. Ce fut en 1884, qu'Anton Rosenbach cultiva le Staphylocoque *in vitro* et en décrivit, la première espèce connue : *Staphylococcus* ou staphylocoque doré, ainsi nommé en raison de la couleur de la colonie obtenue en culture.

Les premiers travaux et les recommandations de Semmelweis, puis Lister et Pasteur en matière d'hygiène (lavage des mains, autoclavage des instruments de chirurgie, ...) permirent d'améliorer considérablement le sort des patients opérés ou des femmes parturientes. Au début du XX<sup>e</sup> siècle (1928), la découverte de la pénicilline et de ses propriétés bactéricides par Alexander Fleming ouvrit de nouvelles perspectives pour le traitement des maladies infectieuses. En 1941, un patient atteint de septicémie à Staphylocoque fut traité avec succès par la pénicilline. Par la suite, l'ère des antibiotiques allait littéralement révolutionner le traitement et le pronostic des infections. L'espoir d'avoir trouvé la panacée fut toute fois de courte durée. C'est au Canada, dès 1953, que fut isolée la première souche de *S. aureus* résistante à la pénicilline.

Dans les années 1960, la découverte de la méticilline relançant l'espoir. Cependant, là encore, l'émergence de souches de *S. aureus* résistantes ne se fait pas attendre. Elle fut décrite dès 1961 au

Royaume Uni. A partir des années 1970, ces souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) devinrent l'une des premières causes d'infections nosocomiales et connurent un « succès » mondial.

A l'orée du XXI<sup>e</sup> siècle, les nouveaux « SARM » sont actuellement responsables aux Etats Unis d'une épidémie d'infections bactériennes communautaires d'une importance inégalée jusqu'alors.

### 1.3. Taxonomie

Du point de vue taxonomique, le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des firmicutes (bactéries à Gram positif), à la classe des Bacilli et à l'ordre des Bacillales. Outre, les *Staphylococcus* sp, la famille bactérienne des *Staphylococcaceae* comprend quatre autres genres moins connus, *Gemella*, *Jeotgaticoccus*, *Macroccoccus* et *Salinicoccus*. Les espèces phylogénétiquement proche les plus connues sont les membres du genre *Bacillus* dans la famille des *Bacillaceae*, qui sont au même niveau que la famille des *Staphylococcaceae*. Les *Listeriaceae* composent aussi une famille proche.

Jusqu'aux années 1990, le genre *Staphylococcus* était classé au sein du groupe des *Micrococcaceae* avec notamment les genres *Micrococcus* et *Stomatococcus* (Le Loir et Gautier, 2010).

Les membres du genre *Staphylococcus* diffèrent cependant de ceux du genre *Micrococcus* entre autres par leur métabolisme anaérobie facultative, par leur paroi contenant un peptidoglycane et des acides teichoïques et par la présence de peptide oligoglycine dans les ponts peptidiques de la paroi, les études génétiques ont permis de reclasser *Micrococcus* au sein du groupe des actinomycètes (Le Loir et Gautier, 2010).

### 1.4. Identification de l'espèce au sein du genre

Parmi les nombreuses espèces et sous espèces de Staphylocoques, seules dix-huit espèces ont été trouvées chez l'homme dont certaines sont associées à des infections. La majorité n'est retrouvée que chez l'animal. Les espèces sont généralement classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre : les Staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme pathogènes et les Staphylocoques à coagulase négative (SCN), réputés moins dangereux (Le Minor, 1984).

### 1.5. Caractéristiques

#### 1.5.1. Habitat

Il appartient à la flore commensale normale des animaux à sang chaud, principalement les mammifères (terrestre et marins), mais aussi les oiseaux.

Les microcoques sont trouvés dans le sol, les poussières, les eaux, ainsi que sur la peau et les muqueuses des animaux et de l'homme, dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) (*Le Minor, 1984*). Les staphylocoques ont un habitat similaire et sont des hôtes habituels ou fréquents de la peau, des muqueuses des animaux et de l'homme (*Le Minor, 1984*).

A la différence des autres espèces de staphylocoques qui ont un hôte préférentiel, *S. aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères. Il colonise la surface et les glandes de la peau, ainsi que les muqueuses de ses hôtes. Chez l'homme, il est principalement présent au niveau du tractus respiratoire supérieur, en particulier les fosses nasales (*Kloos et al., 1976*), mais aussi au niveau du cuir chevelu et des mains (*Harvey et Gilmour, 2000 ; Watson et al., 2006*). Dans la bouche, il coloniserait préférentiellement la surface des dents (*Smith et al. 2001*). Chez les vaches, il se retrouve-principalement au niveau du mufle et de la peau des trayons (*Roberson et al., 1994*).

Parmi les animaux, la prévalence de *S. aureus* est plus élevée chez les animaux d'élevage, comme les poulets (50%) (*Kawano et al., 1996*), les porcs (42%) (*Nagase et al., 2001*), les brebis (29%) (*Vautor et al., 2005*), les vaches (de 14 à 23%) (*Roberson 1994, Nagasse et al., 2001*) que chez les animaux sauvages.

*S. aureus* est l'un des principaux micro-organismes responsables d'infections nosocomiales, en particulier celles consécutives à l'implantation de prothèses. La contamination est principalement d'origine humaine et les voies de transmission identifiées sont liées au contact entre individus, aux aérosols, et au contact avec les surfaces contaminées. Des souches de *S. aureus* commensales de la peau ou des fosses nasales ou associées à une infection de voies respiratoires et excrétées par la toux ou les éternuements par le personnel hospitalier ou les patients peuvent contaminer l'air et le matériel chirurgical (*Le Loir et Gautier, 2010*). La survie de souches cliniques de *S. aureus* à la dessiccation peut varier de trois à six mois en fonction des souches et des conditions environnementales (*Farrington et al., 1992*).

### 1.5.2. Morphologie

Dans le pus, *S. aureus* se présente sous l'aspect de cocci, en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes (3 à 5 éléments), mesurant de 0,8 à 1 µm. Sur les cultures en milieu solide, il se dispose en « grappe de raisin », alors qu'en milieu liquide il est aussi isolé, en diplocoque. Il est immobile non sporulé (*Le Minor, 1984*).

### 1.5.3. Caractéristiques culturelles

Ces bactéries sont aéro-anaérobies, à métabolisme respiratoire et fermentaire, se cultive facilement en 24 heures sur milieu ordinaire. *S. aureus* peut être aussi isolé sur des milieux sélectifs (par exemple en bouillon hyper salé à 7% de NaCl ou sur la gélose Chapman), utilisés pour des prélèvements polymicrobiens. Les colonies sont convexes, lisses (smooth), de 1 à 4 mm de diamètre. De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré ou citrin, non diffusible (caroténoïde), et sont hémolytiques sur la gélose au sang (*Le Minor, 1984*).

Toutes les espèces du genre staphylocoques sont catalases positives, sont capables de fermenter le mannitol, et de produire des enzymes extracellulaires (Staphylocoagulase, DNase) (*Berche et al., 1991*).

### 1.5.4. Caractères biochimiques

Les principaux caractères biochimiques pris en compte sont la production de catalase, la capacité à métaboliser les sucres et la production d'arginine dihydrolase (ADH) (*Le Minor, 1984*). La coagulase (produit du gène *coa*) est une protéine extracellulaire qui se lie à la prothrombine de l'hôte. La thrombine ainsi activée transforme le fibrinogène en fibrine. C'est la base du test de coagulase en tube (*Brun et al., 2003*).

L'ADNase thermostable (produit du gène *nuc*) est aussi appelée thermonucléase. C'est une endonucléase résistante aux températures élevées (15 minutes à 100°C) (*Brun et al., 2003*).

### 1.6. Infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus*

#### 1.6.1. Introduction

*Staphylococcus aureus* fait partie de la flore cutanée et muqueuse humaine et animale, mais il est également un germe environnemental (eau, sol, aliments) (Berche et al., 1991).

*Staphylococcus aureus* est responsable d'infections variées, suppuratives ou liées à la production de toxines. Les infections cutanées sont des folliculites, furoncles, panaris, impétigo. En revanche, les infections des muqueuses comprennent otites, conjonctivites, endométrites, salpingites, pneumonies et pleurésies qui sont fréquentes. Ces différentes infections sont toutes susceptibles de se compliquer en septicémie pouvant évoluer de façon rapide et aboutir à des localisations variées (cœur, os, articulations, tissus cérébral, ...). Une des caractéristiques des infections à *S. aureus* est la difficulté de leur traitement en raison de la multi-résistance fréquente de cette bactérie aux antibiotiques, une résistance qui concerne même les glycopeptides (Berche et al., 1991). Les infections à *S. aureus* sont malheureusement, fréquemment nosocomiales (Jehl et Prévost, 1991).

#### 1.6.2. Définition de l'infection nosocomiale

C'est une infection contractée à l'hôpital et se manifeste dans un délai supérieur à 48 heures après l'admission, à condition qu'aucune infection antérieure du même site n'ait été présente ou en incubation à l'admission (Joly-Guillou et Régnier, 2005).

Pour les infections d'une plaie opératoire, on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les trente jours suivant l'intervention, ou, en cas de mise en place d'une prothèse ou d'un implant dans l'année qui suit l'intervention (comité technique des infections nosocomiales, 1999).

#### 1.6.3. Principales infections nosocomiales et leurs modes de transmission

Elles comprennent :

- L'infection urinaire (44%) ;
- L'infection du site opératoire (ISO) (45%) ;
- La bactériémie ;
- L'infection sur cathéter ;
- La pneumopathie infectieuse (10-30%) ;
- L'infection cutanée (11%).

Selon Berche et al (1991), Les infections nosocomiales peuvent être transmises par plusieurs modes :

- ✓ L'auto-infection : Le malade s'infecte avec ses propres germes. Les portes d'entrée sont les lésions des muqueuses ou cutanées ;
- ✓ L'hétéro-infection : Lorsque la bactérie responsable provient directement ou indirectement d'un autre malade. Souvent liée au manu portage ;
- ✓ La xéno-infection : Evoquée lorsque le pathogène responsable provient de personnes extérieures présentant elles-mêmes une pathologie infectieuse ;
- ✓ Les exo-infections : Proviennent soit d'un dysfonctionnement technique de matériel soit d'une erreur commise dans l'exécution des procédures de traitement du matériel médico-chirurgical.

### **Chapitre 2 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus***

La virulence des *Staphylococcus aureus* impliqués dans les infections humaines et animales est liée à la production de plusieurs facteurs. Ces derniers sont associés soit à la paroi bactérienne (protéine A, coagulase, facteurs d'affinité pour le fibrinogène...) et qui sont exprimés précocement pendant la phase exponentielle de la croissance bactérienne, soit secrétés dans l'environnement extracellulaire, tels que les toxines et les enzymes, qui sont synthétisées en phase post-exponentielle (*Dufour et al., 2000*).

#### **2.1. Composants de la paroi**

##### **2.1.1. Peptidoglycane**

Le peptidoglycane de *Staphylococcus aureus* est généralement d'une épaisseur de 20 à 30 nm, qui sert de barrière protectrice ainsi que d'échafaudage pour la fixation des protéines de surface et des matrices extracellulaires, qui sont nécessaires à la morphogénèse cellulaire et à la pathogénèse.

Le peptidoglycane est assemblé à partir d'une unité de répétition composée de disaccharide, de tige et de pont. Le disaccharide, est fait de l'alternance de N-acétylglucosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM). Chez *Staphylococcus aureus*, la tige est un pentapeptide, l-alanine-d'isoglutamine-I-lysine-d'alanine et le pont est formé d'un segment pentaglycyle. Le peptidoglycane est insoluble et hétérogène, ce qui le rend incompatible avec les méthodes structurales conventionnelles, telles que la cristallographie aux rayons X (*Soc, 2009*). Chez *S. aureus*, la production de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infection locale provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et la libération de cytokines (IL-1, 6,8, et TNF $\alpha$ ) en grande quantité, ce qui induit des lésions tissulaires (*Garrity et al., 2007*).

##### **2.1.2. Acides téichoïques**

Les acides téichoïques (TA) sont des glycopolymères découverts chez les bactéries à Gram positif, qui représentent environ la moitié du poids total sec de la paroi (*Neuhaus et Baddiley, 2003*). Ils possèdent des fonctions cruciales en contrôlant la rigidité et la porosité de la paroi et en jouant un rôle dans la morphogénèse et la division cellulaire (*Neuhaus et Baddiley, 2003*).

; Weidenmaier et Peschel, 2008 ; Brown et al., 2013 ; Percy et Gründling, 2014 ; Chapot-Chartier et Kulakauskas, 2014 ; Rajagopal et Walker, 2015).

L'acide teïchoïque de *S. aureus* peut être défini comme le ribitol phosphate substitué par  $\alpha$ - ou  $\beta$ -ON-acétyle-D-glucosamine (GlcNAc) et D-alanine. Ce polymère dont les molécules (40 à 50) sont constituées d'unités répétitives de ribitol-phosphate permet à *S. aureus* d'adhérer de manière spécifique aux membranes des muqueuses et donc à la muqueuse nasale. L'acide teïchoïque est responsable de la résistance aux lysosomes et aux peptides antimicrobiens, ainsi que de l'évasion de la réponse immunitaire de l'hôte (Biljana et al., 2015).

### 2.1.3. Capsule

La plupart des souches de *S. aureus* produisent une capsule polysaccharidique qui contribue considérablement à provoquer une maladie invasive (Marvin et al., 2019). La production d'enzymes nécessaires à la synthèse des polysaccharides de la capsule est dépendante des conditions du milieu. La production de la capsule est maximale en phase post-exponentielle (Vieu, 2014).

## 2.2. Protéines de surface

### 2.2.1. Protéine A

La protéine A est une protéine de surface de 40 à 60 kDa initialement trouvée dans la paroi des *S. aureus*. Elle est codée par le gène *spa*. Elle est ancrée dans la paroi et relâchée durant la croissance sous forme libre. Elle lie les domaines Fc des immunoglobulines (Ig) humains et des souris, ainsi que les domaines Fab VH3 des IgG et IgM. La protéine A peut se lier au facteur Willebrand (yWf), qui est une glycoprotéine multimérique présente au niveau du sous-endothélium. Cette fixation permet à *S. aureus* d'adhérer partout où il y a une brèche de l'endothélium. La protéine A est donc un facteur primordial à l'établissement des infections endovasculaires (Nigoud et al., 2017).

### 2.2.2. MSCRAMMs

Les composants de surface microbiens reconnaissant les molécules de matrice adhésive (MSCRAMM) sont une famille de protéines qui sont définies par la présence de deux sous-

domaines repliés adjacents de type IgG. Ceux-ci favorisent la liaison aux ligands par des mécanismes qui impliquent des modifications conformationnelles majeures illustrées par la liaison au fibrinogène par le mécanisme « dock-lock-latch » ou au collagène par le mécanisme « collagen hug ». Ces deux MSCRAMMs jouent un rôle dans la pathogénèse, car ils permettent l'adhésion des *S. aureus* aux cellules de l'hôte, mais également sur les surfaces abiotiques (Foster, 2019).

### 2.2.3. SERAM

C'est une protéine d'adhérence (EPA), qui regroupe les Eap (extracellular adherence protein), Efb (Extracellular fibrinogen binding protein), Emp (Extracellular matrix binding protein). Chez les souches de *S. aureus*, les SERAMs jouent un rôle primordial dans la pathogénèse. Ces molécules semblent utiliser leurs propriétés adhésives pour ancrer la cellule bactérienne à une surface cible, mais aussi pour interférer avec les mécanismes de défense de l'hôte tels que la coagulation (Chavakis et al, 2005).

## 2.3. Substances élaborées par *S. aureus*

Les *S. aureus* ont le pouvoir de produire des substances qui sont excrétées dans le milieu extracellulaire. Elles sont douées soit d'une activité toxique, soit d'une activité enzymatique, mais la distinction entre ces deux formes d'activité biologique est souvent difficile (Le Minor et Véron, 1990).

### 2.3.1. Enzymes

#### 2.3.1.1. Coagulase

##### ➤ Coagulase libre, ou Staphylocoagulase

Cette enzyme est considérée comme un marqueur d'identification de *S. aureus*. C'est une protéine diffusible thermostable, qui s'exprime pendant la phase exponentielle de la croissance bactérienne. En se lie à une coaguline semblable à la prothrombine dans le plasma et forme un composé nommé staphylothrombine, qui convertit le fibrinogène en fibrine. Cette réaction engendre une coagulation locale du plasma autour des cocci, ce qu'il les protège de la phagocytose (Accarias, 2014).

### ➤ Coagulase liée

C'est un facteur ayant une grande affinité pour le fibrinogène, il est responsable de l'accumulation des bactéries au contact des thrombines (*Caby et al., 2010*).

#### 2.3.1.2. Staphylokinase ou Fibrinolysine

La staphylokinase est un activateur de plasminogène. Son rôle est la réduction de la fonction du réseau de fibrine, tout en dégradant les caillots de fibrine par l'activité protéolytique de type plasmine. Cette enzyme contribue à la propagation de la bactérie (*Podbielska et al., 2011 ; Otto, 2014*).

#### 2.3.1.3. Catalase

La catalase est l'enzyme qui transforme le peroxyde d'hydrogène (agent oxydant et nocif) en eau et en oxygène moléculaire, donc son rôle principal est d'empêcher l'accumulation des niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (*Robert, 2013*). La catalase est utile pour différencier les staphylocoques des streptocoques (*Brooks et al., 2004*).

#### 2.3.1.4. Nucléase

La nucléase trouvée chez les staphylocoques est résistante à l'inactivation thermique d'où l'appellation thermonuclease. Cette dernière fonctionne autant qu'une endo et exonucléase, qui dégrade les substrats d'ADN et d'ARN par le clivage de la liaison ester 5' phosphorylé. La présence des ions de  $Ca^{2+}$  est nécessaire pour son activité (*Tam et Torres, 2019*).

#### 2.3.1.5. Lipase (Fatty Acid Modifying Enzym)

Enzyme exprimée chez 80 % des souches de *Staphylococcus aureus*. C'est une substance thermolabile, antigénique. Elle modifie les lipides antibactériens de l'hôte. Cette enzyme favorise la pénétration de la bactérie à travers la barrière cutanéomuqueuse (*Long et al., 2010*).

### **2.3.1.6. Hyaluronidase**

C'est une protéine thermolabile, produite par 95% des staphylocoques à coagulase positive. Cette enzyme digère l'acide hyaluronique, ce qui favorise la diffusion des staphylocoques dans le tissu conjonctif (*Palma, 1999*).

### **2.3.1.7. Lysozyme**

*S. aureus* produit un lysozyme capable de lyser la paroi de la cellule bactérienne (*Leminor et Veron, 1982*).

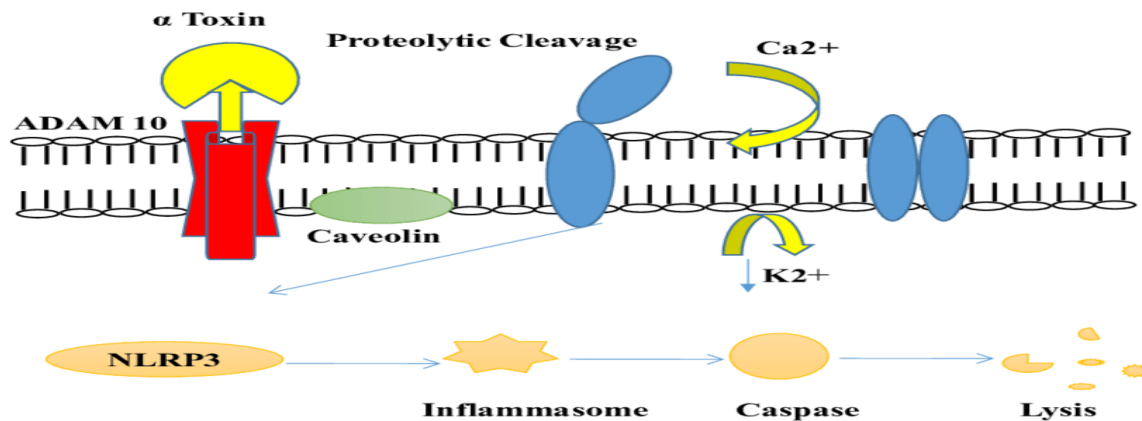
### **2.3.1.8. Protéases**

Elles hydrolysent certaines protéines et elles contribuent aussi à la formation de micro emboles bactériens responsable de métastases septique (*Aouati, 2009*).

## **2.4. Toxines**

### **2.4.1. L'alpha-toxine**

Cette toxine de 26 à 31 KDa est sécrétée par 80 à 90% des souches de *S. aureus*. Elle est de nature protéique, thermostable et son activité hémolytique a été exprimée chez plusieurs mammifères en particulier le lapin. Lorsque la toxine est propagée dans les couches du mucus, elle provoquera une nécrose (mortification cellulaire ou tissulaire) du derme. La toxine peut exprimer des activités cytocides (destruction des cellules) sur plusieurs cellules comme les plaquettes, les lymphocytes T... (*Vincenot, 2008 ; Biljana et al., 2015 ; Schwan, 2019*).



**Figure 1 :** Mécanisme d'action de l'alpha toxine (Divyakolu et al., 2019).

### 2.4.2. Bêta hémolysine

Cette molécule thermolabile de 26-38 KDa est plus produite par les souches animales que par les souches humaines. Elle s'agit d'une lipase de catégorie C. Elle est particulièrement active sur les hématies des différentes espèces.

La  $\beta$ -hémolysine provoque une hémolysine partielle sur la gélose au sang du mouton à 37°C. Le halo d'hémolyse formé augmentera à 4°C, d'où le nom d'hémolyse « chaud froid » (Dinges et al., 2000 ; Le loir et Gautier, 2009).

### 2.4.3. Gamma-toxine ou gamma hémolysine ( $\gamma$ )

Cette toxine est produite par 50 % des souches de *S. aureus*. Elle est composée d'un polypeptide S et d'un polypeptide F. Ce dernier se lie à la phosphatidycholine des cellules cibles, tandis que le polypeptide S se lie aux membranes cellulaires et provoque une lyse. L'activité membranaire de la toxine  $\gamma$  est apparente dans la lignée des myéloïdes (Le Minor et Veron, 1982 ; Kim, 2019)

### **2.4.4. Delta-hémolysine**

C'est un peptide thermostable, qui contient des acides aminés hydrophobes et hydrophiles. Elle agit comme un détergent sur la membrane cellulaire et inhibe la phosphorylation. Cette toxine est capable d'activer l'adénylcyclase (AC), provoquant la production de l'AMP-c (Piémont, 1999 ; Biljana, 2015)

### **2.4.5. Leucocidine de Panton Valentine (LPV)**

La LPV est une exotoxine à deux composants protéiques :

- ✓ Luk-S-pv
- ✓ Luk-F-pv

Ces deux derniers sont produits séparément puis s'assemblent à la surface de la cellule cible, ce qui provoquera une nécrose tissulaire. La principale cible de LPV est les polynucléaires neutrophiles, mais elle lyse aussi les monocytes et les macrophages (Genestier et al., 2010 ; Batard et al., 2007)

### **2.4.6. Toxines exfoliatives (TE)**

Les toxines exfoliatives (TE) sont également appelées toxines épidermolytiques. Il existe quatre formes antigéniques distinctes chez *Staphylococcus aureus* : ETA et ETB sont liées à des infections humaines, les souches productrices d'ETA et d'ETB sont responsables du cutané échaudé (Biljana et al., 2015). Une troisième exfoliative, ETC, est purifiée à partir d'un isolat de *S. aureus* obtenu d'un cheval. Une nouvelle exfoliative appelée ETD a été identifiée comme étant un nouveau sérotype de toxine exfoliative avec des similitudes de séquences de 40% avec ETA, 59% avec ETB, et 13% avec ETC (Podbielska et al., 2011 ; Tam et Torres, 2019).

### **2.4.7. Entérotoxines Staphylococciques (ESs)**

Les ESs sont des protéines avec une grande tolérance à la dénaturation et peuvent maintenir leur activité, même lorsque la forme végétative de la bactérie est inactivée pendant

## Chapitre 2 : facteur de virulence de *Staphylococcus aureus*

la transformation des aliments. Les gènes codant pour les entérotoxines se trouvent dans une variété d'éléments génétiques différents et, par conséquent, la production d'entérotoxines varie considérablement entre les différentes populations de *S. aureus*. La production d'ESs est modulée par des voies réglementaires multiples, qui se chevauchent souvent et qui sont influencées par des facteurs environnementaux. Actuellement, 24 ESs différentes et de nombreuses variantes ont été identifiées, parmi celles-ci, seules cinq (les entérotoxines dites classiques) ont été bien définies. En raison de leur activité émétique, les Ses sont souvent responsables d'intoxications alimentaires staphylococciques, lorsque les consommateurs ingèrent des aliments contaminés (*Grispoldia*, 2021).

Les caractéristiques des entérotoxines staphylococciques sont représentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau I** : Caractéristiques des entérotoxines staphylococciques (*Hennekine et al.*, 2010).

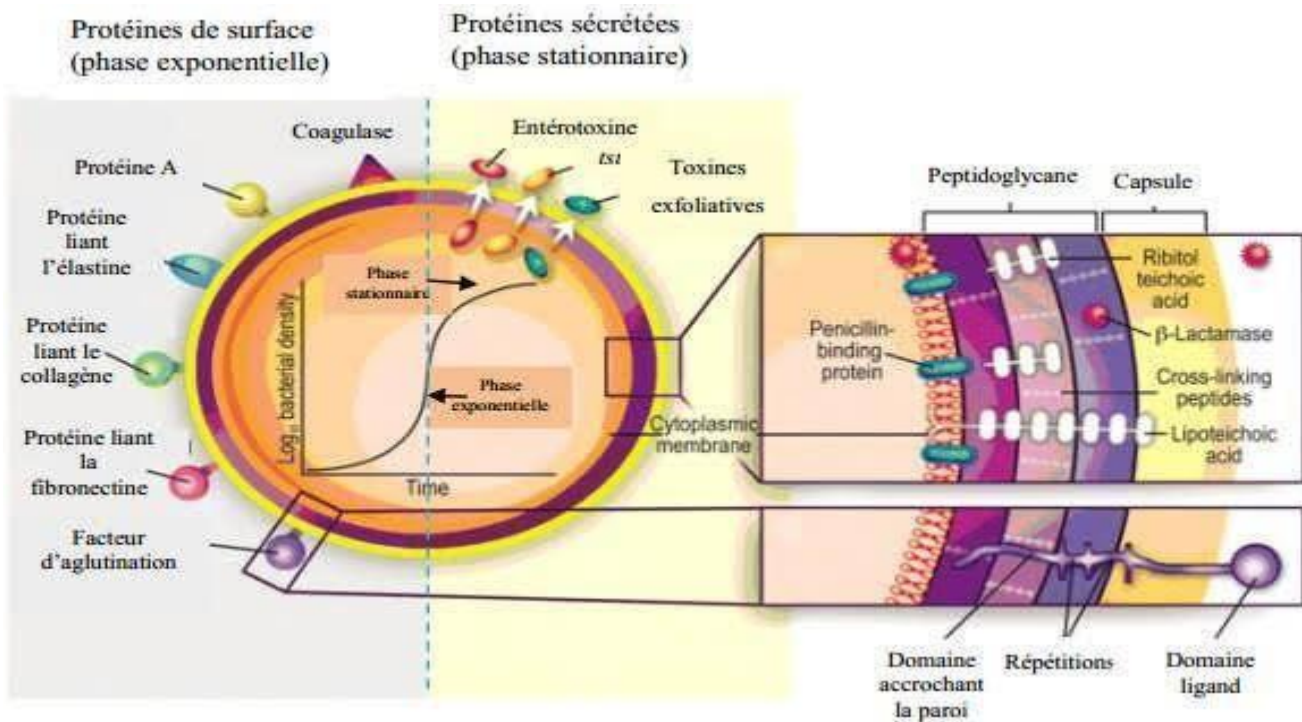
Toxine	PM (DA)	Localisation génétique	Activité superantigénique	Activité émétique
SEA	27,1	Prophage	+	ND
SEB	28,336	Chromosome, plasmide, îlot de pathogénicité	+	ND
SEC1-2-3	~27,500	Plasmide	+	ND
SED	26,36	Plasmide (pIB485)	+	ND
SEE	26,425	Prophage	+	ND
SEG	27,043	Chromosome	+	ND
SEH	25,21	Transposon	+	ND

## Chapitre 2 : facteur de virulence de *Staphylococcus aureus*

SEI	24,928	Chromosome	+	ND
SEIJ	28,565	Plasmide (pIB485)	+	ND
SEK	25,539	Ilot de pathogénicité	+	ND
SEIL	24,593	Ilot de pathogénicité	+	ND
SEIM	24,842	Chromosome	+	ND
SEIN	26,067	Chromosome	+	ND
SEIO	26,777	Chromosome	+	ND
SEIP	26,608	Prophage (Sa3n)	+	ND
SEIQ	25,076	Ilot de pathogénicité	+	ND
SER	27,49	Plasmide (pIB485)	+	ND
SES	26,217	Plasmide (pIB485)	+	ND
SET	22,614	Plasmide (pIB485)	+	ND
SEIU	27,192	Chromosome	+	ND
SEIU2	26,672	Chromosome	+	ND
SEIV	24,997	Chromosome	+	ND
ND : non déterminée				

### 2.4.8. Toxine du syndrome de choc toxique (TSST)

La toxine (TSST) est de 22 KDa, provoque un syndrome de choc toxique (TSS), en stimulant la libération d'interleukine 1 et 2, TNF- $\alpha$  et d'autres cytokines (Otto, 2014).



**Figure 2 :** Facteurs de virulence de *S. aureus* et leur cinétique de production au cours du développement de l'infection (Lowy et al., 1998).

### 2.5. La pathogénie de *Staphylococcus aureus*

La pathogénie de *S. aureus* est liée à sa capacité de survie et à ses nombreux facteurs de virulence. Parmi eux, on retrouve des protéines de surface qui initient la colonisation des tissus de l'hôte, des facteurs inhibant la phagocytose, des toxines et enzymes qui lèsent les cellules et tissus (Denis et al., 2016). *S. aureus* est à l'origine de deux types de syndromes : les infections suppuratives et les intoxications staphylococciques.

#### 2.5.1. Infections suppuratives

*S. aureus* est responsable d'infections suppuratives impliquant une prolifération bactérienne, une invasion, une destruction des tissus de l'hôte et une réponse inflammatoire locale et systémique. Les infections suppuratives peuvent se compliquer par une diffusion hématogène de la bactérie ou par une extension loco-régionale de l'infection (Vincenot et al., 2008).

Elles sont à l'origine de :

- ✓ Des staphylococcies cutanées, sous cutanées et muqueuses qui peuvent être superficielles comme l'impétigo, ou profondes comme le furoncle, l'abcès (*Denis et al., 2007*) ;
- ✓ Des infections respiratoires. On distingue les pneumonies nécrosantes, souvent communautaires (*Denis et al., 2016*) ;
- ✓ Les septicémies sont la conséquence de la multiplication et de la propagation de *S. aureus* dans la circulation sanguine. Elles sont souvent causées soit par une infection cutané-muqueuse (furoncle...) mal soignée, soit par l'entrée de *S. aureus* dans la circulation sanguine suite à l'implantation d'un cathéter veineux, d'une sonde ou d'une prothèse. Elles s'accompagnent fréquemment d'infections viscérales ou osseuses (*De Buyser et Sutrat., 2005*).

### **2.5.2. Infections associées aux toxines (infections toxémiques)**

Les toxémies staphylococciques sont causées par la diffusion de toxines à partir d'un foyer infectieux ou à l'ingestion d'une toxine préformée dans un aliment contaminé (*Vincenot et al., 2008*). *Staphylococcus aureus* est à l'origine de nombreux types d'infections humaines et de syndromes (*Kobayashi et al., 2015*). Les toxines sécrétées jouent un rôle prépondérant dans ces syndromes.

#### ✓ **Intoxinations alimentaires**

La consommation des aliments contaminés par des toxines comme les produits laitiers et les produits d'origine animale, conservés à la température ambiante après la cuisson (*Freeman-Cook, 2006*) provoque une intoxication staphylococcique, ce qui induit l'apparition des symptômes dans les 2 à 6 heures suivant l'ingestion de l'aliment. Ces symptômes sont

caractérisés par des nausées, des vomissements, des crampes abdominales et une diarrhée aqueuse et non sanglante (Parija, 2009; Delarras, 2014).

### ✓ **Pneumopathies nécrosantes**

La pneumonie nécrosante à *S. aureus* sécréteur de Panton-Valentine leucocidine est une maladie grave caractérisée par une mortalité très élevée (Mortaza et al., 2010 ; Laverdure et al., 2014). Elle survient généralement chez le sujet jeune en bonne santé (Dubrous et al., 2007). La PVL crée une réaction inflammatoire locale intense évoluant vers la nécrose (Lai-kuen et al., 2009).

Cette toxine est impliquée dans des infections cutanées, des furonculoses et de pneumopathie nécrosante. Les pneumopathies nécrosantes à PVL sont caractérisées par l'association de fièvre, d'hémoptysies, d'infiltrats alvéolaires multilobaires, d'une leucopénie et d'une aggravation extrêmement rapide (Libert et al., 2009).

### ✓ **L'entérocolite staphylococcique**

L'entérocolite à staphylocoque est rare, mais peut être grave et parfois fatale (Libert et al., 2009 ; Thakkar et al., 2010). L'utilisation d'antibiotiques à large spectre peut modifier l'écologie normale de la flore bactérienne intestinale et induit ainsi une dominance de *S. aureus*, qui peut produire suffisamment d'endotoxines pour provoquer une entérocolite (Cross, 2013). L'entérocolite est associée à une diarrhée et une fièvre, avec ou sans utilisation préalable d'antibiotiques, chez les adultes ou les nourrissons immunodéprimés, ou chez les personnes présentant des conditions prédisposant (Lin et al., 2010).

## **2.6. Traitement et prophylaxie**

### **2.6.1. Traitement**

L'utilisation intensive des antibiotiques a entraîné la sélection de souches résistantes de *S. aureus* et *S. epidermidis*. Les infections nosocomiales dues à des staphylocoques multirésistants aux antibiotiques surviennent chez des patients dont les défenses immunitaires sont affaiblies. La transmission de ces souches résistantes peut se faire par l'intermédiaire du

personnel hospitalier, lui-même porteur sain asymptomatique. Le choix d'une antibiothérapie est donc un problème majeur à l'hôpital. Bien que quelques infections staphylococciques puissent être traitées par l'Amoxicilline, la sensibilité aux antibiotiques de chaque isolat de *S. aureus* pathogène doit être testée par un antibiogramme (*Madigan et Matinko, 2007*).

### **2.6.2. Prophylaxie**

La gravité des localisations systémiques des Staphylocoques rend indispensable une prophylaxie efficace. Le portage sain ne constitue pas un danger pour le sujet lui-même. Mais, chez un sujet porteur de furonculose chronique, il faut le traiter. Cependant, lors d'une lésion staphylococcique évolutive il faut éviter une septicémie. L'utilisation de vaccins cellulaires inactivés et d'anatoxines est préconisée. La surveillance et le contrôle des toxi-infections par les entérotoxines sont basés sur les mesures principales suivantes : suppression des infections croisées, éducation du personnel, retour au respect absolu des règles relatives à l'asepsie, rationalisation de l'emploi des antibiotiques à titre curatif et préventif. Des indications précises sur le rôle du laboratoire de microbiologie dans la lutte contre les infections hospitalière ont été publiées récemment (*Avril et al., 2000*).

### Chapitre 3: Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

#### 3.1. Historique

Le 3 septembre 1928, le docteur Alexander Fleming de retour des vacances s'aperçut que certaines de ses cultures bactériennes dans des boîtes de Pétri avaient été contaminées par des colonies de moisissure d'un blanc verdâtre. Il s'agissait de souches d'un champignon microscopique, le *Penicillium notatum*. Fleming s'aperçut qu'autour des colonies de moisissure, le staphylocoque qu'il cultivait ne s'était pas développé. Il émit l'hypothèse qu'une substance secrétée par le champignon était responsable de ce phénomène et lui donna le nom de pénicilline. Il venait de découvrir le premier des antibiotiques.

La découverte de la pénicilline et de ses propriétés bactéricides par Alexander Fleming ouvrit de nouvelles perspectives pour le traitement des maladies infectieuses. En 1941, un patient atteint de septicémie à staphylocoque fut traité avec succès par la pénicilline (*Le Loir et Gautier, 2010*).

#### 3.2 Définition

Les antibiotiques (Du grec **anti** : « contre », et **bios** : « la vie ») sont des agents antimicrobiens élaborés par des micro-organismes ou obtenus par synthèse ou héli synthèse et capables d'inhiber la multiplication (action bactériostatique) ou de tuer d'autres micro-organismes (action bactéricide) (*Willoquet et al., 2015*).

#### 3.3. Classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères :

##### 3.3.1. Classification selon l'origine

Selon *Agrégé et al. (2015)*, On distingue trois grands groupes d'antibiotiques:

- ✓ Les antibiotiques naturels, élaborés par les micro-organismes :
  - Des champignons inférieurs : *Penicillium*, *Cephalosporium*
  - Des bactéries : *Bacillus* et surtout *Streptomyces* (90% des antibiotiques sont produits par des *Streptomyces*) ;
- ✓ Les antibiotiques hémisynthétiques : ils résultent de la transformation chimique des composés naturels.

- ✓ Les antibiotiques artificiels : obtenus par synthèse chimique.

### 3.3.2. Classification des antibiotiques en fonction de leur spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un anti-infectieux correspond à l'ensemble des espèces bactériennes qui lui sont sensibles. Lorsque le spectre d'activité est limité à un certain nombre d'espèces bactériennes, il est dit « étroit », tandis qu'un antibiotique actif sur de nombreuses bactéries est dit à spectre « large ».

Enfin, une bactérie non sensible à un antibiotique est définie comme étant résistante. Un antibiotique à spectre large agit sur un grand nombre de bactéries sur les bacilles et coques (Gram + et Gram -). Un antibiotique à spectre étroit agit seulement sur les bacilles et coques Gram + ou Gram - (*Agregé et al., 2015*).

### 3.3.3. Classification en familles d'antibiotiques

Cette classification est la plus utilisée car, fondée sur la structure chimique de base d'un chef de file, premier d'une série, elle regroupe « en familles » ou « classes » des produits ayant des caractéristiques communes : de structure, de spectre d'activité, de cible moléculaire bactérienne, de sensibilité à des mécanismes de résistance (résistances croisées) et d'indications cliniques (*Agregé et al., 2015*).

### 3.3.4. Classification selon le mode d'action

Selon Yala et al. (2001), les antibiotiques agissent à l'échelle moléculaire, au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie et ont plusieurs actions :

- Action sur la paroi bactérienne (peptidoglycane) ;
- Action sur la structure de la membrane cytoplasmique ;
- Action sur la synthèse protéique bactérienne ;
- Action sur la synthèse de l'ADN de la bactérie.

## 3.4. Famille et mode d'action des antibiotiques

Plusieurs familles sont décrites :

- ✓ **Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne** : Plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi. Dans cette catégorie, nous trouvons :

- **Les bêtalactamines**, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi.

- **Les glycopeptides (Ex. : La vancomycine)** : inhibent les étapes de transglycosylation et de transpeptidation, nécessaires à la synthèse du peptidoglycane (*Chang et al., 2003*) ;

- **La fosfomycine** qui inhibe la synthèse du peptidoglycane dans la phase précoce de sa biosynthèse (*Van Bambeke et Tulkens, 2009*).

#### ✓ **Antibiotiques inhibiteurs de la membrane des cellules bactériennes**

- **Polymyxines** : surfactants qui désorganisent la bicouche phospholipidique membranaire, conduisant à la destruction de l'intégrité de la membrane et la sortie des éléments hydrosolubles de la cellule (*Dortet et al., 2016*).

#### ✓ **Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines**

- **Phénicolés** : Il s'agit d'inhibiteur de la sous-unité 50S des ribosomes procaryotes, empêchant ainsi la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance ;

- **Macrolides, lincosamides, streptogramines** qui fait le transfert de la chaîne en croissance du site A (Acide aminé) vers le site P (Peptide) empêchant la sortie du peptide néo-synthétisé ;

- **Tétracyclines et aminoglycosides (aminosides)** : inhibiteurs de la sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (*Van Bambeke et al., 2017*).

#### ✓ **Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques**

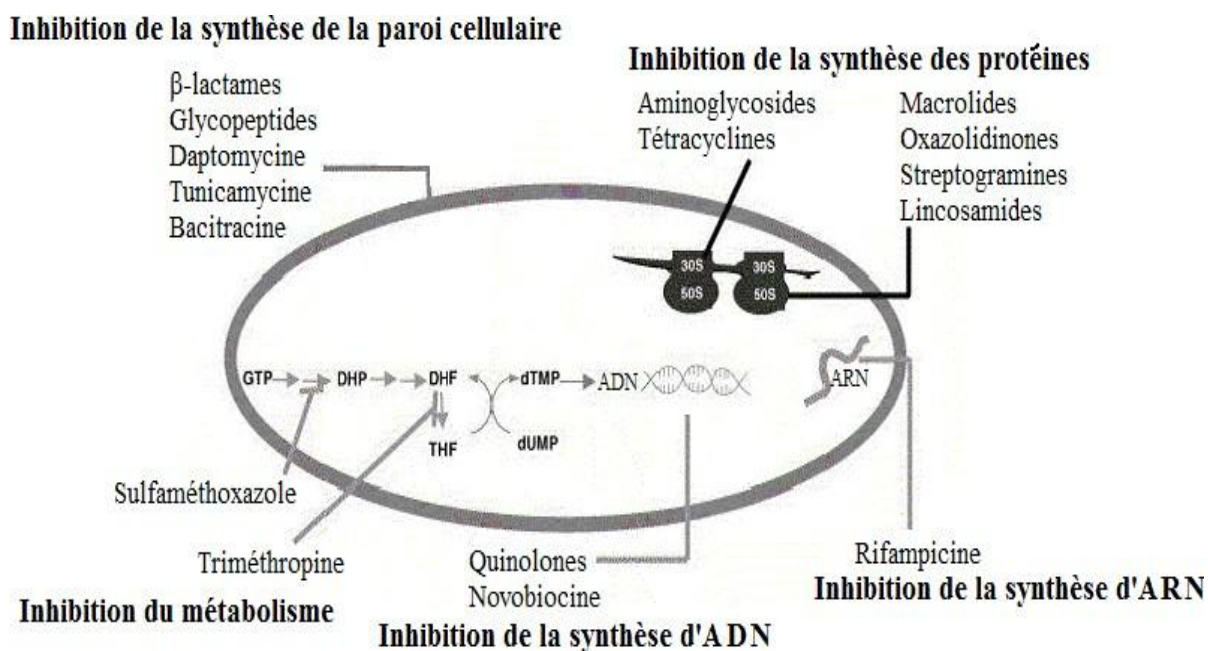
- **Des ansamycines (Ex : Rifampicine)** : sont des inhibiteurs de l'ARN polymérase, Ils inhibent la transcription au niveau de son initiation par blocage de l'ARN polymérase ;

- **Les quinolones** : des inhibiteurs de l'ADN-gyrase, agissent sur l'ADN gyrase conduisant à un défaut de synthèse de l'ADN et à la mort de la bactérie (*Ravat et al., 2000*).

#### ✓ **Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique**

- **Les sulfamides** : agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques ;

- **Les diaminopyridines (Ex. : Le Triméthoprime)** inhibent la réduction de l'acide folique (*Agregé et al., 2015*).



**Figure 03 :** Mode d'action des antibiotiques avec dihydroptéroate ; dihydrofolate ; tétrahydrofolate (Singh et Barrett, 2006).

### 3.5. Mode d'action des antibiotiques et mécanismes de résistance chez *S. aureus*

Les souches de *Staphylococcus aureus* se distinguent, par leur grande adaptation, en particulier le développement de résistances à différentes classes d'antibiotiques, chacune de ces classes et les mécanismes de résistance à celle-ci sont décrits ci-dessous.

#### 3.5.1. Résistance aux β-lactamines

Les β-lactamines sont l'une des classes de médicaments bactéricides les plus utilisées au monde, les membres de cette classe ont une propriété commune, qui est le noyau β-lactame et comprend : pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, monobactames, inhibiteurs de bêta-lactamase (l'acide clavulanique et le sulbactam ou tazobactam). Ces derniers arrêtent la croissance des bactéries, en bloquant la synthèse de la paroi cellulaire (Pandey et Cascella, 2019).

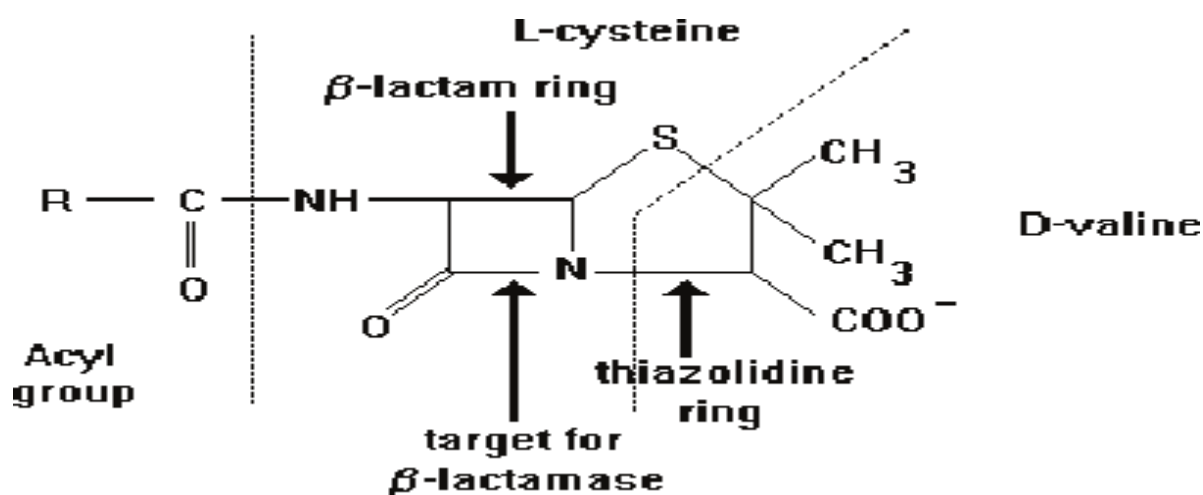


Figure 04: Structure du noyau bêta-Lactame (Poole, 2004).

Les  $\beta$ -lactamines agissent sur la paroi bactérienne, plus précisément sur les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP sont des protéines à activité enzymatique (essentiellement des transpeptidases) impliquées dans la synthèse de la paroi. Elles sont situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Cette fixation covalente entre les PLP et les  $\beta$ -lactamines induit un blocage des réactions. Les bêtalactamines se fixent de façon covalente sur les protéines liant la pénicilline (PLP), Cette fixation bloque de manière irréversible la croissance bactérienne (Courvalin et al. 2006).

✓ **Résistance aux  $\beta$ -lactamines par production de  $\beta$ -lactamases**

La pénicillinase plasmidique est une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame et donc de rendre inactif l'antibiotique. La pénicillinase staphylococcique est le produit d'expression du gène *blaZ*, qui est porté par un plasmide ou un transposon. Le gène *blaZ* est sous le contrôle d'un système répresseur/anti répresseur (*blaR1/blaI*). La production de bêta-lactamases est le plus souvent inductible (Lowy, 2003).

✓ **Résistance à la méticilline**

La méticilline est un antibiotique semi-synthétique, doté d'une activité bactéricide et d'une résistance aux  $\beta$ -lactamase. La principale différence entre les souches de *Staphylococcus aureus*, méticillino-sensibles (SASM) et méticillino-résistantes (SARM) est la présence d'une nouvelle PLP appelée PLP2a, qui a une activité extrêmement faible avec les antibiotiques  $\beta$ -lactamines, autre que les quatre PLP natives ancrées sur la membrane cytoplasmique (NCBI, 2021).

Il s'agit d'une transpeptidase monofonctionnelle, d'un poids moléculaire d'environ 76 kDa, qui peut catalyser à elle seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont saturées par

les  $\beta$ -lactamines et elle est résistante à l'inhibition par pratiquement tous les membres de cette classe d'antibiotiques (Dumitrescu, 2010 ; Kim et al., 2012).

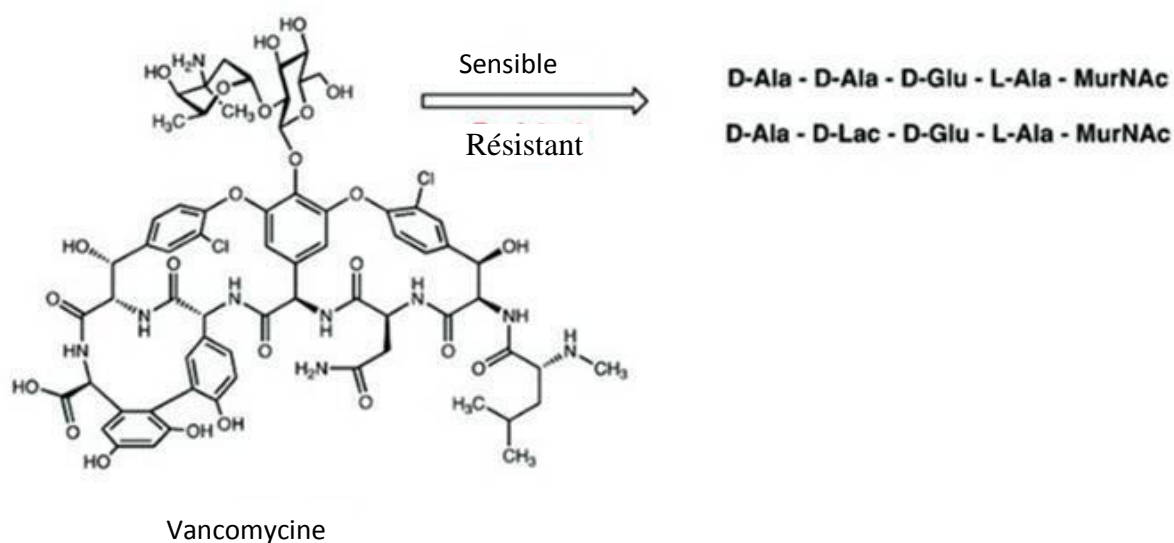
La PLP2a est codée par le gène *mecA*, un fragment d'ADN de 2,1 kb. Ce gène est contenu dans un élément génétique mobile : la cassette staphylococcique (*SCCmec*, Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*), cette cassette a une taille d'environ 20 à 60 kb et se propage parmi les espèces de staphylocoques, par transfert de gène horizontal et s'intègre à un site appelé AttB ou ISS (site d'intégration de séquence), à la troisième extrémité du gène *orfX*, qui code pour une fonction inconnue (Dumitrescu, 2010 ; Peacock et Paterson, 2015).

### 3.5.2. Résistance aux glycopeptides

La vancomycine est un antibiotique glycopeptidique, qui a pour cible principale les sous-unités D-ala-D-ala de la paroi cellulaire à Gram positif, qui provoque la mort cellulaire en inhibant la réticulation de la paroi cellulaire, il a été le traitement recommandé pour les infections graves à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) (Walsh et Howe, 2002).

Cependant, l'incidence accrue de ces infections, a conduit à une utilisation accrue de la vancomycine et a entraîné l'émergence de diverses formes de SARM résistants aux glycopeptides, notamment une résistance de haut niveau (VRSA), qui fait référence à une concentration minimale inhibitrice (CMI) de *Staphylococcus aureus* cliniquement isolé par rapport à la vancomycine < 32 mg/L, une résistance intermédiaire homogène (VISA), qui signifie que la CMI de *Staphylococcus aureus* par rapport à la vancomycine est de 8 à 16 mg/ L et une résistance hétérogène (hVISA), ayant des CMI de la vancomycine égales à 2-4mg/l(sensibles), mais présentant des sous populations non sensibles à la vancomycine (CMI=68mg/l) (Courvalin et Leclercq, 2011 ;Guo et al., 2020 ).

Les souches de *S. aureus* résistantes, à la vancomycine tirent leur résistance de la modification structurelle de la cible. La modification du dipeptide terminal des chaînes de peptidoglycane de la paroi cellulaire de la d-alanyl-d-alanine (d-Ala-d-Ala) en d-alanyl-d-lactate (d-Ala-d-Lac), réduit l'affinité du dipeptide pour la vancomycine, empêchant ainsi la perturbation de la réticulation du peptidoglycane (Figure 05) (Craft et al., 2019).



**Figure 05 :** Mécanisme de résistance de *S. aureus* à la vancomycine (Craft et al., 2019).

Cette modification ciblée résulte de la coopération de plusieurs gènes régulateurs portés sur un opéron appelé l'opéron *vanA*, codé sur le transposon Tn1546, qui fait à l'origine partie du plasmide des entérocoques résistants à la vancomycine (VRE). Ces gènes codent pour toutes les enzymes nécessaires à la reprogrammation du peptidoglycane. Contrairement aux isolats de VRSA, les souches de VISA ou hVISA ne portent pas de gènes de résistance à la vancomycine, tels que *vanA*, *vanB* ou *vanC* (Kang et Park, 2015 ; McGuinness et al., 2017).

### 3.5.3. Résistance aux MLS (B)

Les antibiotiques du groupe macrolides-lincosamides-streptogramines (B) sont recommandés comme premiers choix dans le traitement des infections à staphylocoques. Ils ont une structure différente, mais un mode d'action similaire. Ces antibiotiques inhibent la synthèse des protéines bactériennes en se liant à l'ARNr 23S dans les sous-unités ribosomiques 50S (Sakar et al., 2012).

La résistance croisée aux macrolides, aux lincosamides et aux streptogramines B chez *Staphylococcus aureus*, est médiée par les gènes de l'érythromycine ribosome méthylase (*erm*), qui codent pour des protéines, qui méthylent les résidus d'adénine A2058/2059 dans la peptidyl transférase du domaine V de l'ARNr 23S. Une telle résistance peut être, soit constitutive (exprimée en permanence, cMLSB), soit inducible (induite en présence de ces antibiotique, iMLSB) (Otsuka et al., 2007 ; Yao et al., 2019).

D'autres mécanismes de résistance ont également été décrits chez *S. aureus*, une mutation du site cible, telles les mutations dans les protéines ribosomiques L22 (codées par *rplV*) et L4 (codées par

*rplD*), une inactivation enzymatique de l'antibiotique due à l'activité des gènes *linA*, *vat*, *vatB*, et un efflux actif du médicament dû à l'activité des gènes *msrA*, *msrB*, *vga*, *vgb* (Sakar et al., 2012 ; Vestergaard et al., 2019).

### 3.5.4. Résistance aux quinolones

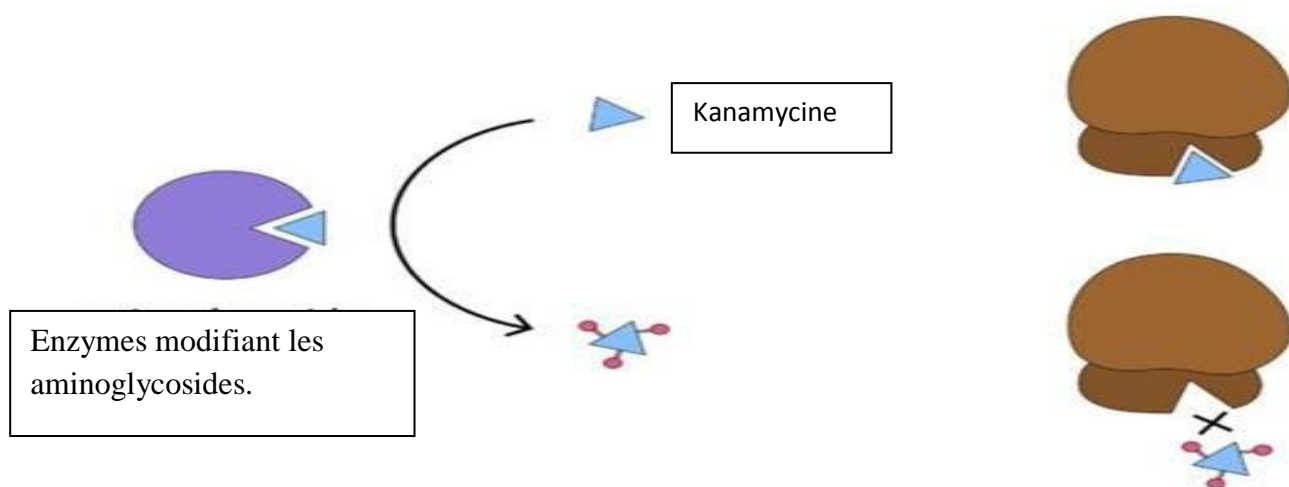
Les quinolones présentent une puissante activité antibactérienne en ciblant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV (topo IV), deux enzymes essentielles à la croissance et à la survie des bactéries (Roychoudhury et al., 2001). Quatre gènes liés à la résistance aux fluoroquinolones chez *S. aureus*, ont été signalés jusqu'à présent : *norA*, *gyrA*, *gyrB* et *grlA*. Cette résistance résulte de l'acquisition progressive des mutations chromosomique, qui entraînent des substitutions d'acides aminés dans les régions critiques du complexe enzyme DNA (région déterminant la résistance aux quinolones [QRDR]) de GyrA (GrlA dans *S. aureus*), réduisant ainsi l'affinité des quinolones pour ses deux cibles (Fournier et Hooper, 1998 ; Hooper et Jacoby, 2015).

Le deuxième mécanisme est dû à des altérations des gènes contrôlant l'accumulation de médicaments dans ses cibles, augmentant encore la résistance, par la surexpression de la pompe d'efflux, NorA. Cette pompe fait partie de la superfamille des transporteurs (MFS). NorA confère une résistance aux quinolones hydrophiles, telles que la norfloxacin et la ciprofloxacine (Lowy, 2003 ; Hooper et Jacoby, 2015).

### 3.5.5. Résistance aux aminosides

Les aminosides sont l'une des classes d'antibiotique, qui jouent un rôle important dans le traitement des infections à staphylocoques, ils tuent les bactéries par inhibition de la synthèse protéique. Les molécules d'aminoglycosides (Ag) se lient à la sous-unité ribosomique 30S bactérienne, rendant les ribosomes indisponibles pour la traduction, ce qui entraîne la mort cellulaire (Tolmasky, 1999).

Le principal mécanisme de résistance aux aminosides chez *S. aureus*, est l'inactivation des antibiotiques par des enzymes de modification des aminosides (AME) (Figure 06), codées par des gènes acquis via des transposons ou des plasmides (Denis et al., 2016).



**Figure 06 :** Mécanisme de résistance à la kanamycine (aminoside) (Denis *et al.*, 2016).

Trois phénotypes de résistance majeurs peuvent être retrouvés : résistance à l'amikacine et kanamycine (phénotype « K » lié à une aminoside 3'-phosphotransférase), résistance à l'amikacine, la kanamycine et à tobramycine (phénotype « KT » lié à une aminoside adényltransférase) et une résistance à l'amikacine, la kanamycine, la tobramycine et la gentamycine (phénotype « KTG », lié à une enzyme bifonctionnelle aminoside 6'-acétyltransférase et aminoside 2''-phosphotransférase) (Denis *et al.*, 2016).

### 3.5.6. Résistance aux fusidanines

Les principaux déterminants de la résistance de *S. aureus* à cet antibiotique comprennent les mutations du gène *fusA*, qui code pour le facteur d'élongation G (EFG) et la résistance à médiation plasmidique (c'est-à-dire l'acquisition du gène de résistance *fusB*) (Howden *et Grayson*, 2006).

### 3.5.7. Résistance aux tétracyclines

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre, ils sont utilisés dans le traitement et la prévention des infections bactériennes. Ces antibiotiques, inhibent la croissance des bactéries, en pénétrant dans la cellule bactérienne, en se liant aux ribosomes bactériens et en arrêtant la synthèse protéique (Speer *et al.*, 1992).

La résistance à la tétracycline chez *S. aureus* est généralement médiée, soit par un efflux actif par les protéines Tet (K) et Tet (L), qui exportent ces antibiotiques hors de la cellule. Ces

protéines sont codées par les gènes plasmidiques *tetK* et *tetL*, respectivement, soit par des protéines de protection ribosomale (RPP), qui confèrent une résistance à ces derniers, en se liant au ribosome et en chassant le médicament de son site de liaison, ces protéines sont codées par des déterminants chromosomiques ou transposonaux (*tetM* ou *tetO*) (Figure 07) (Feßler et al., 2018 ; Hobson et al., 2021).

# **Partie expérimentale**

---

## 1. Matériels et méthodes

### 1.1. Lieu de l'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire (CHU, Nedir Mohamed) de Tizi Ouzou, durant une période de 3 mois.

### 1.2. Objectifs

Notre étude a pour objectif, d'une part d'isoler des souches de *Staphylococcus aureus* à partir de différents prélèvements cliniques reçus au niveau du laboratoire de microbiologie et d'autre part d'étudier le profil de résistance de ce germe vis-à-vis de certaines molécules d'antibiotiques utilisées en thérapeutique humaine.

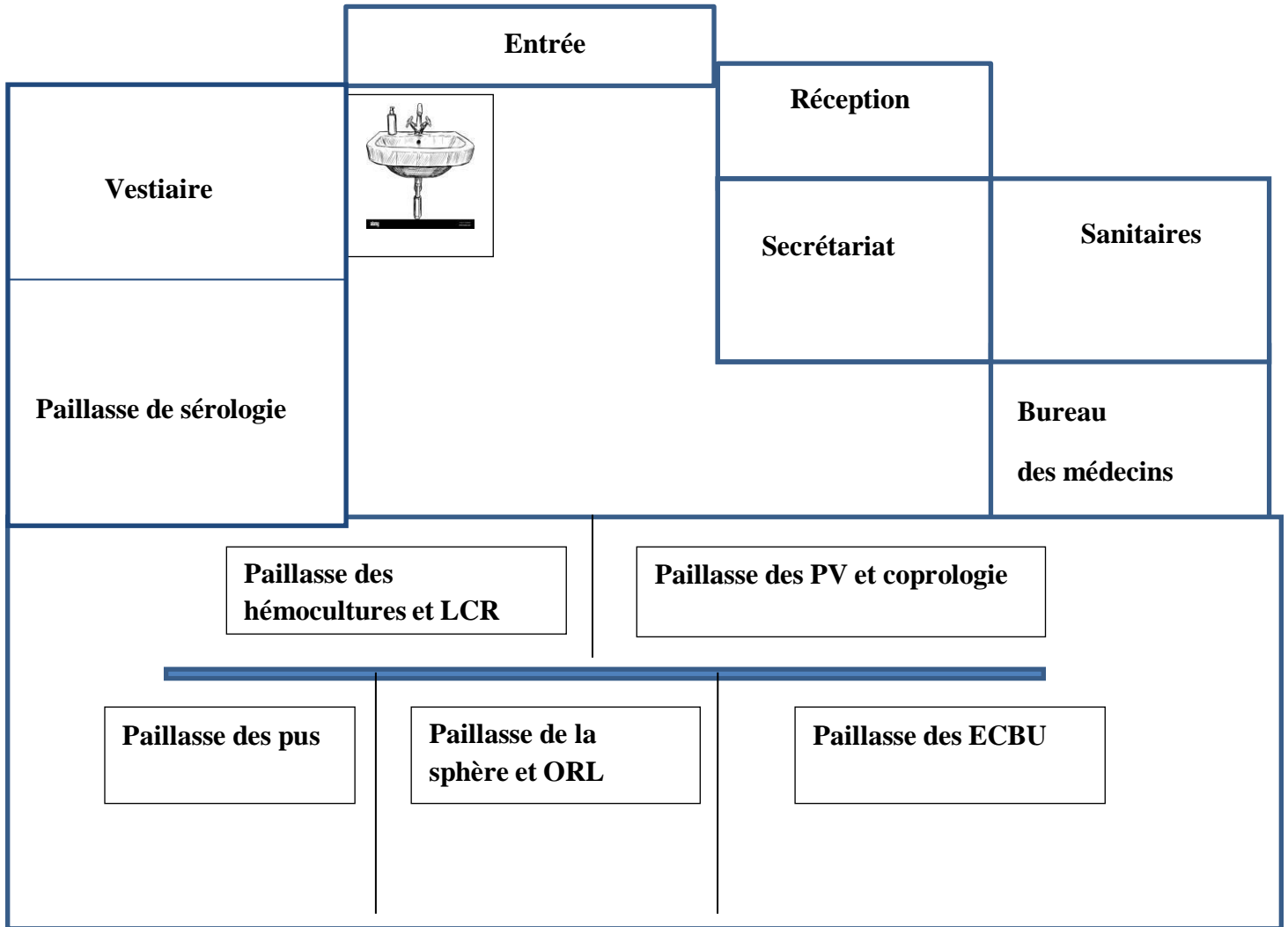
### 1.3. Présentation du laboratoire

Le laboratoire de microbiologie est doté d'une salle de réception, qui a pour rôle de réceptionner les différents prélèvements issus de différents services de l'hôpital et des malades externes, dans le but d'enregistrement, de numérotation et d'étiquetage des prélèvements. Ces prélèvements seront par la suite acheminés vers les différentes paillasse du laboratoire. Ces dernières incluent :

- Paillasse des pus
- Paillasse de la sphère ORL
- Paillasse des hémocultures et LCR
- Paillasse des ECBU
- Paillasse de PV et coprologie.

Une fois les prélèvements sont analysés et les résultats sont prêts, ils seront transmis au bureau des médecins pour vérification. Ensuite ils seront remis au secrétariat pour le classement des résultats par ordre :

- Les résultats des malades internes sont classés par services.
- Les résultats des malades externes sont classés par ordre alphabétique.



**Figure 07** : Différents compartiments du service du laboratoire de microbiologie (CHU de Tizi Ouzou)

### 1.3. Matériels

Le tableau suivant présente le matériel, les milieux de culture, ainsi que les réactifs utilisés lors de la partie expérimentale :

**Tableau II** : Matériels, milieux de culture et réactifs utilisés lors de la partie expérimentale

Matériels	Milieux et réactifs
-----------	---------------------

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Verrerie et outils : boîtes de Pétri, tubes à essai, pipettes Pasteur, écouvillons, tubes à hémolyse, anse à boucle, micropipette, embouts (0.1 et 1mL), cuves de spectrophotomètre, lames, lamelles pour microscope, flacons en verre,</li> <li>• Etuve microbiologique</li> <li>• Vortex</li> <li>• Bec Bunsen</li> <li>• Spectrophotomètre</li> <li>• Microscope optique</li> <li>• Chambre froide</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gélose Chapman</li> <li>• Gélose au sang cuit</li> <li>• Gélose au sang frais</li> <li>• Plasma humain</li> <li>• Eau oxygénée</li> <li>• Huile de vaseline</li> <li>• Violet de gentiane</li> <li>• Lugol</li> <li>• Alcool</li> <li>• Fuchsine</li> <li>• Disques d'antibiotique</li> </ul>
---	--

#### 1.4. Nature des prélèvements

Les souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolées à partir de 2798 prélèvements cliniques provenant de différents services du centre hospitalo-universitaire (CHU, Nedir Mohamed) de Tizi Ouzou (annexe 1).

#### 1.5. Méthodes pratiques

##### 1.5. 1. Isolement et purification des souches de *Staphylococcus aureus*

Une fois les prélèvements sont sur la paillasse de travail, une étape d'isolement est lancée. La mise en évidence de *Staphylococcus aureus* à partir des différents prélèvements nécessite deux étapes, à savoir, une étape d'enrichissement sur un milieu spécifique (BGT) et une étape d'isolement sur la gélose hyper salée (Chapman). Après une période d'incubation de 24 heures à 37°C, une lecture des résultats est effectuée (recherche des colonies caractéristiques de *S. aureus*). En absence de colonies caractéristiques, une ré-incubation des boîtes est réalisée, pour donner plus de chance au germe de se développer.

Si après une ré-incubation, le résultat est toujours négatif, un autre essai d'isolement est effectué à partir du milieu d'enrichissement. Une étape de purification des cultures est réalisée, et ceci par des repiquages successifs sur le milieu d'isolement.

##### 1.5. 2. Identification biochimique des isolats

Les colonies caractéristiques de *S. aureus* ont fait l'objet d'une éventuelle identification par des tests préliminaires qui sont :

### ➤ Coloration de Gram

La coloration de Gram a pour principe de différencier la structure de la paroi des bactéries à Gram positif et celle à Gram négatif. Elle est effectuée afin de confirmer la pureté des isolats et identifier le genre staphylocoque.

Le frottis est réalisé à partir de la colonie suspecte cultivée sur la gélose Chapman. Après avoir séché le frottis une coloration de Gram est réalisée selon les étapes suivantes :

- Inondation de la lame du frottis par le colorant de violet de Gentiane pendant 1 minute, puis rinçage à l'eau courante ;
- Recouvrir la lame avec du lugol et laisser agir pendant 60 secondes puis rincer à l'eau courante ;
- Décoloration en versant goutte à goutte de l'alcool pendant 5 à 10 secondes, puis rinçage à l'eau ;
- Recoloration avec de la fuchsine pendant 30 secondes à 1 minute puis lavage à l'eau courante ;
- Séchage des lames à l'air libre ;
- La lecture se fait au microscope optique au grossissement 1000 et à immersion.

### ➤ Test de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries.



Une goutte d'eau oxygénée est déposée sur une lame, puis mise en contact avec une colonie bactérienne. La souche est dite catalase positive s'il y'a eu dégagement de bulles de gaz (effervescence) dans la goutte de  $H_2O_2$ .

### ➤ Test de la coagulase

Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur par *Staphylococcus aureus*. Ce test s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5 ml du plasma humain et quelques colonies de *S. aureus*. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 1 à 4 heures. La souche est dite coagulase (+) s'il y'aura formation d'un coagulum (prise en masse).

Le reste des tests biochimiques sont réalisés sur une Api 20 staph

## ➤ Api 20 Staph

## ✚ Préparation de la galerie

- Mettre l'eau distillée sur le fond de la boîte ;
- Placer la galerie sur le fond de la boîte ;
- Recouvrir la boîte avec son couvercle ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

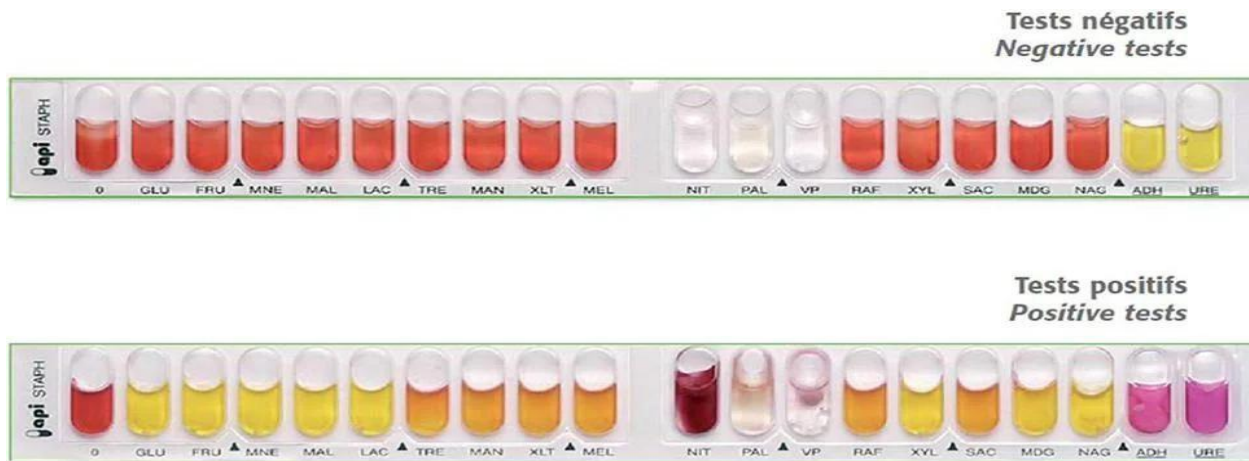


Figure 08 : Plaque de la galerie API 20 Staph

## ✚ Préparation de l'inoculum

- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé

(Chapman).

- Faire une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans une ampoule API Staph Medium.

## ✚ Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension dans les tubes de la galerie en évitant la formation des bulles ;
- Pour les caractères ADH, URE, remplir les cupules d'huile de paraffine ;
- Refermer la boîte et incuber à 37°C pendant 24 heures.

## ✚ Lecture de la galerie API 20 Staph

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant (Tableau de Lecture VII, Annexe 2) après addition de réactifs aux tests suivants :

- **Test VP** : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 min. Une couleur violette ou rose indique une réaction positive.
- **Test NIT** : ajouter une goutte de réactif NIT1 et NIT2. Attendre au minimum 10 min. Une couleur rouge indique une réaction positive.

- **Test PAL** : (phosphatase alcaline) ajouter une goutte de réactif ZIM A et ZIM B. Attendre au minimum 10 min. Une couleur violette indique une réaction positive (Dolarras, 2007).

### Identification

Chercher avec le logiciel d'identification afin de connaître le nom de l'espèce identifiée.

#### 1.6. Résistance des souches isolées aux antibiotiques

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure. Quelques colonies bien isolées et identiques sont raclées à l'aide d'une anse à boucle, déchargées dans 5ml d'eau physiologique stérile. L'antibiogramme est réalisé par la technique d'écouvillonnage en trempant l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne préparée puis l'essorer en le pressant sur la paroi du tube pour décharger au maximum l'inoculum. Ensuite, la gélose Mueller- Hinton est ensemencée de haut en bas, en stries serrées tout en tournant la boîte de 60° jusqu'à l'ensemencement de la totalité de la surface. Les boîtes sont immédiatement incubées pendant 24h à 37°C. Après la lecture des zones d'inhibition, les souches ont été classées en sensibles, intermédiaires ou résistantes selon les recommandations du CLSI (2020).

**Tableau III : Liste des antibiotique testés**

Famille	antibiotique	Abréviation	Charge en Ug
<b>β-lactamines</b>	Pénicilline	P	10UI
	Oxacilline	OX	1
	céfoxitine	FOX	30
<b>Aminosides</b>	Amikacine	AK	30
	Gentamicine	GEN	10
	kanamycine	K	30
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	ERY	15
	clindamycine	DA	2
<b>Synergistines</b>	pristinamycine		15
<b>Fluoroquinolones</b>	Ofloxacine	OFX	5
	Ciprofloxacine	CIP	5
	Lévofloxacine	LEV	5

<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol	C	30
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine	VA	30
	Teicoplanine	TEC	30
<b>Rifamycines</b>	Rifampicine	RIF	5
<b>Inhibiteur de synthèse de l'acide folique</b>	Trimethoprim	SXT	25
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline	TE	30
	doxacycline	DO	30

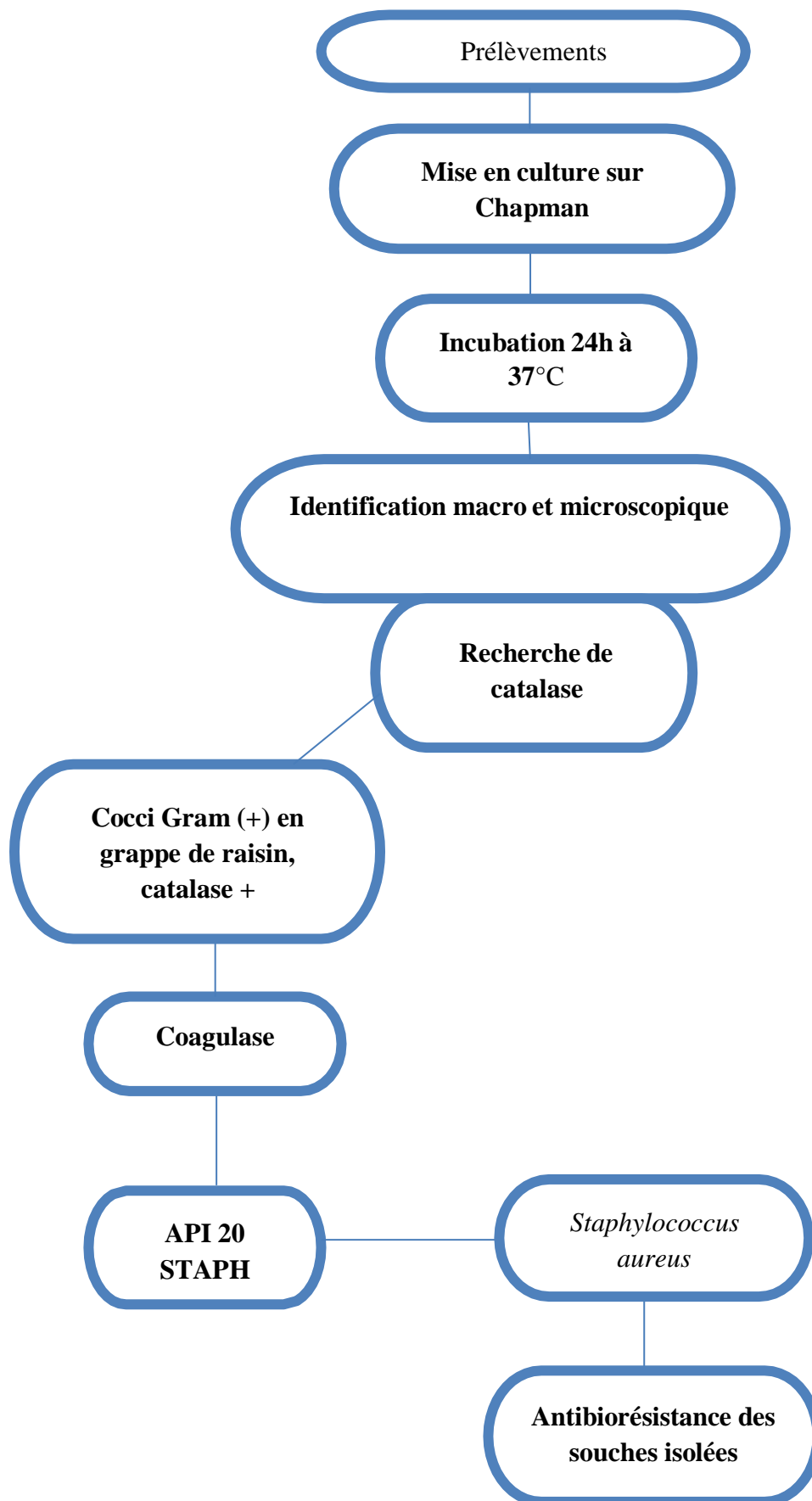


Figure 09 : Organigramme du plan expérimental

# **Résultats et discussion**

## 2. Résultats et discussion

### 2. 1. Prévalence de *S. aureus*

Sur les 2798 prélèvements analysés, 43 se sont révélés positifs (développement bactérien caractéristique), soit un taux de 1,53%. Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui, après culture sur la gélose sélective Chapman, montrent des colonies caractéristiques (colonies jaunes dorées, bombées, arrondies et de taille moyenne).



**Figure 10** : Colonies de *Staphylococcus aureus* sur la gélose Chapman (photo prise au laboratoire)

Durant cette étude, plusieurs types de prélèvements ont été analysés, une prédominance des souches isolées à partir des prélèvements de pus où le nombre de souches était 18 (0,64%), suivi par les prélèvements d'hémoculture avec un nombre de 11 isolats (0,36%), puis ceux de LCR avec un nombre de 07 souches, correspondant à un taux de 0.23%. Concernant les prélèvements de coprologie et les prélèvements vaginaux, aucun résultat positif n'a été enregistré (Tableau IV).

**Tableau IV** : Répartition des prélèvements positifs selon leur nature

Prélèvement	Nombre de prélèvements analysés	Nombre de prélèvements positifs	Prévalence (%)
Pus	432	18	0,64
Secrétions de la sphère ORL	127	04	0,14
Hémoculture	638	11	0,36
Liquide céphalo-rachidien	417	07	0,23
Urines	1054	03	0,11
Prélèvement vaginal	85	00	0
Coprologie	45	00	0
<b>Total</b>	<b>2798</b>	<b>43</b>	<b>1,53</b>

Selon *Benouda et El Hamzaoui (2020)*, la répartition de la fréquence d'isolement des *S. aureus* est variable en fonction de la nature des prélèvements. Selon la même étude *S. aureus* représente 19% des germes isolés des pus et 10,7% de ceux des hémocultures. Une étude réalisée sur les hémocultures à l'hôpital de Boufarik de Blida, a révélé que le *S. aureus* ne constituait que 8% un chiffre élevé par rapport à nos résultats sur l'hémoculture (0,36%) (*Azizi et Askeur, 2019*).

Les résultats obtenus à partir des pus sont faibles par rapport à ceux retrouvés par *Aouati (2009)* et ceux rapportés par *El Hamzaoui (2009)*, qui sont de l'ordre de 61.47% et 67 %, respectivement.

## 2.2. Répartitions des souches selon la provenance des prélèvements

Nous avons constaté, au cours de notre étude, que 20,93% des souches isolées proviennent du service « pavillon des urgences médicales », suivies par le service de néphrologie, avec un taux de 16,30%. En revanche, 11,63 % des souches proviennent des services pédiatrie et pavillon des urgences chirurgicales (Tableau V).

**Tableau V** : Répartition des souches de *S. aureus* selon le service

Provenance	Nombre de <i>S. aureus</i>	Pourcentage
p.u. chirurgie	05	11,63%
Néphrologie	07	16,30%

Milieu hospitalier	hemato-pediatrie	01	2,33%
	p.u.medicine	09	20,93%
	Cardiologie	01	2,33%
	Pédiatrie	05	11,63%
	Neurologie	04	9,30%
	Néonatalogie	01	2,33%
	Pneumologie	01	2,33%
	Réanimation	01	2,33%
	Infectiologie	01	2,33%
	Oncologie	01	2,33%
Externe	06	13,95%	

La dissémination du *S. aureus* peut s'expliquer par la fragilité des patients du service pavillon des urgences médecines et service néphrologie (patients en hémodialyse chronique), le manque d'hygiène et le manque de contrôle des soins paramédicaux comme le changement des gants pour chaque malade, le contrôle d'asepsie ainsi que le non-respect des règles de visite des malades.

### 2.3. Antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées

L'étude de la résistance des souches isolées vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques a montré l'existence de résistances, avec des taux variables selon la molécule d'antibiotique testée. En effet, de fortes résistances sont enregistrées vis-à-vis de l'oxacilline (79%) et de la pénicilline (76,74%). De faibles résistances sont observées contre les autres molécules, à savoir la lévofloxacine (18,60%), la rifampicine (4,65%), la clindamycine (4,65%), la chloramphénicol (2,32%) et la doxacycline (2.32%) et aucune résistance vis-à-vis de la gentamicine n'a été enregistrée (Tableau VI).

**Tableau VI :** Résistance des souches de *S. aureus* (n=43) vis-à-vis les antibiotiques testés

Antibiotique	Résistantes	Intermédiaires	Sensibles
	Nombre (%)	Nombre (%)	Nombre (%)
OX	34(79%)	00(0%)	03(6,97%)
C	01(2,32%)	03(6,97%)	14(32,55%)
DO	01(2,32%)	02(4,65%)	19(44,18%)
LE	08(18,60%)	00(0%)	19(44,18%)
RIF	02(4,65%)	00(0%)	37(86,04%)
DA	02(4,65%)	01(2,32%)	22(51,16%)

P	33(76,74%)	00(0%)	02(4,65%)
GEN	00(0%)	01(2,32%)	14(32,55%)

OX : oxacilline ; C : chloramphénicol ; Va : vancomycine ; LE : lévofloxacine ; RIF : rifampicine ; DA : clindamycine ; DO : doxacycline ; P : pénicilline ; GEN : gentamicine.

**Tableau VII : Phénotypes des souches de *S. aureus* multi résistantes**

Numéro du prélèvement	Phénotype de multirésistance
1027	OX/ RIF/LE
1373	OX/ LE/RIF

Deux souches multi-résistantes sont isolées, soit avec une fréquence de 4.65%. Les deux souches avaient le même phénotype, qui est : OX-RIF-LE.

## 2. 4. Discussion

Les infections nosocomiales, désormais partie d'un ensemble plus vaste appelé infections associées aux soins, constituent un enjeu majeur de santé publique dans le monde entier, en raison de leur fréquence élevée et de la résistance bactérienne souvent importante, celle-ci aggrave de façon significative la morbidité et la mortalité hospitalière (*Stingre et Verdeil, 2010*).

Au cours de cette présente étude, 2798 prélèvements provenant de différents services hospitaliers ont été collectés, 43 prélèvements se sont révélés positifs, soit une fréquence de 1.53%. Ce taux obtenu est inférieur à ceux obtenus par *Aouati (2009)* et *Alioua (2015)*, qui ont annoncé des prévalences de l'ordre de 2.45% et 1.94%, respectivement. Un taux d'isolement de 4% a été observé dans une étude menée au CHU Nafissa Hamoud, d'Alger (*Menadi et Menai, 2020*).

Les prélèvements positifs sont principalement de type pus et hémoculture. Nos résultats rejoignent ceux de plusieurs auteurs (*Aouati, 2009 ; El Hamzaoui et al., 2009 ; Alioua, 2015 ; Menadi et Menai, 2020*). Selon *Benouda et El Hamzaoui (2020)*, la fréquence d'isolement de *S. aureus* est variable selon la nature du prélèvement.

L'étude de la résistance des souches isolées vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotique a montré de fortes résistances vis-à-vis de la pénicilline et de l'oxacilline. Nos résultats corroborent avec ceux de plusieurs études, qui ont signalé de fortes résistances vis-à-vis de la

pénicilline (*El Hamzaoui et al., 2009 ; Aouati, 2009 ; Boukhatem et al., 2015 ; Dilnessa et Bitew, 2016 ; Abulreesh et al., 2017 ; Menadi et Menai, 2020 ; Naimi et al., 2021*). Selon Batard et al (2005). Cette résistance est due à la production d'une pénicillinase, une  $\beta$ -lactamase qui hydrolyse le cycle  $\beta$ -lactame des pénicillines, les rendant inactives. Quant à l'oxacilline, cette molécule est utilisée pour la détection de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM). En revanche, l'oxacilline est un mauvais inducteur du gène *mecA*, codant pour la résistance à la méticilline (*Huang et al., 2011*).

Un taux de résistance relativement faible est observé vis-à-vis des fluoroquinolones (lévofloxacine). Ce taux est inférieur à celui rapporté par *Dilnessa et Bitew (2016)*, qui ont annoncé une résistance de l'ordre de 31.4% vis-à-vis de la ciprofloxacine. Une forte résistance vis-à-vis cette famille d'antibiotique a été enregistrée par *Naimi et al. (2021)*. En revanche, notre résultat corrobore avec ceux de *Aouati (2009)* et *Menadi et Menai (2020)*, qui ont observé des taux de résistance vis-à-vis de l'ofloxacine de l'ordre de 15% et 12.5%, respectivement. Notons que la résistance du *S. aureus* vis-à-vis les fluoroquinolones est due à l'acquisition progressive des mutations chromosomiques spontanées dans la cible de l'antibiotique ou par l'induction d'une pompe d'efflux multi-drogue (*Gheorghe et al., 2018*).

Pour la rifampicine, nous avons enregistré un taux de résistance de 4,65%, proche de celui observé par *Aouati (5%) en 2009*. Ce taux est inférieur à ceux observés par d'autres auteurs (*El Hamzaoui, 2009 ; Rebaihi, 2012*). L'utilisation de cet antibiotique en Algérie a été relativement délaissée au profit de nouvelles molécules, ce qui pourrait expliquer la restauration de son efficacité.

La résistance à la clindamycine est faible, elle est de 4,65%. Ce taux de résistance s'oppose aux résultats obtenus par *Alioua (2015)* et *d'Aouati (2009)*, qui ont enregistré des taux relativement élevés, de l'ordre de 17.6% et 42.5%, respectivement. En revanche, des résistances relativement faibles ont été observés par certains auteurs (*Dilnessa et Bitew, 2016 ; Naimi et al., 2021*). Selon *Kasten (1999)*, plusieurs mécanismes peuvent assurer une résistance à ces antibiotiques, le plus connu est une modification de la cible ribosomale. Les enzymes en causes sont des méthylases, qui empêchent la fixation des antibiotiques au groupe MLS et leur action.

Concernant la gentamicine, toutes les souches isolées étaient sensibles à cette molécule. En revanche, des résistances vis-à-vis de cette molécule ont été observées par certains auteurs (*Alioua, 2015 ; Boukhatem et al., 2015 ; Dilnessa et Bitew, 2016 ; Naimi et al., 2021*). La

résistance acquise aux aminosides peut être assurée par trois mécanismes, le premier consiste en des mutations au niveau des gènes codants pour les protéines ribosomales, ce mécanisme est rapporté chez les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la streptomycine. Le second résulte des mutations touchant la perméabilité de l'antibiotique et le troisième mécanisme est assuré par la production d'enzymes inactivatrices (*Lyon et Shurray, 1987 ; Chambers, 2009*).

Une faible résistance est observée contre le chloramphénicol, avec un taux 2,32 %. Ce résultat est proche de celui de *Rebiahi (2012)*.

### Conclusion

*Staphylococcus aureus* tient une place très importante aussi bien dans les infections communautaires que dans les infections nosocomiales. Vivant entre le commensalisme et la pathogénicité, les staphylocoques ont développé des stratégies intéressantes pour faire de l'environnement hospitalier une niche écologique.

Durant cette étude, des souches d'origine hospitalières ont été isolées et soumises à une caractérisation phénotypique, via l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques. Les résultats obtenus indiquent que la prévalence de *S. aureus* au sein de l'hôpital est variable. En effet, elle est plus importante dans les prélèvements des pus (4.17%), contrairement aux autres prélèvements analysés. L'étude de la résistance des isolats montre de fortes résistances vis-à-vis des bêtalactamines (pénicilline et oxacilline). En revanche, de faibles résistances à l'encontre des autres molécules ont été enregistrées. Deux souches multi résistantes ont été confirmées.

Un suivi régulier des isolats et la détermination de la sensibilité aux antibiotiques semblent être nécessaires pour mieux guider l'antibiothérapie et préserver l'efficacité des antibiotiques, d'où le rôle du laboratoire de microbiologie.

# Références bibliographiques

---

## Références bibliographiques

### A

- **Accarias, S.** (2014). Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat : Immunologie et Maladies infectieuses. Toulouse : Université Paul Sabatier Toulouse III, 212p.
- **Agregé S., Belguith J., Hadiji R.** (2015) .Généralités sur les Anti-infectieux, en médecine vétérinaire.Ecole Nationale de médecine vétérinaire Sidi thabet. p13-14.
- **Alioua, M. A.** (2015). Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méticilline. Thèse doctorat : microbiologie appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, 221p
- **Aouati, H.** (2009). Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire de magister : Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes. Université Mentouri Constantine, 94p.

### B

- **Batard, É., El Kouri, D., Potel, G.** (2007). Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC - Maladies Infectieuses, 4(3), 1–8.
- **Biljana M.S., Dinic M., Orlovic J. et Babic T** (2015). « *Staphylococcus aureus*: immunopathogenesis and humanimmunity ». *Acta FacultatisMedicaeNaissensis*, 32(4), 243-257.
- **Bonilla, H., Huband, M. D., Seidel, J., Schmidt, H., Lescoe, M., McCurdy, S. P., Quinn, J. P.** (2010). Multicity Outbreak of Linezolid-Resistant *Staphylococcus epidermidis* Associated with Clonal Spread of acfr-Containing Strain. *Clinical Infectious Diseases*, 51(7),796–900.
- **Boukhatem, MN, Ferhat, MA., Hadj Mohand, R., Lalaoui, N.** (2015). Prevalence and antibiotic resistance of staphylococci isolated from Kolea hospital (Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 7(2), 260-270.

### C

- **Caby F, Bismuth R, Bossi P.** Infections à staphylocoques. EMC - Traité Médecine AKOS. 2010;5(1):1–7
- **Cameron, D. R., Mortin, L. I., Rubio, A., Mylonakis, E., Hollering, R. C., Eliopoulos, G.M., Peleg, A. Y.** (2015). Impact of daptomycin resistance on *Staphylococcus*. *Virulence*, 6(2),127–131.
- **Chang et al., 2003).** (Chang, S., Sievert, D. M., Hageman, J. C., Boulton, M. L., Tenover, F. C., Downes, F. P.,... & Cardo, D. (2003). Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*containing the vanA resistance gene. *New England Journal of Médecine*, 348(14), 1342-1347.)
- **Chavakis T., Wiechmann K., PreissnerK.T. et Herrmann M.** (2005). « *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: The role of bacterial “secreteableexpandedrepertoireadhesivemolecules” (SERAM) in disturbing host defensesystems». *Thrombosis and Haemostasis*, **94**, 278–285
- **Craft, K. M., Nguyen, J. M., Berg, L. J., Townsend, S. D.** (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. *Med ChemComm*, 10(8), 1231–1241
- **Cross, S.** (2013). Underwood's Pathology: with student consult Access. Elsevier Health Sciences.

### D

- **Da Silva, A.C ., Rodrigues, M.X ., & Cirone Silva, N.C.** (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food and the prevalence in Brazil: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(1), 347-356.
- **De Buyser M. L., Sutra L.** (2005). *Staphylococcus aureus*. In: Federighi, M. Bactériologie alimentaire – Compendium d’hygiène des aliments. Paris : Economica, 25-51p.
- **Denis, F., Cécile, M., Martin, C., Bengen, E., Quentin, R.** (2007). Bactériologie médicale 2ème édition : Techniques usuelles. Paris : Edition Masson, 573p.
- **Denis, F., Cécile, M., Martin, C., Cattoir, V.** (2016). Bactériologie médicale 3ème Edition : Techniques usuelles. Paris : Elsevier Masson, 600p.
- **Dilnessa, T., Bitew, A.** (2016). Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples at Yekatit 12 hospital medical college, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 16, 398.
- **Dortet, L., R. Bonnin, A. Jousset, L. Gauthier, et T. Nass.** 2016. « Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance ! » *J Anti-Infect*, no 18 : 139-59.
- **Doulgeraki, A.I., Di Ciccio, P., Ianieri, A., & Nychas, G. J. E.** (2016). Methicillin-resistant food-related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology*, 168, 1-15.
- **Dubrous, P., Cuguillère, A., Gendrot, A., & Koeck, J. L.** (2007). Pneumopathie nécrosante à *Staphylococcus aureus* producteur de la leucocidine de Pantone-Valentine. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 65, No. 3, pp. 277-281).
- **Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Boisset, S., Reverdy, M. É., Tristan, A., Vandenesch, F.** (2010). Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. *Médecine/sciences*, 26(11), 943–949.

## E

- **El Hamzaoui, S., Benouda, A., Allali, F., Abouqual, R., Elouennass, M.** (2009). Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. *Médecine et Maladie infectieuse*, 39, 891-895.

## F

- **Febler, A. T., Li, J., Kadlec, K., Wang, Y., Schwarz, S.** (2018). Antimicrobial Resistance Properties of *Staphylococcus Aureus*, 57–85.
- **Fournier, B., Hooper, D. C.** (1998). Effects of mutations in GrlA of topoisomerase IV from *Staphylococcus aureus* on quinolone and coumarin activity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(8), 2109–2112.
- **Foster, T.J.** (2019). Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 6 P : 484-488.
- **Freeman, C. L., Freeman, C. K.** (2006). *Staphylococcus aureus* infections. 2ème édition. Philadelphia: Chelsea House Publishers, p 26-41
- **Fuda, C. C. S., Fisher, J. F., Mobashery, S.** (2005).  $\beta$ -Lactam resistance in *Staphylococcus aureus* : the adaptive resistance of a plastic genome. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(22), 2617–2633.

## G

- **Garrity, GM., Johnson, KL., Bell J. and Searles, DB.** (2007). *Bergey's Manual of*

SystematicBacteriology. 2éme Edition. New York.

- **Garrity G.M., LilburnT.G., Cole J.R., harrison S.H. Euzéby J. et Tindall B.J.** (2007). « Taxonomicoutline of bacteria and archaea release 7.7 Part 9- The bacteria: Phylum "*Firmicutes*" Class "*Bacilli*" »
- **Genestirr A.L., Michaliet M.C., Prevost G., Bellot G., Chalabreysse C., Peyrol S., Thivolet F., Etienne J., Lina G., Vallette F.M., Vandenesch F. et Genestier L.** (2010). « Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc*, Paris
- **Gómez Casanova, N., Siller Ruiz, M., Muñoz Bellido, J. L.** (2017). Mechanisms of resistance to daptomycin in *Staphylococcus aureus*. *Revista espanola de quimioterapia :publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*, 30(6), 391–396.

## H

- **HANNEKINE J.A., OSTYN A., GUILLIER F., HERBIN S., PRUFER A.L., et DRAGACCI S.** (2010). « How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized? ». *ToxinsReview*, 2, 2106-2116.
- **Harris, P.** (2015). Clinical Management of Infections Caused by *Enterobacteriaceae* that Express Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase and AmpC Enzymes. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 36(01), 056–073.
- **Hobson, C., Chan, A. N., Wright, G. D.** (2021). The Antibiotic Resistome: A Guide for the Discovery of Natural Products as Department Antimicrobial Agents. *Chemical Reviews*, 121(6), 3464–3494.)
- **Hooper, D. C., Jacoby, G. A.** (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354(1), 12–31.
- **Howden, B. P., Grayson, M. L.** (2006). Dumb and Dumber--The Potential Waste of a UsefulAntistaphylococcal Agent: Emerging Fusidic Acid Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*, 42(3), 394–400.

## J

- **Jevons, M.P.** (1961). Celbenin-resistantstaphylococci. *British Medical Journal*, 1, 124–125.

## K

- **Kang, H.-K., Park, Y.** (2015). Glycopeptide Antibiotics: Structure and Mechanisms of Action. *Journal of Bacteriology and Virology*, 45(2), 67.
- **Kobayashi, S. D., Malachowa, N., & DeLeo, F. R.** (2015). Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* abscesses. *The American journal of pathology*, 185(6), 1518-1527
- **Kim, M.** (2019). *Staphylococcus aureus* Toxins: FromTheirPathogenicRoles to Antivirulence TherapyUsing Natural Products. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 24, 424-435.

## L

- **Lai-kuen, V., Meyssonier, V., Lecso, M., Beigelman, C., Bricaire, F., & Caumes, E.** (2009). Pneumonie nécrosante à *Staphylococcus aureus*. *La Lettre de l'infectiologue*, 24(3), 106-107.
- **Lakhundi, S., &Zhang, K.** (2018). Methicillin-resistant*Staphylococcus aureus*:

Molecular characterization, evolution, and epidemiology. *ClinicalMicrobiologyReviews*, 31(4), e00020-18.

- **Leclercq, R.** (2002). Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 21(5), 375–383.
- **Le Loir, Y., Gantier, M.** (2010). «Monographie de la microbiologie: Staphylococcus aureus». Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- **Le Loir, Y., Gantier, M.** (2009). Staphylococcus aureus. Paris: Lavoisier, 284 p
- **Le Minor, L. and Veron, M.** (1982). « Bactériologie Médicale », 1ère édition, Flammarion, Paris
- **Le Minor, L. and Veron, M.** (1990). Bactériologie Médicale «Staphylococcus et Micrococcus» J.Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. P : 773-79
- **Libert, N., Batjom, E., Cirodde, A., De Rudnicki, S., Grasser, L., Borne, M., & Brinquin, L.** (2009). Traitements antitoxiniques et pneumopathies nécrosantes à Staphylococcus aureus sécréteurs de leucocidine de Panton-Valentine. *Médecine et maladies infectieuses*, 39(1), 14 20.
- **Lin, Z., Kotler, D. P., Schlievert, P. M., & Sordillo, E. M.** (2010). Staphylococcal enterocolitis: forgotten but not gone?. *Digestive diseases and sciences*, 55(5), 1200-1207.
- **Long J.P., Hart J., Albers W. et Karpal F.A.** (2010). « Les Facteurs de Virulence Autres que les Entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », Tec et Doc, Paris.
- **Lowy, F. D.** (2003). Antimicrobial resistance: the Example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation*, 111(9), 1265–1273.

## M

- **Menadi, S., Menai, L.** (2020). Isolement, Identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de différents types de prélèvements au CHU Nafissa Hamoud (Parnet) Alger. Mémoire de master en biologie. Université de Blida 1, p1-99.
- **McGuinness, W. A., Malachowa, N., DeLeo, F. R.** (2017). Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Yale journal of biology and medicine*, 90(2), 269–281.
- **M., Martin, C., Cattoir, V.** (2016). Bactériologie médicale 3èmeEdition : Techniques usuelles. Paris : Elsevier Masson, 600p.
- **Monaco, M., Pimentel de Araujo, F., Cruciani, M., Coccia, E. M., Pantosti, A.** (2016). Worldwide Epidemiology and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus Aureus*, 21–56.
- **Mortaza, S., Zahar, J. R., & Kouatchet, A.** (2010). Pneumonie à Staphylococcus aureus: quand faut-il l'évoquer et comment la traiter?. *Réanimation*, 19(4), 304-309.
- National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID6087, Methicillin [En ligne].

## N

- **Naimi, H.M., André, C., Bes, M., Tristan, A., Gustave, C.A., Vandenesch, F., Nazari, Q.A., Laurent, F., Dupieux, C.** (2021). Antibiotic resistance profile and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated in hospitals in Kabul, Afghanistan. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 40, 1029-1038.

## O

- **Otsuka, T., Zaraket, H., Takano, T., Saito, K., Dohmae, S., Higuchi, W., Yamamoto, T.** (2007). Macrolide–lincosamide–streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(3),325–327
- **Otto, M.** (2014). Staphylococcus aureus toxins. *Current Opinion in Microbiology*, 17, 32– 37.

## P

- **Palma, M.** (1999). Fibrinogen-bindingproteinsfrom *Staphylococcus aureus*. 10.13140/RG.2.2.21009.86884.
- **Pandey, N, Cascella, M.** (2019). BetaLactam Antibiotics. [Mise à jour le 17 juillet 2021].
- Dans: Stat Pearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing. Disponible sur :<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545311/>.
- **Parija, S. C.** (2009). Adenovirus. *Textbook of Microbiology and Immunology* (pp. 509- 512). Haryana.
- **Peacock, S. J., Paterson, G. K.** (2015). Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annual Review of Biochemistry*, 84(1), 577–601.
- **Piémont, Y.** (1999).Actualités sur les toxines de *Staphylococcus aureus*. *La Lettre de L’Infectiologue*

## Q

- **Quincampoix, J., Mainardi, J.** (2001). Mécanismes de résistance des Cocci à Gram positif Mechanisms underlying resistance of Gram-positive bacteria. *Réanimation*, 10(3), 267–275.

## R

- **Ravat, F., J. Latarjet, H. Gosshans, J.P. comparin, C. Vasseur, et J.L. Foyatier.** (2000).
- « Pharmacologie clinique des fluoroquinolones chez le brûlé ». *Brûlures* 1 (4) : 1-205.
- **Rebiahi S. (2012).** Caractérisation de souches des *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen.P :3, 4, 10,11.
- **Robert D.** (2013). « *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l’exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive ». Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université d’ANGERS Des Sciences Pharmaceutiques et d’Ingénierie de la Santé, France.
- **Roychoudhury, S., Catrenich, C. E., McIntosh, E. J., McKeever, H. D., Makin, K. M.,Koenigs, P. M., Ledoussal, B.** (2001). Quinolone Resistance in *Staphylococci*: Activities of New Nonfluorinated Quinolones against Molecular Targets in Whole Cells and Clinical Isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(4), 1115–1120.

## S

- **Sakar, H., Mumcuoğlu, I., Aksu, N., Karahan, Z.C., Kurşun, S., Kuştimur, S.** (2012). The rare genes related to resistance to macrolide-lincosamide and streptogramin B group antibiotics among coagulase-negative *staphylococci*. *Mikrobiyol Bul. Apr. Turkish.* ;46(2):170-9
- **Schwan, W.R.** (2019). *Staphylococcus aureus* Toxins. Switzerland : MDPI, 204p
- **Singh, S. B., & Barrett, J. F.** (2006). Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochemical pharmacology*, 71(7), 1006-1015.
- **Speer, B. S., Shoemaker, N. B., Salyers, A. A.** (1992). Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clinical microbiology reviews*, 5(4), 387–399.
- **Spoor, L.E., McAdam, P.R., Weinert, L.A., Rambaut, A., Hasman, H., Aarestrup, F.M., Kearns, A.M., Larsen, A.R., Skov, R.L., & Fitzgerald, J.R.** (2013). Livestock Origin for a Human Pandemic Clone of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *mBio*, 4(4), e00356-13.

## T

- **Tam, K., Torres, V. J.** (2019). *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. *Microbiology spectrum*, 7(2), 10.1128/microbiolspec.GPP3-0039-2018.
- **Thakkar, S., & Agrawal, R.** (2010). A case of *Staphylococcus aureus* enterocolitis: a rare entity. *Gastroenterology & hepatology*, 6(2), 115.
- **Tolmasky, M., E.** (1999). Bacterial resistance to aminoglycosides and beta-lactams: the Tn1331 transposon paradigm. *Frontiers in Bioscience*, 5(1), d20.
- **Touaitia, R.** (2016). *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse de doctorat : Microbiologie. Annaba : Université Badji Mokhtar Annaba, 125p

## U

- **Udo, E. E., Boswihi, S. S., Mathew, B., Noronha, B., Verghese, T.** (2016). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying florfenicol exporter (fexA)-mediated chloramphenicol resistance. of Microbiology, Faculty of Medicine, Kuwait University. Kuwait.

## V

- **Van Bambeke, F., M-P. Mingeot-Leclercq, Y. Glupezynski, et PM. Tulkens.** 2017. « Mechanisms of action ». *Infectious Diseases*, Elsevier, 1162-80.
- **Van Bambeke, Françoise, et Paul Tulkens.** 2009. « Syllabus national belge de pharmacologie <https://www.farm.ucl.ac.be/FARM2129/20092010/vanbambeke/syllabusantibiotiques-antifongiques-2009>.
- **Vestergaard, M., Frees, D., Ingmer, H.** (2019). Antibiotic Resistance and the MRSA

- Problem. *Microbiology Spectrum*, 7(2).
- **Vincenot, F., Saleh, M., Prévost, G.** (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2008(407), 61–69.

## W

- **Walsh, C., Wencewicz, T. A.** (2016). Antibiotics: Challenges, mechanisms, opportunities  
1ère édition. United States: ASM Press, 447 p.
- **Walsh, T. R., Howe, R. A.** (2002). The Prevalence and Mechanisms of Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annual Review of Microbiology*, 56(1), 657–675.
- **Willoquet, g., talbert, m., gervais, r., & calop, j.** (2015). *le guide pharmaco-clinique : le moniteur des pharmacies*.

## Y

- **Yala D., Merad A.S., Mohamedi D et Ouar Korich M.N.** (2001). Classification et modes d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°9).
- **Yao, W., Xu, G., Li, D., Bai, B., Wang, H., Cheng, H., Zheng, J., Sun, X., Lin, Z., Deng, Q., Yu, Z.** (2019). *Staphylococcus aureus* with an erm-mediated constitutive macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotype has reduced susceptibility to the new ketolide, solithromycin. *BMC infectious diseases*, 19(1), 175.

# Annexes

---

**Tableau 1 : Provenance des prélèvements**

	<b>Numéro du prélèvement</b>	<b>service</b>	<b>sexe</b>	<b>âge</b>	<b>Origine du prélèvement</b>
<b>Pus</b>	5154	hémodialyse	masculin	adulte	Pus
	5149	hémodialyse	masculin	adulte	cathéter
	5144	P.U.chirurgie	féminin	adulte	Pus
	5137	Hemato-pediatrie	féminin	enfants	Pus
	5140	néphrologie	masculin	adulte	Pus
	5096	P.U.medcine	masculin	adulte	Pus
	3476	P.U.medcine	masculin	adulte	Pus
	3467	P.U.medcine	masculin	adulte	Pus
	3042	P.U.chirurgie	féminin	adulte	Pus
	3401	cardiologie	féminin	adulte	Pus
	3021	Externe	féminin	adulte	Pus
	2986	néphrologie	masculin	adulte	Pus
	2753	p. chirurgie	féminin	adulte	Pus
	2759	néphrologie	masculin	adulte	Cathéter
	2642	néphrologie	masculin	adulte	Cathéter
	5231	p.medcine	masculin	adulte	Cathéter
	5150	p.u.medcine	masculin	adulte	Pus
	5149	p.u.medcine	masculin	adulte	Pus
	5140	néphrologie	masculin	adulte	Pus
	<b>O.R.L</b>	5252	Externe	féminin	adulte
1886		pédiatrie	masculin	enfant	Prélèvement nasal
1053		Externe	masculin	adulte	Crachat
420		pédiatrie	masculin	enfant	Prélèvement nasal
<b>E.C.B.U</b>	5510	P.medcine	féminin	adulte	urines
	5317	externe	féminin	adulte	urines
	5141	Externe	féminin	adulte	Urines
	391	neurologie	masculin	adulte	LCR
	382	neurologie	masculin	adulte	LCR
	76	neurologie	féminin	adulte	LCR

	45	p.u.chirurgie	féminin	adulte	LCR
	41	neurologie	féminin	adulte	LCR
	1813	p. chirurgie	féminin	adulte	LCR
	1373	néonatalogie	masculin	enfant	LCR
	1215	p.medicine	masculin	adulte	Sang
	536	Pneumologie	féminin	adulte	Sang
	431	réanimation	féminin	adulte	Sang
	337	infectiologie	masculin	adulte	Sang
	1125	pédiatrie	féminin	enfant	Sang
	1082	p.medicine	masculin	adulte	Sang
	1044	pédiatrie	masculin	adulte	Sang
	1027	Externe	masculin	adulte	Sang
	1004	p.medicine	masculin	adulte	Sang
	836	pédiatrie	féminin	enfant	Sang
	1203	oncologie	féminin	adulte	Sang

**Tableau II :** Profils de résistance des souches de *S. aureus* isolées d'hémocultures

Numéros des prélèvements	Diamètres des zones d'inhibition								
	OX <sub>5</sub>	C	Va	DO	Le	Rif	Da	P	GN
536	80 <sup>S</sup>		18 <sup>S</sup>		31 <sup>S</sup>	31 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	
431	06 <sup>R</sup>	06 <sup>R</sup>	20 <sup>S</sup>			35 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	
337	20 <sup>R</sup>		21 <sup>S</sup>		32 <sup>S</sup>	33 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	
1125	06 <sup>R</sup>		13 <sup>R</sup>	23 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>	35 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>	06 <sup>R</sup>	
1082	18 <sup>R</sup>			23 <sup>S</sup>		24 <sup>S</sup>	20 <sup>R</sup>	18 <sup>R</sup>	
1027	06 <sup>R</sup>		18 <sup>S</sup>	28 <sup>S</sup>	06 <sup>R</sup>	06 <sup>R</sup>	31 <sup>S</sup>		
836	16 <sup>R</sup>		18 <sup>S</sup>		39 <sup>S</sup>	43 <sup>S</sup>	32 <sup>S</sup>	22 <sup>R</sup>	30 <sup>S</sup>
1004	06 <sup>R</sup>	20 <sup>I</sup>	15 <sup>S</sup>		25 <sup>S</sup>	27 <sup>S</sup>			
1215	14 <sup>R</sup>	25 <sup>S</sup>		23 <sup>S</sup>		27 <sup>S</sup>	18 <sup>R</sup>	06 <sup>R</sup>	

**Tableau III** : Profils de résistance des souches de *S. aureus* isolées de LCR

Numéros des prélèvements	Diamètres des zones d'inhibition								
	OX <sub>5</sub>	C	VA	DO	LE	RIF	DA	P	GN
382	11 <sup>R</sup>				28 <sup>S</sup>	30 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	32 <sup>S</sup>
76		28 <sup>S</sup>	21 <sup>S</sup>		13 <sup>R</sup>	37 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	18 <sup>S</sup>
45	06 <sup>R</sup>				48 <sup>S</sup>	40 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	30 <sup>S</sup>
41	19 <sup>R</sup>		18 <sup>S</sup>		28 <sup>S</sup>	32 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	24 <sup>S</sup>
1813		27 <sup>S</sup>	20 <sup>S</sup>			28 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	28 <sup>S</sup>
1373	06 <sup>R</sup>		20 <sup>S</sup>		13 <sup>R</sup>	06 <sup>R</sup>			17 <sup>S</sup>

**Tableau IV** : Profils de résistance des souches de *S. aureus* isolées des pus

Numéros des prélèvements	Diamètres des zones d'inhibition								
	OX <sub>5</sub>	C	VA	DO	LE	RIF	DA	P	GN
2642	06 <sup>R</sup>	29 <sup>S</sup>	18 <sup>S</sup>	24 <sup>S</sup>	14 <sup>R</sup>	33 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>	16 <sup>R</sup>	17 <sup>S</sup>
2753	06 <sup>R</sup>	27 <sup>S</sup>	17 <sup>S</sup>	16 <sup>S</sup>	06 <sup>R</sup>	23 <sup>S</sup>	20 <sup>I</sup>	06 <sup>R</sup>	
2759	06 <sup>R</sup>	20 <sup>S</sup>	22 <sup>S</sup>	30 <sup>S</sup>		35 <sup>S</sup>	28 <sup>S</sup>		14 <sup>I</sup>
2977	06 <sup>R</sup>			06 <sup>R</sup>	19 <sup>S</sup>	31 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>		
2986			23 <sup>S</sup>	32 <sup>S</sup>	33 <sup>S</sup>	40 <sup>S</sup>	31 <sup>S</sup>	19 <sup>R</sup>	
3021	06 <sup>R</sup>		35 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>	30 <sup>S</sup>		27 <sup>S</sup>	09 <sup>R</sup>	
3042	23 <sup>S</sup>		22 <sup>S</sup>				29 <sup>S</sup>	40 <sup>R</sup>	
3401	20 <sup>R</sup>		19 <sup>S</sup>	28 <sup>S</sup>	28 <sup>S</sup>	24 <sup>S</sup>	24 <sup>S</sup>		21 <sup>S</sup>
3467	20 <sup>R</sup>	32 <sup>S</sup>	23 <sup>S</sup>		35 <sup>S</sup>			20 <sup>R</sup>	30 <sup>S</sup>
3468	21 <sup>R</sup>	31 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>		37 <sup>S</sup>	31 <sup>S</sup>		22 <sup>R</sup>	30 <sup>S</sup>
3476	13 <sup>R</sup>	35 <sup>S</sup>	21 <sup>S</sup>		34 <sup>S</sup>	32 <sup>S</sup>		13 <sup>R</sup>	28 <sup>S</sup>
5096			20 <sup>S</sup>	15 <sup>I</sup>	06 <sup>R</sup>		30 <sup>S</sup>	12 <sup>R</sup>	
5137	10 <sup>R</sup>			17 <sup>S</sup>	20 <sup>S</sup>	30 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>	06 <sup>R</sup>	
5140	17 <sup>R</sup>		21 <sup>S</sup>			26 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>	06 <sup>R</sup>	

5144	06 <sup>R</sup>		22 <sup>S</sup>			25 <sup>S</sup>	28 <sup>S</sup>	06 <sup>R</sup>	
5149	15 <sup>R</sup>			24 <sup>S</sup>	27 <sup>S</sup>	25 <sup>S</sup>	30 <sup>S</sup>	18 <sup>R</sup>	
5150	23 <sup>S</sup>	26 <sup>S</sup>	20 <sup>S</sup>	19 <sup>S</sup>	10 <sup>R</sup>		25 <sup>S</sup>		
5154	10 <sup>R</sup>		16 <sup>S</sup>	17 <sup>S</sup>			27 <sup>S</sup>	12 <sup>R</sup>	
5231	20 <sup>R</sup>	15 <sup>I</sup>		24 <sup>S</sup>		32 <sup>S</sup>	23 <sup>S</sup>		
5245	06 <sup>R</sup>			15 <sup>I</sup>	28 <sup>S</sup>	30 <sup>S</sup>	24 <sup>S</sup>	10 <sup>R</sup>	
5438	15 <sup>R</sup>	21 <sup>S</sup>		17 <sup>S</sup>		25 <sup>S</sup>	27 <sup>S</sup>	36 <sup>S</sup>	

**Tableau V :** Profils de résistance des souches de *S. aureus* isolées d'ORL

Numéros des prélèvements	Diamètres des zones d'inhibition								
	OX5	C	VA	DO	LE	RIF	DA	P	GEN
419		21 <sup>S</sup>	22 <sup>S</sup>			31 <sup>S</sup>		18 <sup>R</sup>	29 <sup>S</sup>
420	21 <sup>R</sup>		20 <sup>S</sup>			33 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	25 <sup>S</sup>
1053	16 <sup>R</sup>		21 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	33 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	
1886	15 <sup>R</sup>	26 <sup>S</sup>		19 <sup>S</sup>		25 <sup>S</sup>		06 <sup>R</sup>	

**Tableau VI :** Profils de résistance des souches de *S. aureus* isolées d'ECBU

Numéros des prélèvements	OX	C	VA	DO	LE	RIF	DA	P	GN
5510		25 <sup>S</sup>		25 <sup>S</sup>		35 <sup>S</sup>	28 <sup>S</sup>	30 <sup>S</sup>	
5317	06 <sup>R</sup>	16 <sup>I</sup>			23 <sup>S</sup>	31 <sup>S</sup>	27 <sup>S</sup>	28 <sup>R</sup>	
5141	06 <sup>R</sup>		15 <sup>S</sup>	16 <sup>S</sup>		24 <sup>S</sup>		15 <sup>R</sup>	

**Tableau VII :** Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20 Staph

Tests	Substrats	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
<b>0</b>	Aucun	Témoin négatif	<b>Rouge</b>	<b>-</b>
<b>GLU</b>	D-glucose	Témoin positif	<b>Rouge</b>	<b>Jaune</b>
<b>FRU</b>	D-fructose	Acidification à partir du carbohydrate		
<b>MNE</b>	D-mannose			
<b>MAL</b>	Maltose			
<b>LAC</b>	Lactose			
<b>TRE</b>	D-tréhalose			
<b>MAN</b>	D-mannitol			
<b>XLT</b>	Xylitol			
<b>MEL</b>	D-melibiose			
<b>NIT</b>	Nitrate de potassium			
			<b>Incolore/rose</b>	<b>Rouge</b>
<b>PAL</b>	B-naphtyl ac.phosphate	Phosphate alcaline	<b>ZYM A+ZYM B/10min</b>	
			<b>Jaune</b>	<b>Violet</b>
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	<b>VP1+VP2/10min</b>	
			<b>Incolore/rose</b>	<b>Violet/rose</b>
<b>RAF</b>	Raffinose	Acidification à partir du carbohydrate	<b>Rouge</b>	<b>Jaune</b>
<b>XYL</b>	Xylose			
<b>SAC</b>	Saccharose			
<b>MDG</b>	$\alpha$ -méthyl-D- glucosamine			
<b>NAG</b>	N-acétyl-glucosamine			
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	<b>Jaune</b>	<b>Orange/rouge</b>
<b>URE</b>	Urée	Uréase	<b>Jaune</b>	<b>Rouge/violet</b>

**Tableau VIII** : Les diamètres critiques des antibiotiques testés à *S.aureus*.

Famille	antibiotique	Abréviation	Charge en Ug	Diamètre critique		Références
				S	R	
β-lactamines	Pénicilline	P	10UI	≥29	28	CLSI 2020
	Oxacilline	OX	1	≥21	22	CLSI 2020
	céfoxitine	FOX	30	≥25	24	CLSI 2020
Aminosides	Amikacine	AK	30	-	-	
	Gentamicine	GEN	10	≥15	≤12	CLSI 2020
	kanamycine	K	30	≥18	18	CASFM 2022
Macrolides	Erythromycine	ERY	15	≥23	≤13	CLSI 2020
	clindamycine	DA	2	≥21	≤14	CLSI 2020
Synergistines	pristinamycine		15	≥20	≤20	CASFM 2017
Fluoroquinolones	Ofloxacine	OFX	5	≥18	≤14	CLSI 2020
	Ciprofloxacine	CIP	5	≥21	≤15	CLSI 2020
	Lévofloxacine	LEV	5	≥19	≤15	CLSI 2020
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30	≥18	≤12	CLSI 2020
Glycopeptides	Vancomycine	VA	30	≥15	-	CASFM 2017
	Teicoplanine	TEC	30	-	-	
Rifamycines	Rifampicine	RIF	5	≥20	≤16	CLSI 2020
Inhibiteur de synthèse de l'acide folique	Trimethoprim	SXT	25	≥16	≤10	CLSI 2017
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30	≥19	≤14	CLSI 2020
	Doxycycline	DO	30	≥16	≤12	CLSI 2020

## Composition des milieux de culture

### 1- Muller Hinton

- Extrait de viande : 3g/l
- Hydrolysate acide de caséine : 17,5g/l
- Amidon: 1,5g/l
- Agar: 16g/l

PH : 7,3

Préparation : Dissoudre 38 g/l dans un litre d'eau distillée.

### 2- Gélose Chapman.

- Tryptone : 5g/l
- Extrait de levure : 3g/l
- Extrait de viande : 3g/l
- Chlorure de sodium : 70g/l
- Péptone Bactériologique : 10g/l
- Mannitol: 10g/l
- Rouge de Phénol: 0,05g/l
- Agar: 7,4±0,1

Préparation : Dissoudre 119,05 g/l dans un litre d'eau distillée.

### Mode opératoire de la coloration de Gram

- **Préparation des frottis :**

- Préparer une lame stérile dégraissée à l'alcool
- Mettre une goutte d'eau distillée stérile sur la lame
- Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur, la délayer dans la goutte puis l'étaler sur la lame
- Fixation du frottis à la chaleur

- **Coloration :**

- Recouvrir la lame avec la solution de violet de Gentiane pendant 1 minute
- Déverser la solution pour éliminer l'excès du colorant
- Recouvrir de nouveau la lame avec la solution de Lugol pendant 2x45 secondes
- Décolorer par l'alcool goutte à goutte jusqu'à l'apparition de la première goutte qui tombe incolore 30 secondes
- Laver à l'eau immédiatement pour arrêter l'action de l'alcool
- Recouvrir la lame de la Fuschine pendant 1 minute
- Rincer à l'eau
- Sécher la lame légèrement devant le bec bunsen
- Observer au microscope optique avec l'objectif à immersion