

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. Mira de Béjaïa



Faculté des sciences et de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Filière : Science Biologique

Option : Microbiologie Fondamentale

Réf :.....

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme

Master

Thème

**Evaluation de la fréquence des souches de
SARM dans les selles des enfants**

Présenté par :

KHEBAT Chahinez et SELLI Tinhinane

Soutenue le : 22/09/2021

Devant le jury composé de :

Mme MOUICI K.

MCA Présidente

Mme BENACHOUR K.

MCA Encadreur

Mme SALMI A.

MCB Examinatrice

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Nous remercions Dieu de nous avoir donné la force, la santé, le courage et la patience de pouvoir accomplir ce travail.

Nous exprimons notre remerciement les plus sincères à notre promotrice Mme BENACHOUR KARIMA, pour son encadrement, ses conseils, son orientation et ses encouragements tout au long de ce travail.

Notre profonde reconnaissance va également à Mme MOUICI de nous avoir honoré en président le jury.

Nous remercions, Mme SALMI de nous avoir fait l'immense plaisir et l'honneur d'examiner ce modeste mémoire.

Enfin, nous tenons également à remercier toute personne, ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces



Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que

Je dédie ce mémoire à...

- *Celui qui m'a indiqué la bonne voie et qui a sacrifié sa vie pour mon bien-être, mon père ;*
- *Celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et qui m'a beaucoup aidée, encouragée et soutenue le long de mon parcours scolaire et universitaire, ma chère mère ;*
- *Mes chères et adorables sœurs Souad Faïza et Siham ;*
- *Mes chères frères Salim et Hilal*
- *Toutes mes amies ma famille qui m'ont aidé de près ou de loin et qui m'ont accompagnée durant toutes ces années, à leurs tête ma chère Sissi*
- *Toute personne qui m'a soutenue lors de l'élaboration de ce modeste travail*
- *Mon binôme Tinhinane et sa famille*
- *Une dédicace spéciale pour la personne qui m'a soutenue depuis le début qui était toujours à mes côtés, Darling*

Chahinez

Dédicaces

À mes chers parents qui me sont soutenu dans toute ma vie je leur exprime ma profonde gratitude pour leur amour et soutien moral ainsi que pour leur encouragement durant tout mon parcours vers un avenir meilleur.

Je dédie ce mémoire à...

- *Mon cher frère HAMZA et ma chère sœur CYLIA, mes Chers cousins KOUSEILA, YOUBA, MASIN, YANIS, ASALAS et mes cher cousines SAMRA, ZAHRA, RAHMA, YASMINE et THIZIRI.*
- *Mes chères amis SABRINA, DJOUHRA, LAMIA, BILAL, LAMINE et MON Binôme CHAHINEZ. A TOUS MA FAMILLE ET TOUS MES AUTRES AMIS.*
- *Ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'édition de ce Mémoire.*

Tinhinane

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADP	Adénosine Di-Phosphate
ARNr16s	Acide Ribonucléique ribosomique
BHIB	Bouillon cœur-cervelle
BN	Bouillon Nutritif
BSA	Sérum Albumine Bovine
CA-SFM	Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie
DNase	Désoxyribonucléase
DO	Densité Optique
EDIN	Epiderme différentiation inhibiteur
HA	Hyaluronique Acide
IPA	Institut Pasteur Alger
LPV	Leucocidine de pantovalentine
MRSA	Meticillino résistant <i>S.aureus</i>
ORL	oto-rhino-laryngologie (oreille, nez, larynx)
PLP	Protéine liant la pénicilline
PFTs	Toxines formant des pores
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SCN	<i>Staphylococcus aureus</i> à coagulase négative

Liste des figures

Figure n°1 : Microbiote intestinal.....	8
Figure n°2: Prélèvements avant et après incubation	11
Figure n°3 : Répartitions des prélèvements selon le sexe.....	15
Figure n°4: Répartition des prélèvements selon les catégories d'âge.....	15
Figure n°5 : Croissance de <i>Staphylococcus</i> présumé <i>aureus</i> sur milieu Chapman	16
Figure n°6 : Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> sous microscope optique (Gx100).....	17
Figure n°7: Mise en évidence de la catalase chez les <i>S.aureus</i>	17
Figure n°8 : Résultat positif de la coagulase.....	18
Figure n°9 : Fréquence des résultats de la coagulase.....	18
Figure n°10: Fréquence des résultats des prélèvements au niveau de l'anüs	18

Liste des tableaux

Tableau I : Caractéristiques des patients inclus dans l'étude	14
Tableau II: Résultats de l'antibiogramme	19
Tableau III: Répartition des porteurs de SARM selon Le sexe.....	20
Tableau IV : Répartition des porteurs de SARM selon l'âge	20

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les Staphylocoques	2
1. Historique.....	2
2. Taxonomie.....	2
3. Habitat.....	3
4. Caractères cytologique et biochimique	3
5. Caractères cultureux.....	4
6. Pouvoir pathogène et facteurs de virulence.....	4
6.1. Enzymes.....	4
6.2. Toxines.....	5
7. Résistance aux antibiotiques	6
7.1. Résistance au bêta-lactamines.....	6
II. Tube digestif	7
1. Anatomie du tube digestif.....	7
2. Ecosystème digestif.....	7
3. Microbiote intestinal.....	7

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes	10
1. Cadre de l'étude	10
2. Population d'étude.....	10
3. Prélèvements	10
4. Recherche des <i>S. aureus</i>	10
4.1. Enrichissement.....	10

4.2. Isolement	11
5. Purification	11
6. Aspect microscopique des colonies (coloration de Gram).....	11
6.1. Préparation et fixation du frottis.....	11
6.2. Coloration de Gram	11
7. Identification biochimique.....	12
7.1. Teste de catalase.....	12
7.2. Teste de coagulase.....	12
8. Antibiogramme.....	12
8.1.Préparation de l'inoculum.....	12
8.1.1 Revivification de souches conservées.....	12
8.1.2 Standardisation de la densité optique (DO) de l'inoculum	13
8.1.3 Préparation et ensemencement des boites Pétri.....	13
II. Résultats et discussion.....	14
1. Résultats des données épidémiologiques et cliniques	14
1.1. Répartition des prélèvements selon le sexe	14
1.2. Répartition des prélèvements selon l'âge.....	15
2. Résultats de l'examen bactériologique.....	16
2.1. Caractérisation des isolats	16
2.1.1 Aspect macroscopique	16
2.1.2 Aspect microscopique.....	16
2.2. Test de la catalase.....	17
2.3. Test de la coagulase	17
3. Résultats d'isolement et de la purification	18
4. Résultats d'Antibiogramme.....	19
4.1. Portage de SARM selon le sexe.....	19
4.2. Portage de SARM selon l'âge	20

Conclusion..... 22

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires, présentent dans la flore résidente de la peau de l'homme et des animaux et de façon transitoire dans les autres flores (Martineau, 1998).

Staphylococcus aureus est un pathogène humain opportuniste et une cause importante de morbidité et de mortalité dans le monde entier (Struelens et al., 2000). Il est décrit pour la première fois par Ogston, il y'a plus de cent ans, causant des infections de la peau et des tissus mous, des septicémies, des pneumonies, des endocardites et des abcès profonds. C'est également la bactérie le plus isolée dans les infections des plaies et elle est responsable également de toxi-infections alimentaires (Salem et al., 2016).

Suite à l'introduction de la méthicilline en médecine humaine dans les années 60, des résistances envers cet antibiotique ont émergé chez certaines souches de *S. aureus*, d'où le nom *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) (Crombe et al., 2013).

De la naissance à leur mort, les animaux ainsi que l'Homme vivent en équilibre avec une flore microbienne extrêmement dense et varié qu'ils abritent, pour l'essentiel, dans les cavités de leur tube digestif. La flore microbienne est estimée numériquement 10 fois supérieure au nombre de cellules de l'organisme (Savag, 1977). Elle représente un écosystème très complexe d'au moins 500 espèces dont 30 à 40 espèces dominantes regroupant 99 % de la flore totale (Tannock, 1999).

La prévalence du portage intestinal à *S. aureus* était estimée à 20% dont 9 % de *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) avec environ 1/3 de porteurs exclusifs au niveau digestif. Cette colonisation a été associée à la survenue d'infections, principalement à SARM (Gagnaire, 2019).

La prévalence de *S. aureus* dans les selles et au niveau de l'anus est peu connue. Afin de l'estimer, une étude est réalisée au niveau de la pédiatrie de l'hôpital d'Amizour.

Ce document comporte une partie bibliographique sur *Staphylococcus aureus* et le tube digestif et une autre sur la méthodologie du travail adoptée. Enfin une conclusion récapitulant les résultats de ce travail est incluse.

Synthèse
Bibliographique

I. Généralités sur *Staphylococcus aureus*

1. Historique

Staphylococcus aureus fut découverte dans les années **1870** lors de l'étude microscopique d'échantillons de pus. Ces bactéries de forme sphérique furent initialement nommées « micrococci », du grec kokkos pour grain (Accarias, 2014).

En **1882**, Ogston a nommé le cluster microcoques « staphylocoques », du grec staphyle, signifiant grappe de raisin (Orenstein et al., 2011).

La souche type de *S. aureus* subsp. *aureus* (DSM 20231T) a été isolé pour la première fois en **1884** à partir de liquide pleural humain par Rosenbach (Shiroma et al., 2015).

En **1900**, ils mettent en évidence le pouvoir hémolytique du staphylocoque sur des globules rouges de lapin et l'attribuent à une « hémolysine ». Van de Velde avait aussi observé cette hémolyse sur du sang frais (Guillaume, 2014).

Fin des années **1900**, le genre *Staphylococcus* était classé au sein du groupe des Micrococcaceae avec notamment les genres *Micococcus* et *Stomatococcus*. (Loir et al., 2010).

C'est au début des années **1960**, que les premières souches de *S.aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) sont apparues après introduction de la méthicilline (Salem et al., 2016).

Dès **1961**, les premières souches cliniques de *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) sont observées. (Tattevin, 2011)

La résistance intrinsèque à la méthicilline de *S. aureus*, très étudiée en France autour de l'année **1965**, est aussi dénommée SARM pour *S. aureus* Résistant à la Méthicilline ou encore MRSA pour Meticillino-Resistant *S. aureus*. (Laurence et al., 2010).

2. Taxonomie

Les staphylocoques sont des bactéries de forme cocci, Gram positif, pouvant être impliquées dans des pathologies variées (Rakotozandrindrainy, 2018).

S. aureus appartient à la :

- Classe Bacilli
- Ordre Bacillales
- Famille Staphylococcaceae
- Genre *Staphylococcus*
- Espèce : *Staphylococcus aureus*

S. aureus était un membre de la famille des Micrococcaceae, qui inclut deux genres *Micrococcus* et *Staphylococcus*. Mais actuellement, une étude montre qu'il n'appartient plus à la famille des Micrococcaceae dont une analyse de séquences d'ARNr 16S a conduit des remaniements importants de la position taxonomique du genre *Staphylococcus*, **(Nirinarimana, 2016)**.

3. Habitat

L'habitat naturel de *Staphylococcus aureus* est l'épithélium squameux humide des narines antérieures. Environ 20% de la population humaine sont porteurs de *S. aureus* en permanence dans leur nez et 60% des individus sont des porteurs intermittents **(Rebecca et al., 2009)**.

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhino-pharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, volailles) et en particulier chez l'homme. Ils sont également isolés de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air) et de l'environnement hospitalier **(Hennekinne, 2009)**.

4. Caractères cytologique et biochimique

Staphylococcus aureus se présente sous forme de cocci à Gram positif isolés en diplocoques, en tétrade ou en amas évoquant une grappe de raisin **(Maïga et al., 2017)**, immobiles **(Cablan et al., 2015)** de forme sphérique de 0,5 à 1,5µm de diamètre, non sporulé mais parfois encapsulé. C'est un aéro-anaérobie facultatif, oxydase négative, catalase positive, et produit plusieurs enzymes, telles que l'ADN ase, la coagulase et différentes hémolysines **(Tourret et Loulergue, 2003)**.

5. Caractères cultureux

S.aureus est aéro-anaérobie facultatif et peut être cultivé facilement sur milieu usuel, la température de croissance optimal est de 37 °C et le pH optimal est de 7,5 mais une grande variation est tolérée. Sur la gélose Chapman les colonies de *S.aureus* sont pigmentées en jaune doré ou citrin (d'où le nom d'*aureus*) de 2 à 3mm de diamètre (**Loir et Gautier, 2009**).

6. Pouvoir pathogène et facteurs de virulence

Staphylococcus aureus est responsable d'infections suppuratives très diverses, superficielles ou profondes. Il est classiquement à l'origine d'infections cutanéomuqueuses comme des folliculites, panaris, impétigos, ou des infections invasives comme les dermo-hypodermes nécrosantes, bactériémies ou infections ostéo-articulaires. *S. aureus* peut aussi être incriminé dans des pneumopathies, des infections ORL et oculaires. Cette pathogénicité accrue est liée à l'existence de nombreux facteurs de virulence, parmi ces dernières on retrouve les enzymes et les toxines (**Bargon, 2016**).

6.1. Enzymes

Les staphylocoques produisent diverse enzymes, telles que la protéase, lipase, fibrinolysine, coagulase, hyaluronidase, nucléase ou DNase

- **Coagulase** : La coagulase ou staphylocoagulase est une protéine de 40 kDa. Elle est retrouvée libre ou associée à la membrane. Elle s'associe à la prothrombine pour former la staphylothrombine responsable de la polymérisation du fibrinogène en fibrine, provoquant la coagulation du sérum (**Claire ,2012**).
- **Lipases** : Elles sont produites et fonctionnent pour dégrader les triglycérides pour libérer des acides gras libres (**Cadieux et al., 2021**).
- **Fibrinolysine ou staphylokinase** : De nombreuses souche de *S.aureus* expriment un activateur du plasminogène appelé staphylokinase. C'est une enzyme qui transforme le plasminogène en plasmine (**Chaalal, 2019**).
- **Hyaluronidase** : Les hyaluronidases sont des enzymes bactériennes qui clivent la liaison β -1,4 glycosidique de l'acide hyaluronique (HA).HA est synthétisé et sécrété par

la membrane plasmique des cellules de mammifères, et il est abondant dans la peau, tissu squelettique, le cordon ombilical, les poumons, les valves cardiaques, le cerveau et un certain nombre d'autres tissus (Carolyne et al., 2014).

- **DNase** : est un facteur de virulence important. L'expression de la DNase permet à *Staphylococcus aureus* d'échapper au meurtre dans les pièges extracellulaires des neutrophiles (Zarringhalam et al., 2012). Les activités de DNase sont partagées par de multiples enzymes apparentées (Peter et Keyel, 2017).

6.2. Toxines

La connaissance du mécanisme des infections a progressé avec la mise en évidence du rôle des toxines, certaines d'entre elles étant responsables de pathologies spécifiques (Fleuret, 2000).

- **Toxines formant des pores (PFTs)**

- ✓ **α -PFTs** : L'hémolysine bêta est une sphingomyélinase qui altère les membranes riches en lipides (action phospholipase de type C) et l'hémolysine delta possède des propriétés détergentes.
- ✓ **β -PFTs ou leucotoxines** : Ces toxines contrairement aux alpha-PFTs ne comportent pas de segment hydrophobe mais suivent de profonds remaniements pour former des pores. Les leucocidines par opposition aux hémolysines ont pour cible les polynucléaires, les monocytes et les macrophages (Davido, 2010).

- **Leucocidine de pantonvalentine (LPV)**

Cette exotoxine acquise au cours de l'évolution par *S. aureus* suite à des infections par des bactériophages est codée par les gènes *lukPV* et *lukS*. Ceux-ci codent pour 2 protéines qui dimérisent, forment des pores dans la membrane cellulaire et provoquent la lyse cellulaire des neutrophiles, des monocytes et des macrophages (Pérez et al., 2018).

- **TSST-1 et les entérotoxines**

Ces toxines ont une activité superantigénique. Ils permettent une augmentation de la perméabilité capillaire et une fuite massive de liquide dans le secteur interstitiel responsable du choc (Dumitrescu et al., 2008).

➤ **Exfoliatines**

Les exfoliatines sont des sérine-protéases agissant comme de véritables « ciseaux moléculaires ». Elles ont pour cible la desmogléine-1, protéine des jonctions cellulaires du *stratum granulosum* de l'épiderme. La perte d'adhérence cellulaire favorise l'invasion bactérienne percutanée et explique le décollement bulleux intra-épidermique observé lors des syndromes exfoliatifs (Nhan et al., 2012).

7. Résistance aux antibiotiques

Staphylococcus aureus a un fort pouvoir adaptatif et a développé différents mécanismes de résistance aux antistaphylococciques. Plus de 90 % des souches produisent une pénicillinase. L'oxacilline reste active contre ces souches, mais des staphylocoques hospitaliers, et plus récemment communautaires, ont développé une résistance croisée entre les pénicillines M (mécicilline, oxacilline) et les autres β -lactamines par la production d'une protéine, la PLP2a, liant les pénicillines (PLP) et ayant une faible affinité pour ces composés (Oana et al., 2010). PLP2a est une peptidoglycane-transpeptidase qui n'a qu'une faible affinité pour les β -lactamines et permet la poursuite de la synthèse de la paroi bactérienne, même lorsque les quatre PLP classiques (1, 2, 3 et 4) sont inactivées par les β -lactamines (Tattevin, 2011).

Les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportation active grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux. Les pompes d'efflux utilisent l'énergie fournie par dissipation d'un gradient de protons ou d'ions sodium ou encore par hydrolyse d'ATP (cattoir, 2004).

7.1. Résistance aux bêta-lactamines

La résistance aux β -lactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes qui sont : un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP (Quincampoix et Mainardi, 2001).

➤ **Pénicilline**

Le mécanisme de résistance à la pénicilline repose sur la synthèse par la bactérie d'une enzyme appelée β -lactamase ou pénicillinase qui hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines et les rend inactives (Corne, 2004).

➤ **Méthicilline (SARM)**

Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) est longtemps resté le prototype du pathogène exclusivement nosocomial, ce qui permettait de maintenir les β -lactamines comme principal traitement présomptif des infections communautaires graves, où le SARM n'était pas à prendre en compte (Tattevine, 2010).

II. Tube digestif

1. Anatomie du tube digestif

L'élément principal de l'appareil digestif est un tube, ouvert à ses deux extrémités. On peut distinguer : un pôle supérieur, ou céphalique, la cavité buccale, véritable vestibule du tube digestif, par laquelle pénètrent les aliments ; et un pôle inférieur, ou caudal, le rectum, qui contrôle la défécation par l'orifice anal. Entre ces deux pôles, le tube digestif se différencie en quatre segments : une région de passage, représentée par le pharynx, puis l'œsophage ; une poche, l'estomac, où prédominent les phénomènes mécaniques ; un long tube pelotonné en anses, l'intestin grêle, où s'effectuent les transformations chimiques principales et l'absorption des aliments ; enfin un conduit large, relativement court, le gros intestin ou côlon, qui déshydrate et digère les résidus alimentaires, les concentre en matières fécales.

(Bernier *et al.*, 2021)

2. Ecosystème digestif

Le tractus digestif présente des environnements différents de la bouche à l'anus. Les micro-organismes qui le colonisent varient en fonction du pH, du potentiel d'oxydoréduction, des substrats et des sites d'adhésion qui caractérisent l'organe cible. Ces micro-organismes se concentrent majoritairement dans la région intestinale : côlon et iléon (Julie, 2014).

3. Microbiote intestinal

Le microbiote intestinal se localise entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal, il est présent tout au long du tube digestif mais

sa concentration est maximale au niveau de l'intestin grêle et du côlon. Au total, un individu abrite dans son tractus intestinal 10^{14} micro-organismes (Dolié, 2018). Des variations qualitatives et quantitatives de la flore intestinale sont observées tout au long du tube digestif (Barbut et Joly 2010) de la bouche à l'anus (figure 01).

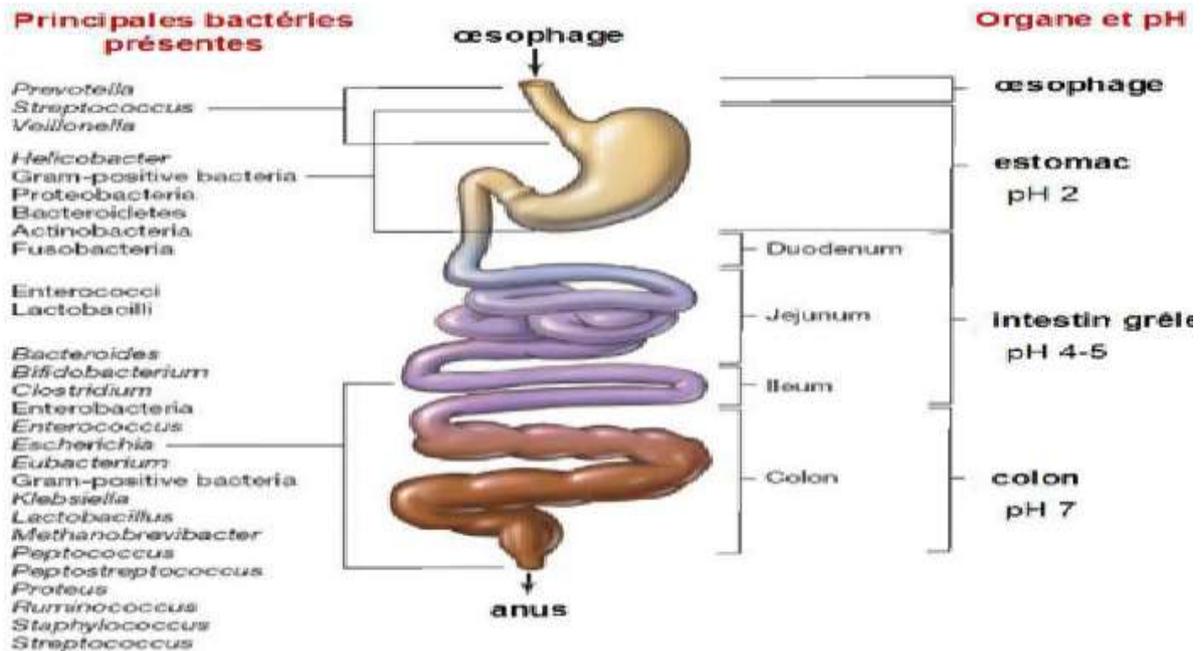


Figure 01 : Microbiote intestinal (Anonyme 1.2021)

La cavité buccale et le pharynx sont le siège d'une flore microbienne abondante et très variée comportant les bactéries commensales, essentiellement aérobies et les bactéries anaérobies de la flore de Veillon. Parmi ces bactéries, celles qui appartiennent aux genres *Streptococcus*, *Staphylococcus* et *Neisseria*. (Bobigny et al., 2001)

Le côlon humain héberge une communauté microbienne extrêmement dense, composée essentiellement d'espèces anaérobies strictes. Ce microbiote intestinal exerce de nombreuses fonctions physiologiques ayant des répercussions importantes sur la nutrition et la santé de l'hôte (Bernalier, 2010).

Partie expérimentale

I. Matériels et méthodes

1. Cadre de l'étude

Dans ce travail on s'est intéressé à l'évaluation de la fréquence des *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) dans les selles des enfants, au niveau du service d'urgence pédiatrique de l'EPH d'Amizour. Pour cela, des prélèvements rectaux ont été effectués sur des patients rencontrés dans cet hôpital durant la période 03 au 25 mai 2021. Des données concernant les patients, tel que l'âge, sexe, symptômes, prise d'antibiotique, ont été recueillies en leur posant des questions (**Annexe 1**).

L'étude bactériologique a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia.

2. Population d'étude

Durant cette étude un total de 62 prélèvements a été réalisé par un écouvillonnage sur des patients âgé entre 2 mois et 15ans selon les symptômes : vomissement, diarrhée, nausée, fièvre, douleurs abdominal.32 appartiennent au sexe féminin et 30 au sexe masculin.

3. Prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'un écouvillon stérile, en introduisant dans l'anus du patient et le tournant délicatement sur lui-même pendant 5 à 10 secondes. Une fois les prélèvements anaux réalisés, ils sont transférés au laboratoire.

4. Recherche des *S. aureus*

La recherche de *Staphylococcus aureus* a été effectuée en deux étapes : étape d'enrichissement puis étape d'isolement.

4.1. Enrichissement

L'écouvillon a été immergé dans un bouillon cœur cervelle (BHIB) et incubé à 37°C pendant 24h (**figure 02**).

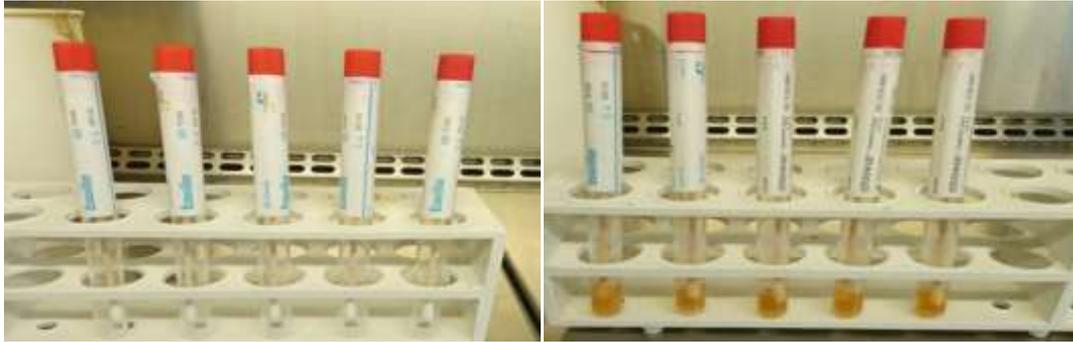


Figure 02: Prélèvements avant et après incubation

4.2. Isolement

L'isolement a été effectué sur la gélose Chapman (IPA). Ce milieu contient une forte teneur en NaCl (7,5%), ce qui permet principalement la croissance des espèces du genre *Staphylococcus*. Il donne une indication de l'action de la souche isolée sur le mannitol, contenant du rouge de phénol (indicateur de pH). L'utilisation de mannitol avec production d'acide se traduit par un virage de couleur du rouge au jaune (Guiraud, 2003).

5. Purification

Pour purifier les souches de *Staphylococcus* isolées, des repiquages successifs sont réalisés sur le même milieu d'isolement (Chapman). Une fois que les souches sont purifiées, l'identification biochimique est effectuée.

6. Aspect microscopique (coloration de Gram)

La coloration permet de confirmer la pureté des isolats et d'identifier le genre *Staphylococcus aureus*.

6.1. Préparation et fixation du frottis

Un mélange d'une goutte d'eau physiologique avec une colonie bactérienne prélevée à partir d'une boîte de Pétri a été étalé sur une lame en verre propre. Après la fixation du frottis obtenu par séchage sous la flamme d'un bec bunsen, la coloration de Gram est réalisée.

6.2. Coloration de Gram

Le frottis fixé est coloré au violet de gentiane pendant une minute puis recouvert avec le lugol, laissé agir 45 secondes. Ce frottis subit une décoloration avec l'alcool suivi par un

rinçage rapide à l'eau distillée, il est ensuite traité par la fushine pendant 30 secondes. Rincer la lame à l'eau et laisser sécher avant de passer à l'observation microscopique.

7. Identification biochimique

7.1. Test de catalase

Le test de la catalase est un test biochimique qui permet de mettre en évidence la présence de la catalase qui est considérée comme une enzyme élaborée par le *S .aureus*. Ce test s'effectue par la mise en contact d'une colonie suspecte, avec une goutte d'eau oxygénée. Une réaction positive se traduit par l'apparition de bulles de gaz. La production de catalase permettant de différencier les staphylocoques des streptocoques.

7.2. Test coagulase

Dans un tube stérile, 0,5ml du plasma Humain ont été mélangés avec 0,5ml de culture en bouillon cœur-cerveau de la souche à étudier puis incubé à l'étuve pendant 37°C/24h. La coagulation est examinée après 2h à 24h. Ce test est considéré comme positif lorsqu'on observe une prise en masse totale du plasma ou un caillot moins compact.

8. Antibiogramme

Toutes les souches identifiées (Gram+, catalase+, coagulase+) ont fait l'objet d'un antibiogramme standard sur gélose Mueller Hinton par méthode des disques (de diffusion).

8.1. Préparation de l'inoculum

8.1.1 Revivification de souches conservées

Les isolats conservés dans les eppendorfs au frais ont été revérifiés dans 1ml de bouillon nutritif (BN), en lui additionnant 0,5ml de la culture bactérienne puis incubés 24h à 48h dans une étuve à 37°C.

8.1.2 Standardisation de la densité optique (DO) de l'inoculum

Le protocole de standardisation et de dilution de l'inoculum est décrit dans les recommandations émises par CA-SFM. Après l'incubation, les inoculums ont été préparés à partir des tubes des suspensions revivifiées.

La DO de l'inoculum a été contrôlé et ajustée à Mc Farland en ajoutant soit la culture bactérienne soit l'eau physiologique, ce qui correspond approximativement à une charge de 10^7 UFC/ml pour *S.aureus*.

L'absorbance devra être comprise entre (0.8 et 1) avec une longueur d'onde de 625nm, pour un étalant de 0.5 Mac Farland.

Cette densité a été contrôlée à l'aide d'un spectrophotomètre avec 1 cm de trajet.

Une dilution au 1/10 après standardisation à 0.5 Mac Farland a été réalisée pour l'espèce de *S.aureus* pour obtenir une suspension bactérienne une charge avoisinante de 10^7 UFC/ml.

8.1.3 Préparation et ensemencement des boîtes Pétri

Le milieu utilisé dans ce test est celui de Mueller Hinton (Pronadisa) qui convient à la croissance de la majorité des micro-organismes, ce dernier a été coulé en boîte pétri sur une épaisseur de 3 mm, puis laissé refroidir.

A l'aide d'un écouvillon plongé dans la culture bactérienne de DO de 0.5, un tapis cellulaire est réalisé sur la gélose en faisant des stries serrées.

Une pince stérile a été utilisée pour le dépôt des disques préalablement imprégnés d'antibiotiques sur la surface de la gélose ensemencée. Après l'incubation à 37°C/18h, on mesure les différents diamètres d'inhibition. Les deux antibiotiques testés sont l'oxacilline (30 µg) et cefoxitine (30µg).

Résultats et discussion

I. Résultats

1. Résultats des données épidémiologiques et cliniques

Durant le mois d'étude, un total de 62 prélèvements au niveau de l'anus a été effectué au niveau du service d'urgence pédiatrique. Les caractéristiques des patients inclus dans cette étude sont représentées dans le **tableau I**.

Tableau I : caractéristiques des patients inclus dans l'étude

Age	2mois-3ans		4ans-7ans		8ans-11ans		12ans-15ans	
Sexe	F	M	F	M	F	M	F	M
Nombre de prélèvements	24	22	4	5	3	2	1	1
Symptômes	OUI							
Prise d'antibiotiques	OUI							

A partir des prélèvements effectués chez 62 enfants, un nombre important des prélèvements a été marqué chez les filles et les garçons de la tranche d'âge allant de 2mois à 3ans, tandis que chez les enfants de la tranche d'âge 12 à 15ans un seul prélèvement a été effectué chez une fille de 15ans et un seul autre prélèvement chez un garçon de 14ans par contre (**Adou et al.,2001**) ont analysés 357 selles d'enfants de 5 à 15 ans (185 garçons et 172 filles).

Le nombre de prélèvements effectués chez toutes les catégories d'âge infantiles, un total de sept (7) prélèvements a été réalisé chez le sexe masculin et féminin de 4ans jusqu'à 11ans d'où 4 filles de la tranche 4ans à 7ans et 3 de 8ans à 11ans, pour le sexe masculin 5 prélèvements de la tranche 4ans à 7ans et deux (2) de la tranche 8ans à 11ans.

1.1. Répartition des prélèvements selon le sexe

Parmi les 62 enfants inclus dans l'étude, 32 ont été du sexe féminin soit 51,61%, cependant chez le sexe masculin, 30 prélèvements soit 48,39% (**figure 03**).

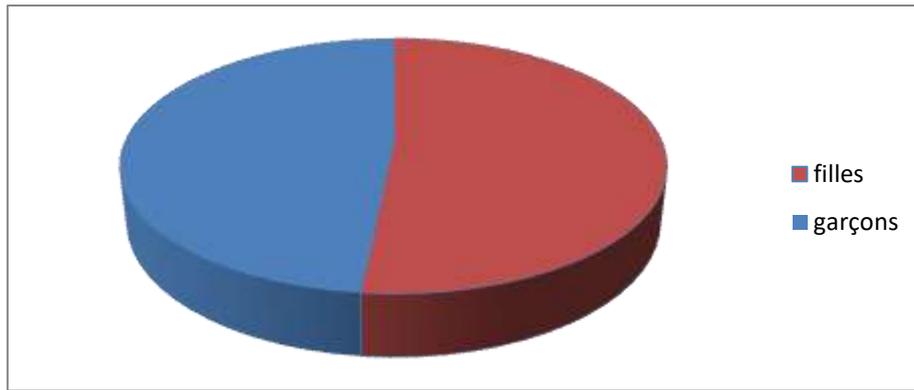


Figure 03 : Répartitions des prélèvements selon le sexe

1.2. Répartition des prélèvements selon l'âge

Les résultats des prélèvements ont montré que la majorité des patients ont un âge compris entre 2mois à 3ans. Alors que la fréquence des enfants âgés de 4ans à 7ans est 14.51%, cinq (5) pour la catégorie 8 ans à 11ans. Deux prélèvements sur 62 de la tranche d'âge de 12ans à 15ans. La répartition des prélèvements en fonction de l'âge des enfants est représentée dans la (figure 04).

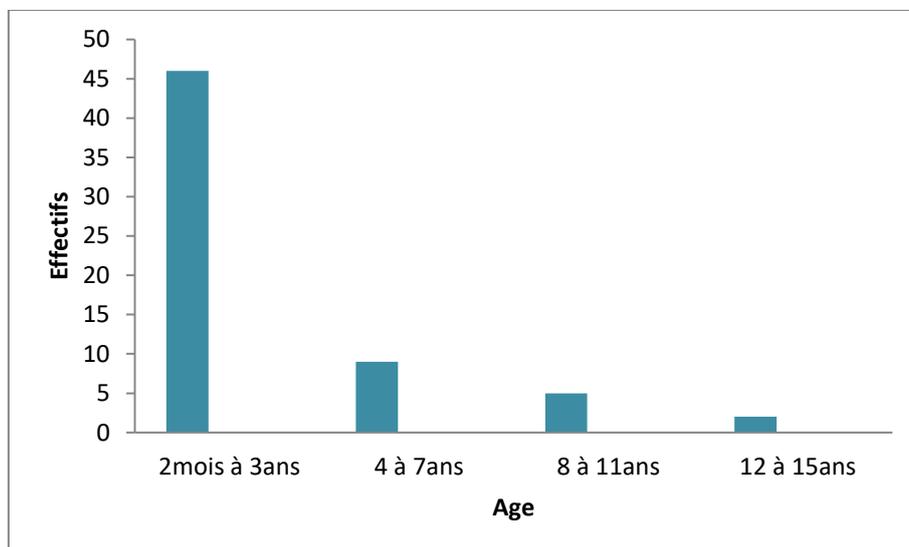


Figure 04: Répartition des prélèvements selon les catégories d'âge

2. Résultats de l'examen bactériologique

2.1. Caractérisation des isolats

2.1.1 Aspect macroscopique

Un total de 20 souches, provenant des 62 prélèvements de cultures positifs, présentent une croissance sur milieu Chapman (**Figure 05**).

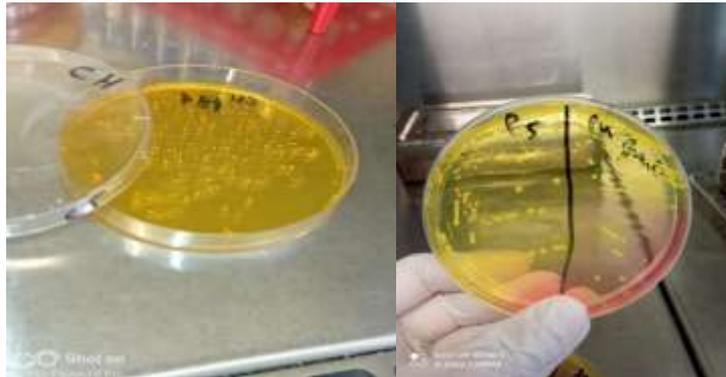


Figure 05 : Croissance de *Staphylococcus* présumé *aureus* sur milieu Chapman

Sur la gélose Chapman, des colonies colorées en jaune doré avec un virage de milieu vers le jaune orangé (fermentation de mannitol par la bactérie) sont mise en évidence.

Ces résultats montrent que toutes les souches isolées appartiennent à l'espèce *Staphylococcus* présumé *aureus*.

2.1.2 Aspect microscopique

Sous le microscope optique, *Staphylococcus aureus* après coloration de Gram, sous forme de cocci, Gram positif (en violet), sphériques de 0,8 à 1 μm de diamètre, regroupés en diplocoque ou en amas, ou sous forme de grappe de raisin (**Figure 06**).



Figure 06 : Aspect de *Staphylococcus aureus* sous microscope optique (Gx100)

2.2. Test de la catalase

Un total de 20 souches de *Staphylococcus* possède la capacité de produire l'enzyme de la catalase. La présence d'une catalase se traduit par l'observation d'une effervescence (**figure 07**).



Figure 07: Mise en évidence de la catalase chez les Staphylocoques

2.3. Test de la coagulase

Ce test nous a permis de différencier les *S. aureus* des autres *Staphylococcus*. Certaines souches *S. aureus* possèdent la capacité de coaguler le plasma Humain tandis que d'autres souches sont à coagulase partielle ou négative.

Parmi les 20 souches de *Staphylococcus* testées, seulement 15 souches soit 75% ont été productrice de la coagulase et 5 souches soit 25% ne produisent pas cet enzyme (**figure 08 ,09**).



Figure 08 : Résultat positif de la coagulase

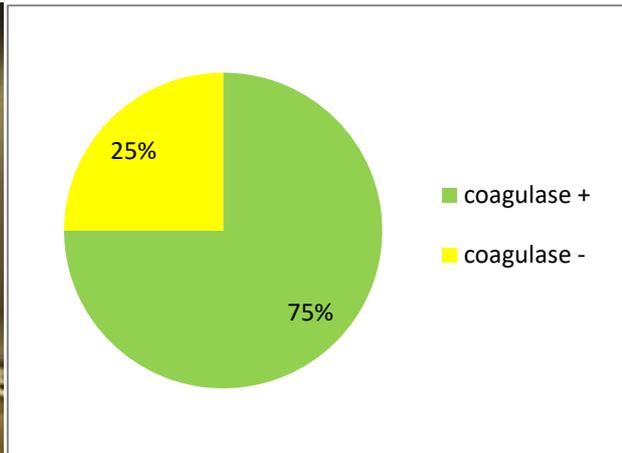


Figure 09 : Fréquence de la coagulase

3. Résultats d'isolement et de purification

Parmi les 62 prélèvements effectués, seulement 15 qui sont des *Staphylococcus aureus* soit un taux de 24,19% (Figure 10).

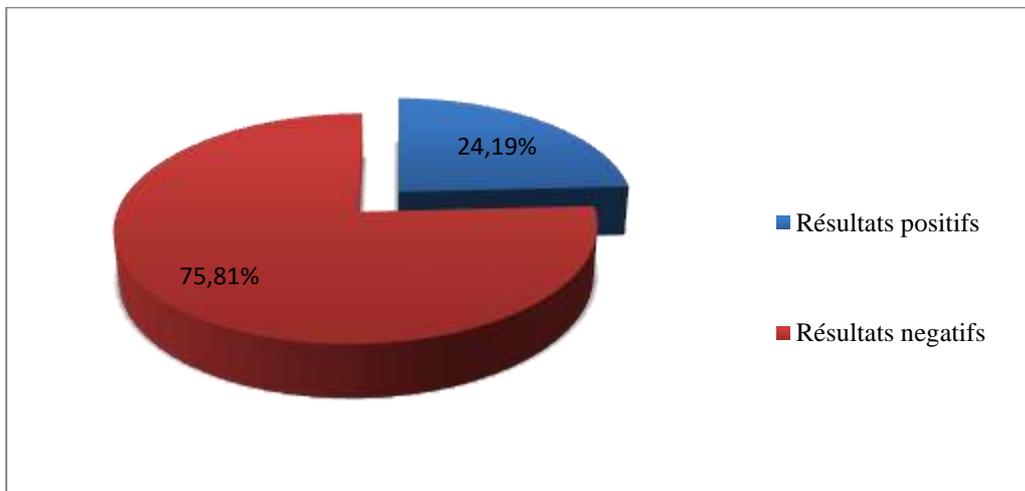


Figure 10 : Fréquence des *Staphylococcus aureus* dans des prélèvements au niveau de l'anus

Ces résultats montrent que le taux de portage de *Staphylococcus aureus* au niveau de l'anus est (24,19%), cependant le taux de cette bactérie dans des prélèvements nasaux chez les enfants et qui a été rapporté par Azzouzi, est 16% (Azzouzi,2018).

4. Résultats de l'antibiogramme

L'antibiogramme par la méthode des disques a été réalisé pour 15 souches de *S.aureus* isolées. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus en utilisant la cefoxitine et l'oxacilline sont illustrés dans le **tableau II**. Le caractère sensible ou résistant à l'antibiotique est déterminé selon l'EUCAST (2020).

Tableau II : Résultats de l'antibiogramme

Antibiotiques Souches bactériennes	Cefoxitine(30 µg)		Oxacilline (30 µg)		SARM/SASM
	Diamètres des zones d'inhibition (mm)				
S N°02	18	(R)	20	(S)	SASM
S N°03	14	(R)	12	(R)	SARM
S N°04	21	(R)	19	(S)	SASM
S N°05	23	(R)	20	(S)	SASM
S N°20	10	(R)	8	(R)	SARM
S N°21	16	(R)	18	(S)	SASM
S N°24	09	(R)	06	(R)	SARM
S N°32	00	(R)	00	(R)	SARM
S N°40	11	(R)	13	(R)	SARM
S N°41	05	(R)	03	(R)	SARM
S N°42	17	(R)	15	(R)	SARM
S N°44	00	(R)	00	(R)	SARM
S N°47	12	(R)	10	(R)	SARM
S N°49	04	(R)	06	(R)	SARM
S N°54	00	(R)	00	(R)	SARM

L'étude de la sensibilité des 15 souches de *S. aureus* isolées vis-à-vis des antibiotiques, a montré qu'une résistance de l'ensemble des souches à la Cefoxitine est enregistrée, 11/15 souches été résistantes à l'Oxacilline. Pour cela, 73,33% des patients sont des porteurs de SARM.

4.1. Portage de SARM selon le sexe

Les résultats de cette étude ont montré que les enfants du sexe féminin étaient les plus infectés par le SARM. Un total de 07 cas sur les 11 cas positif a été reçu chez cette catégorie du sexe soit un taux de 63,64%, alors que les enfants du sexe masculin sont les moins touchés par cette bactérie **tableau III**.

Tableau III: répartition des porteurs de SARM selon Le sexe

Sexe	Féminin	Masculin	Totaux
Nombre des porteurs de Sa	10	05	15
Nombre de portage de SARM	07	04	11
Taux de portage de SARM	63,64	36,36	100

La fréquence des filles (63,64%) inclus dans l'étude était plus élevée que chez les garçons (36,36%).

4.2. Portage de SARM selon l'âge

Les résultats de cette étude ont montré que seuls les enfants âgés entre 2mois à 3ans étaient infectés par le SARM. Un total de 11 cas sur les 11 cas positif a été reçu chez cette catégorie d'âge soit un taux de 100% **tableau IV.**

Tableau IV : répartition des porteurs de SARM selon l'âge

Age	[2mois-3ans]	[4ans-7ans]	[8ans-11ans]	[12ans-15ans]
Nombre des porteurs de Sa	12	3	0	0
Nombre de portage de SARM	11	0	0	0
Taux de portage de SARM	100%	0%	0%	0%

Ces résultats montrent que tous les enfants infectés par le SARM sont âgés entre 2mois à 3ans, ces résultats concordent avec les résultats obtenus par (Alioua ,2015) qui a noté un taux de 14.1% (n=13) de SARM chez les enfants moins 5ans ($p<0,05$)

Conclusion

Staphylococcus aureus est un agent pathogène majeur de l'Homme, responsable d'infection grave parmi elles les infections infantiles qui sont les plus fréquentes dans les services hospitaliers. Les SARM continue également à représenter le marqueur essentiel de l'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus*.

Au cours de cette étude, 62 prélèvements ont été réalisés chez les enfants ayant consultés les urgences pédiatrique de l'EPH d'Amizour. Ces enfants sont repartis selon leur âge et leur sexe.

Les résultats bactériologiques de cette étude ont permis de révéler plusieurs points :

- La mise en évidence de 11 souches de SARM parmi 15 souches de *S.aureus* isolées.
- La prévalence des *S.aureus* est de 24,19% dont 75,81% sont des SARM
- La fréquence des SARM chez les enfants de sexe féminin présentent un taux plus élevé (63,64%) que chez les enfants masculin (36,36%)
- Les enfants les plus touchés sont ceux qui appartiennent à la catégorie d'âge incluse entre 2mois et 3ans

La colonisation digestive a *staphylococcus aureus* est mal connue avec des travaux portent majoritairement sur la colonisation à *S.aureus* résistant à la méthicilline.

Donc il est important de connaitre l'origine de ce portage

Perspectives

Il parait vraisemblable de considérer le tube digestif comme un réservoir muqueux de *S.aureus*. D'autres études seront nécessaires pour identifier précisément la localisation de ce réservoir au niveau des étages du tractus gastro-intestinal et sa situation extra ou intracellulaire dans la muqueuse digestive.

Références

Bibliographiques

Accarias S. (2014).Thèse doctorat. Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Université de Toulouse.

Adou-Bryn .D ,Kouassi.M, Brou .j (2001).Prévalence globale des parasitoses a transmission orale chez les enfants atoumodi (cote d'Ivoire) .*Médecine d'Afrique Noire* .Vol .48,n°10,p 394-8 .

Anonyme01, 2021 : https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fpatrice-hardouin.canoprof.fr%2Ffeve%2FHR%2F1_STHR%2Fnutrition_humaine_eleve%2Factivites%2Fmicrobiote.xhtml&psig=AOvVaw149vLCpvU8ePSxFVJg3rnv&ust=1635609803034000&source=images&cd=vfe&ved=0CAgQjRxqFwoTCMDlndaA8PMCFQAAAAAdAAAAABAI

Alioua Mouhamed amine. (2015).Thèse doctorat. Les staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline. Université BadjiMokhetar -Annaba

Azzouzi Fatima Zahra. (2015). Thèse doctorat. Prévalence du portage nasal du *Staphylococcus aureus* Méti-R Communautaire chez les enfants en consultation externe du centre hospitalier .Université Mohamed VI.

Bazin N. (Versailles), J Belmin (Sevran), L. Benslama (Paris), P Frémont (Marne-la-Vallée), B Girard (Paris), V Haddad (La Queue en Brie), C Hazif-Thomas (Poitiers), H Jibidar (Issy-les-Moulineaux), G Laroque (Paris), D Letonturier (Sevran), P. Lutzler (Marne-la-Vallée), AM Mathieu (Issy-les-Moulineaux), S Medjahed (Sevran), F Mourey (Dijon), J Pellerin (Ivry-sur-Seine), Ph Taurand (Eaubonne), Ph Thomas (Poitiers), M Verny (Paris), M Vidhaillet (Paris), M Ziegler (Paris) Journée d'Actualités en Médecine Gériatrique de Bobigny – 24 novembre 2001 1 Les Actualités en Médecine Gériatrique de Bobigny sont organisées avec l'aide et le soutien de l'Institut Universitaire de Gérontologie Yves Mémin, de la Faculté de Médecine de Bobigny (UFR SMBH), et de l'Université Paris Nord

Barbut, Frédéric, et Francisca Joly. (2010).« Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose ». *Hépto-Gastro & Oncologie Digestive*17 (6): 511-20.

Bergon L. (2016). *S. capitis, S. caprae et S. lugdunensis* : Rôle dans les infections ostéo articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques.

Bernalier-Donadille A. (2010). Activités métaboliques du microbiote intestinal Humain. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 34(4), 17-23.

Cablan M, Loukou Y, Krizo G, Nanga Y, Lathro J, Kone-Dotia T, Tahou-Apété S, Djatchi R, Guessend N, & Faye-Ketté H. (2015). Evaluation du risque de portage manuel et nasal de *Staphylococcus aureus* Chez Le Personnel de L'institut Pasteur de Côte D'ivoire (ipci).

Cadieux B, Vijayakumaran V, Bernards M.A, McGavin M.J, & Heinrichs D.E. (2014). Role of Lipase from Community-Associated Méthicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

Strain USA300 in Hydrolyzing Triglycerides into growth-Inhibitory Free Fatty Acids. *Journal of Bacteriology*, 196(23), 4044-4056.

Carolyn B, Ibberson A, Crystal L, Jones B, Shweta Singh B, Matthew C, Wise B, Mark E, Hart C, Daniel V, Zurawski B, Alexander R, & Horswill. (2014). *Staphylococcus aureus* Hyaluronidase is a Cdy-Regulated Virulence Factor.

Cattoir Vincent. (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie biologique*, vol.52, n°10, p .607-616.

Chaalal Wafaa. (2019). Thèse De Doctorat. Caractérisation moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de denrées alimentaires. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella.

Claire Lays. (2012). Thèse doctorat. ARN régulateurs de *Staphylococcus aureus* : Rôle de RsaA dans la formation du bio film et de la capsule, Niveaux d'expression des ARN dans les prélèvements cliniques. Université Claude Bernard-Lyon I.

Corne, P. (2004). Thèse De Doctorat. *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation :

Étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Université Montpellier I.

Crombé F, Argudin M, Vanderhaeghen W, Hermans K, Haesebrouck F, & Butaye P. (2013). Transmission dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Frontiers in Microbiology*, 4, 57.

Davido B. (2010). Thèse de doctorat. Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré. Université Denis Diderot.

Dolié Emilie. (2018). Thèse de doctorat. Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel du probiotiques et futures indications. Université Toulouse III Paul Sabatier Faculté des Science Pharmaceutique.

Dumitrescu O, Dauwalder O, Gillet Y, Vandenesch F, Etienne J, Lina G, & Tristan A. (2008). Les infections communautaires à *Staphylococcus aureus* en pédiatrie : Émergence des staphylocoques dorés résistants à la méthicilline d'origine communautaire. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2008(407), 71-80.

Fleuret Daniel. (2000). Les toxines du staphylocoque. *Médecine thérapeutique / Pédiatrie*, vol.3.n°5, p.3949.

Gagnaire J. (2019). Epidémiologie de la colonisation digestive à *Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Lyon).

Guillaume Vieu. (2014). Thèse doctorat. Diversité génétique des isolats de *Staphylococcus aureus* producteurs de toxine de Panton-Valentine isolés au CHU de Toulouse .Université Toulouse III-Paul Sabatier

GUIRAID J.P. (2003). Microbiologie alimentaire : milieux et techniques générales de culture .Dunod, Paris , P178-180.

Hennekinne J. (2009). Thèse Doctorat. Nouvelles approches pour la caractérisation des toxiques infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. 183p.

Julie Legendre. (2014). Thèse de doctorat. Microbiote intestinale et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Université Toulouse III Paul Sabatier Faculté des Science Pharmaceutique.

Laurence Armand-Lefevre, Raymond Ruimy, Alain Philippon et Antoine Andremont. (2010). L'histoire de staphylococcus aureus ST398:un paradigme médical du 21ème siècle

Loir Yves & Gautier Michel. (2009). *Staphylococcus aureus* (collection monographies de microbiologie) (Edition Lavoisier/tec et doc).

Maïga A, Dicko O, Tchougoune L, Fofana D, Coulibaly D, &Maïga I. (2017). Haute Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à La Méthicilline au centre Hospitalier Universitaire Du Point Ga Bamako (Mali). *Mali Médical*, 32(3).

Martineau F.(1998).Développement de tests de diagnostic bases sur l'ADN pou l'identification de Staphylococcus aureus et de *Staphylococcus epidermidis* associées aux infections chez l'humain (Francis text, DNA) .

Nhan T.-X, Gillet Y, &Vandenesch F. (2012).Diagnostic et traitements des infections toxiques à *Staphylococcus aureus*. *Journal des Anti-infectieux*, 14(3), 117-126.

Nirinarimanana Josia Alain. (2016).Thèse de doctorat. Portage nasal de *Staphylococcus aureus* lié aux différents facteurs de risque chez les étudiants vétérinaires. Université D'antananarivo.

Oana Dumitrescu, Olivier Dauwalder, Sandrine Boisset, Marie-Élisabeth Reverdy, Anne Tristan & François Vandenesch.(2010) .Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. Les points-clés en 2010. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 943–949.

Oreste A. (2011).the discovery and Naming of *Staphylococcus aureus*. *Gevendon Op* ; Available : <http://www.antimicrobe.org/h04c.files/history/S.aureus.pdf>.

Pérez D.S, Liaudet A, Favrat P. B, & Cornuz J. (2018). Staphylocoques dorés producteurs de leucocidine de Panton-Valentine : Notions en pratique clinique. *Revue Médicale Suisse*, 5.

Peter A.k. (2017). Dnases in health and disease. Contents Lists available at Science Direct Developmental Biology. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/developmentalbiology

Quincampoix J.C, & J.L. Mainardi.(2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif.© Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Tous droits réservés S1164675601001141/SSU

RakotozandrindrainyNjariharinjakamampionona. (2018).Thèse de Doctorat. Identification et caractérisation des Staphylocoques à Coagulas Négative résistants à la méthicilline isolés d'échantillons sanguins de patients fébriles dans les centres de santé de la région Analamanga-Antananarivo. UniversitéD'antananarivo.

Rebecca M Corrigan, Helen Miajlovic and Timothy J Foster.(2009).Surface proteins that promote adherence of *Staphylococcus aureus* to human desquamated nasal epithelial cells

Salem, M. L. O., Ghaber, S. M., Baba, S. E. W. O., &Maouloud, M. M. O. (2016). Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* communautaires dans la région de Nouakchott (Mauritanie). *The Pan African Medical Journal*,24.

Savage D. C.(1977).Microbiale ecology of the gastrointestinal tract.*Annual review of microbiology*, 31(1), 107-133.

Shiroma A, Terabayashi Y, Nakano K, Shimoji M, Tamotsu H, Ashimine N, Ohki S, Shinzato M, Teruya K, Satou K, Hirano T.(2015).First complete genome sequences of *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* Rosenbach 1884 (DSM 20231T), determined by PacBio single-molecule real-time technology. *Genome Announc* 3(4):e00800-15. doi: 10.1128/genomeA.00800-15.

Struelens M.J ,& Denis O .(2000) .*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline vers une réponse coordonnée a un défi persistant .*Euro surveillance*,5(3),25-26.

Tannock G. W. (1999). Analysis of the intestinal microflora: A renaissance. *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*, 265-278.

Tattevin P. (2011). Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)

d'acquisition communautaire. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 41(4), 167-175.

Touret. S et Louergue.P. (2003). Le staphylocoque doré résistant à la méthicilline d'origine communautaire. *Des de Bactériologie, Virologie et Hygiène hospitalière*, 4p.

Zarringhalam M, Zarringhalam J, Shadnoush M, &Tekieh E.(2013).Inhibitory Effect of Black and Red Pepper and Thyme Extracts and Essential Oils on Enterohemorrhagic *Escherichia coli* and DNase Activity of *Staphylococcus aureus*. .

Annexes

Annexe 01 : Fiche de renseignement des patients inclus dans l'étude

Code	
Date	
Age	
Sexe	
Symptômes	
Prise d'antibiotiques	

Annexe 02 : Appareillage, verrerie et outils

Bec Bunsen

Etuve

Microscope optique

Vortex

Bain marie

Autoclave

Pipettes Pasteur

Anse à boucle

Seringues

Lames et lamelles

Ecouvillons

Pinces en bois

Tubes stériles

Gants stériles

Boites Pétri

Portoirs

Pied à coulisse

Eppendorfs

Annexe 03 : Composition de milieux de culture

Gélose Chapman(IPA)

Composants	Quantités
Tryptone	5g
Peptone pepsique de viande	5g
Extrait de viande	1g
Mannitol	10g
Chlorure de sodium	75g
Rouge de phénol	25mg
Agar	15mg
pH : 7,4	

Préparation : 111g par litre d'eau distillée

Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes

Muller Hinton (IPA)

Composants	Quantités
Extrait de viande	300 ml
Hydrolysate acide de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Chlorure de sodium	40g
Agar	16g
pH : 7,4	

Préparation : 37g par litre d'eau distillée

Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes

Bouillon cœur cervelle(BHIB)(IPA)

Composants	Quantité
Infection de cervelle de veau	200g
Infusion de cœur de bœuf	50g
Peptone de gélatine	10g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate disodique	2,5g
Glucose	2g
pH : 7,4	

Préparation : 37gpar litre d'eau distillée

Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

Bouillon nutritif (IPA)

Composants	Quantités
Chlorure de potassium	0.425 g/l
Chlorure de calcium	0.125 g/l
Sulfate de magnésium	0.125 g/l
Chlorure ferrique	0.0025 g/l
pH : 6,5	

Annexe 04 : Composition des réactifs utilisés

➤ *Violet de gentiane*

Phénol : 2g

Violet de gentiane : 1g

Ethanol à 90°c : 10ml

Eau distillée : 100ml

➤ *Lugol*

Iodure de potassium : 2g

Iodure métalloïde : 1g

Eau distillée : 300ml

➤ *Fuschine*

Fuschine basique : 1g

Phénol : 5g

Ethanol à 90° : 10ml

Eau distillée : 100ml

➤ **Eau physiologique**

Chlorure de sodium : 9g

Eau distillée : 1000ml

Résumé

L'objectif de cette étude et s'intéressé à l'évaluation de la fréquence des *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) dans les selles des enfants, 62 prélèvements rectaux ont été effectués sur des patients rencontrés au niveau de l'EPH d'amizour de service d'urgence pédiatrique. Un total de 20/62 prélèvements positifs d'un taux 32.25%, d'après les examens bactériologiques 15/62 c'est des *Staphylococcs aureus*, dix (10) pour le sexe féminin et cinq (5) pour le sexe masculin. Les 15 souches de S.aureus ont été testées par deux (2) antibiotiques Céfoxitine et Oxaciline. La répartition SARM selon l'âge et le sexe est plus élevée chez le sexe féminin de la tranche d'âge [2mois-3ans].

Mots clés : *Staphylococcus aureus, SARM, cefoxitine, oxacilline*

Abstract

The objective of this study is to evaluate the frequency of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in stool in children, 62 rectal swabs were performed on patients encountered at the pediatric emergency department amizour EPH. A total of 20/62 positive samples of a rate 32.25%, according to bacteriological tests 15/62 it is *Staphylococccac aureus*, ten (10) for the female sex and five (5) for the male sex. The 15 strains of S.aureus were tested with two (2) antibiotics Cefoxitin and Oxacilin. The MRSA distribution by age and sex is higher among females in the [2 months-3 years] age group.

Keywords: *Staphylococcus aureus, MRSA, cefoxitine, oxacilline*