

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Fondamentale



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Evaluation de la Pathogénicité des Souches de Staphylococcus aureus isolés de la cavité buccale des enfants

Présenté par :

Abbas Mélissa & Makhloufi Thilleli

Soutenu le : 12 Septembre 2022

Devant le jury composé de :

M. BENSALD K.

Mme. BENACHOUR K.

Mme. MOUICI K.

MAA

MAA

MCB

Président

Encadreur

Examinatrice

Année Universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

« Nous nous devons remercier ALLAH le tout-puissant la volonté et le courage qu'il nous a donné pour l'achèvement de ce travail. »

On adresse nos vifs remerciements à notre promotrice Mme BENACHOUR K. pour nous avoir encadrées, et sa constante disponibilité et ces conseils.

Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté de contrôler ce travail. Mme MOUICI K. & Mr BENSALD K.

Nous tenons à remercier également les cadres de laboratoire de département de la science de la nature et de la vie.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

A Tous ces personnes, nous offrons notre respect et nous leur souhaitons une protection divine et une vie longue et heureuse.



- Abbas.M & Makhloufi.T -

Dédicace

*Je dédie ce travail à la source de mes efforts, la flamme de
mon cœur : ma mère.*

*A mon grand-père **Ahmed**, à mon frère **Brahim**, ma sœurs
Karima, sans oublier mon adorable amie **Lydia**.*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé
durant mon chemin d'étude.*



- Abbas.M -

Dédicace

*Je dédie ce travail à mes parents,
mes grands-parents, mon frère, mes sœurs,*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé
durant mon chemin d'étude.*



Makhloufi.T -

Sommaire

Sommaire

Remerciements

DEDICACE

SOMMAIRE

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Glossaire

INTRODUCTION GENERALE..... 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

I.1. Historique	2
I.2. Classification phylogénique	2
I.3. Habitat	2
I.4. Caractères bactériologiques.....	3
I.4.1. Caractères morphologiques	3
I.4.2. Caractère culturaux	3
I.4.3. Caractères biochimiques	4
I.5. Mode de transmission	4
I.6. Résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....	4
I.6.1. Résistance à la pénicilline	5
I.6.2. Résistance à la méthicilline	5
I.6.3. Résistance à la vancomycine.....	5
I.7. Facteurs de virulence.....	6
I.7.1. Facteurs structuraux	7
I.7.1.1. Capsule polysaccharidique.....	7
I.7.1.2. Peptidoglycane	7
I.7.1.3. Acides téchoïques.....	7
I.7.2. Composants de la surface	7
I.7.2.1. Protéine A (spa).....	7
I.7.2.2. Adhésines	7
I.7.2.2.1. Protéine de liaison à la fibronectine	8
I.7.2.2.2. Protéine de liaison au fibrinogène.....	8
I.7.2.2.3. Protéine de liaison au collagène (CNA).....	8
I.7.3. Composants sécrétés	8

Sommaire

I.7.3.1. Exoenzymes	8
I.7.3.1.1. Coagulase libre	8
I.7.3.1.2. Hyaluronidase	9
I.7.3.1.3. Staphylokinase	9
I.7.3.1.4. Catalase	9
I.7.3.1.5. Protéases.....	9
I.7.3.2. Toxines	9

II. CAVITE BUCCALE

II.1. Généralités	11
II.2. Structure de la cavité buccale	12
II.2.1. Langue.....	12
II.2.2. Dent.....	12
II.2.3. Gencive	12
II.2.4. Salive et les glandes salivaires	12
II.2.5. Amygdales	12
II.2.6. Flore buccale.....	13

METHODOLOGIE DU TRAVAIL

I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Cadre et l'objectif de l'étude.....	15
I.2. Origine des souches.....	15
I.3. Revivification et purification des souches	15
A. Sur le bouillon nutritif	15
B. Sur milieu Chapman	15
I.4. Observation microscopique et macroscopique.....	15
I.4.1. Coloration de Gram.....	15
I.4.2. Test de catalase.....	16
I.4.3. Test de coagulase	16
I.5. Mise en évidence des facteurs de virulence	17
I.5.1. Présence de la capsule	17
I.5.2. Croissance dans le plasma Humain.....	17
I.5.2.1. Obtention des cellules bactériennes	17
I.5.2.2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford.....	18
I.5.2.3. Elaboration de courbe d'étalonnage des protéines.....	18
I.5.3. Préparation des échantillons.....	19

Sommaire

I.6. Résistance aux antibiotiques	20
II. RESULTATS ET DISCUSSION	
II.1. Revivification et purification des souches de <i>S. aureus</i>	22
A. Sur le bouillon nutritif	22
B. Sur le milieu Chapman	22
II.2. Observation microscopique et macroscopique	23
II.2.1. Coloration de Gram	23
II.2.2. Test de catalase	23
II.2.3. Résultats de test de coagulase	23
II.3. Mise en évidence des facteurs de virulence	24
II.3.1. Capsule.....	24
II.3.2. Croissance dans le plasma Humain.....	24
II.3.3. Dosage des protéines.....	24
II.3.4. Dosage des protéines de <i>S. aureus</i>	25
II.3.5. Résistance aux antibiotiques	26
A. Céfoxitine	27
B. Vancomycine	27
CONCLUSION GENERALE.....	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Liste d'abréviation

BHIB : Brain Hearth Infection Broth

BSA : Bovine Sérum Albumine

DNase : Désoxyrébo Nuclease

EDTA : Ethylène diamine tétra acétique

MH : Mueller-Hinton

MSA : Mannitol-Salt-Agar

MSCRAMM : Molécule de Matrice Adhésive Reconnaissant les composants de la surface Microbienne

NaCL : Chlorure de sodium

ORL : OTO- Rhino-Laryngologie

PLP : Protéine de Liaison à la Pénicilline

PLP2a : Protéine liant la Pénicilline de type 2a

PM : Poid Moléculaire

PVL : Panton-Valentine Leucocidine

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* résistante a la méthicilline

SERAM : Molécule Adhésive ayant un spectre de sécrétion Elargi

Spa : Protéine A Staphylococcique

SSSS : Staphylococcal scalded skin syndrom

SSTIs : Skin and soft tissu infections

TNF α : Facteur Nécrose Tumorale α

TNFR1 : Récepteur 1 du TNF α

TSA : Tryptic Soy Agar

Liste d'abréviation

TSST-1 : Toxic Shock Syndrom Toxin

Liste des tableaux

Tableau I: Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i> (Camille, 2014).....	2
Tableau II: Progression historique de l'antibiorésistance du <i>S. aureus</i> (Pittet et <i>al.</i> , 2000). 4	4
Tableau III: Toxines impliquées dans la virulence de <i>S. aureus</i> (Vincenot et <i>al.</i> ,2008).....	10
Tableau IV: Principale Bactéries de la cavité buccale (Rossi et <i>al.</i> , 1995).....	13
Tableau V: Préparation de la gamme d'étalon de BSA (100µg/µl).	19
Tableau VI: Préparation de la gamme d'étalon des protéines de <i>S. aureus</i> (100µg/µl).....	20
Tableau VII: Résultats de l'absorbance de la gamme d'étalon	25
Tableau VIII: Résultats de la mesure de la DO pour le dosage des protéines.....	26
Tableau IX: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition en (mm).....	28

Liste des figures

Figure 1 : Image de <i>Staphylococcus aureus</i> (Avril et al., 1992).....	3
Figure 2 : Facteurs de virulence chez <i>Staphylococcus aureus</i> (Lowy, 1998)	6
Figure 3 : Schéma d'anatomie de la cavité buccale (Tortora et al., 2009).....	11
Figure 4 : Schéma des étapes de l'obtention du culot	18
Figure 5 : Test d'antibiogramme.	21
Figure 6 : L'aspect des colonies des isolas de <i>S. aureus</i> sur le bouillon nutritif.....	22
Figure 7 : Aspect des souches <i>S. aureus</i> dans le milieu Chapman.....	22
Figure 8 : Résultat du test de catalase	23
Figure 9 : Résultat de la coagulase	23
Figure 10 : Résultats de la croissance de <i>S. aureus</i> dans le plasma Humain.	24
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la solution BSA (1000 mg/ml).....	25
Figure 12 : Résultats de test d'antibiogramme	27

Glossaire

Adhésion

L'adhésion est le processus dynamique permettant à une bactérie de passer de l'état libre à l'état fixe.

Adhésines

L'adhésine est une molécule adhésive bactérienne jouant le rôle de ligand dans une interaction de type ligand-récepteur.

Bactériémie

La bactériémie traduit le passage dans le courant sanguin, dans certaines circonstances, des bactéries de la Flore buccale et des foyers infectieux d'origine buccale.

Biofilm

Le biofilm est un film de micro-organismes d'une ou plusieurs espèces, adhérant à une surface submergée ou soumise à un environnement aqueux.

Habitat

L'habitat d'un organisme est le site où il s'établit dans l'écosystème.

Infection focale

L'infection focale est le processus expliquant l'apparition d'un foyer secondaire à partir d'un foyer primaire.

Taxonomie

Système de classification des bactéries.

Source : (Queuvauvillierz et *al.*, 2007).

Introducción General

Introduction Générale

La cavité buccale entre en contact avec des nombres considérables des microorganismes à partir d'une variété de source environnementales extérieure (L'air, l'eau, nourriture), et avec d'autres êtres Humains ; le personnel médical soignant, la famille, amis (**Liljemark, Bloomquist, 1996**). Elle est considérée comme un potentiel réservoir pour les microorganismes pathogènes respiratoire (**Mojon, 2002**).

Plusieurs groupes de microorganismes sont présentes dans la cavité buccale tels que ; les bactéries, virus, protozoaire, levures (**Fasquelle, 1974**). Parmi ces microorganismes ; *Staphylococcus aureus*, qui est considéré l'une des espèces la plus pathogènes présent dans la microflore buccale chez les malades hospitalisés (**Teng et Col, 2002**).

Staphylococcus aureus fait partie des agents étiologiques par la présence de nombreux facteur de virulence (**Manadhar et al., 2018**), qui sont les exoenzymes, les toxines, les adhésines. ces souches de *S. aureus* produisant des exotoxines tels que la Leucocidine de Panton et Valentine, Jouer un rôle important dans les infections communautaires (**Shallcross et al., 2013**).

Au cours de cette étude, on s'est intéressé à la mise en évidence de certains facteurs de virulence comme la présence de la capsule, la résistance aux antibiotiques, la production des substances coagulant le plasma Humain en suivant la croissance des souches de *S. aureus* dans ce milieu physiologique, afin de répondre à la problématique suivant : la virulence de *S. aureus* impliquée dans des infections Humaines est due à la production de plusieurs composés, quels sont ces composés ?

Ce manuscrit comporte deux parties :

La partie 1 est une synthèse bibliographique portant une présentation des *Staphylococcus aureus* et ces facteurs de virulence, et des généralités sur la cavité buccale.

La partie 2 expose une description des protocoles expérimentaux utilisés (matériel et méthodes) ainsi que les résultats obtenus, L'ensemble des résultats sera ensuite discuté pour aboutir une conclusion générale.

Synthèse bibliographique

I.1. Historique

Les staphylocoques ont été identifiés dès l'aube de l'ère pasteurienne par Luis Pasteur (**Fleurette, 1989**). C'est à Sir Alexander Ogston que l'on doit l'isolement de la bactérie, en 1881, après l'analyse microscopique des prélèvements de pus provenant d'abcès Humaine (**Ogeston, 1882 ; Krakaeur et al., 2016**). Ses travaux aboutissent, à la description des staphylocoques (du grec « staphyle » pour grappe de raisin), par opposition aux streptocoques (coques en chaîne) (**Dicko, 2013 ; Oliveira et al., 2018**). En 1884, **Rosenbach** cultiva le staphylocoque in vitro et décrivit deux premières espèces, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, différenciées par la couleur des colonies obtenues, étaient dorées et blanches (**Thomer et al., 2016**).

I.2. Classification phylogénique

La classification de Bergey est illustrée dans le (**Tableau I**).

Tableau I : Taxonomie de *Staphylococcus aureus* (Camille, 2014).

Règne	Bactéria ou Eubacteria
Phylume	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

I.3. Habitat

Staphylococcus aureus est une bactérie à laquelle nous sommes quotidiennement exposés mais seulement certaines personnes sont porteuses sur de longue période (**Sollid et al., 2014**). Cette bactérie fait partie de la flore commensale de l'Homme et de l'animal. Elle est présente sur la peau et les muqueuses, notamment au niveau des voies aériennes respiratoires supérieures et dans les intestins. Chez l'Homme, elle est principalement retrouvée dans les muqueuses nasales en raison de l'affinité de la bactérie pour l'épithélium qui tapisse les cavités (**Aly et al., 1977 ; Mulcahy et al., 2012**).

Les staphylocoques peuvent également survivre sur des surfaces inanimées telles que la literie, et les poignées de portes (**Freeman-Cook, 2006**).

I.4. Caractères bactériologiques

I.4.1. Caractères morphologiques

Les staphylocoques sont des coques Gram positif, non mobiles, non sporulés, de 0,5 à 1,5 μm de diamètre (**Larpent, 2010 ; Prescott et al., 2013**) (**Figure 01**).

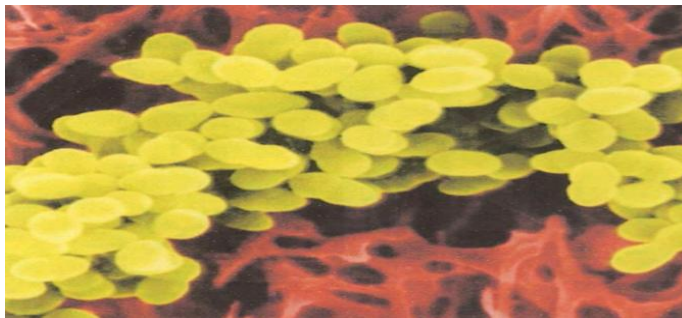


Figure 1 : Image de *Staphylococcus aureus* (Avril et al., 1992)

Sur les milieux solides, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de « grappes de raisin » (**Ananthanarayan et Paniker, 2006**). Alors qu'en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chainettes (**Le loir et al., 2003**).

La majorité des souches de *S. aureus* sont capsulées, mais elles peuvent perdre leurs capsules après cultures (**Le loir et al., 2010**).

I.4.2. Caractère culturaux

S. aureus est capable de croître sur une large gamme de milieux de culture, sélectifs (gélose Chapman, et Braid Parker), ou non sélectifs (milieu enrichi en sang, gélose nutritive). Sur une gélose au sang, les souches « typiques » de *S. aureus* donnent des colonies lisses, convexes avec des diamètres de 1 à 3 mm, de couleur jaune dorée due aux caroténoïdes, et sont souvent hémolytiques (**Frenay, 2007**).

Elles sont des bactéries mésophiles (croissance optimal à 37°C), neutrophiles et se développent à de fortes concentrations en NaCl (**Le Loir et al., 2010**). De plus, cette bactérie possède la capacité de croître dans des conditions hostiles avec des températures de 7 à 48°C ou un pH compris entre 4 et 10 (**Valero et al., 2009**).

I.4.3. Caractères biochimiques

Le métabolisme de *Staphylococcus aureus* est de type aéro-anaérobie facultatif qui produit une catalase, mais pas de l'oxydase (Cheng et al., 2010). Elle se distingue des autres espèces par la présence des pigments jaune dorée de ses colonies, et par la fermentation de mannitol, coagulase positive (Wilkinson et al., 1997) ainsi la production d'enzyme de type DNase (Couture, 1997). Il est : indole -, Acétone +, uréase +, VP+, MR+, réduisant le tellurite et le nitrate de potassium en produisant de nitrite et d'ammoniac à partir de l'arginine (Freney et al., 1999).

I.5. Mode de transmission

La transmission des souches de staphylocoques peut être due soit à un portage direct par l'individu lui-même, soit par une contamination transitoire par un autre réservoir (Price et al., 2016).

I.6. Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle ou synthétique, dont la majorité a été découvert entre 1940 et 1960. Il existe de nombreux antibiotiques répartis en différentes familles selon leur structure moléculaire ainsi leur mode d'action (Lewis, 2013).

L'évolution de l'antibiorésistance du *S. aureus* est englobée dans le (tableau II).

Tableau II : Progression historique de l'antibiorésistance du *S. aureus* (Pittet et al., 2000).

Période	Historique
1942	- Découverte de la pénicilline - Premières souches de <i>S. aureus</i> résistantes à la pénicilline
1950	- Augmentation de la proportion des souches de <i>S. aureus</i> résistantes à la pénicilline
1956	- Découverte de la vancomycine
1960	- Introduction des pénicillines antistaphylococciques (famille de la méthicilline) - Emergence de souches de <i>S. aureus</i> résistantes à la méthicilline (SARM) (gène mecA)
1970	- Augmentation de la proportion des souches de SARM

	- Augmentation de l'utilisation de vancomycine
1980	- SARM endémique dans la plupart des hôpitaux, en particulier aux USA - Utilisation élargie de la vancomycine, y compris en prophylaxie chirurgicale dans les hôpitaux à forte endémicité pour SARM - Introduction et utilisation rapide large de la teicoplanine
1997-1999	- Modification de la paroi (gène vanA)

I.6.1. Résistance à la pénicilline

Des souches de *S. aureus* produisant des pénicillinases ont été détectées, suite à l'introduction de la pénicilline dans les années 40 (**Holmes et al., 2011**). Cette antibiotique est définie par la présence d'un anneau β -lactame essentiel à son activité (**Vestergaard et al., 2019**). En effet la pénicilline induit un dysfonctionnement toxique de l'appareil de biosynthèse de la paroi qui implique un cycle continu de synthèse et d'autolyse (**Foster, 2017**).

I.6.2. Résistance à la méthicilline

Les premiers isolats résistants à la méthicilline sont apparus en 1960 (**Peacock et Paterson, 2015**). La paroi bactérienne des staphylocoques est formée d'une épaisse couche de peptidoglycane, structure réticulée de N-acétyl glucosamine, N-acétyl muramique et de térapeptides linéaires composé de L-alanine-D-glutamine-L-lysine-D-alanine. La synthèse de la paroi est un phénomène continu chez les bactéries impliquant des réactions de transglycosylation et de transpeptidation. Les β -lactamines sont des antibiotiques bactéricides pour *S. aureus* comprenant les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes. Leurs cibles sont des enzymes impliquées dans les réactions de transglycosylation et transpeptidation, nommées protéines liant les pénicilline (PLP). Les β -lactamines inhibent la synthèse de la paroi via l'acylation des PLP essentielles à la survie de *S. aureus* (**Bush et Bradford, 2016**).

I.6.3. Résistance à la vancomycine

La vancomycine est un antibiotique capable de diffuser à travers la paroi des bactéries à Gram positif pour atteindre sa cible, le dipeptide D-Ala-D-Ala, à l'extrémité du peptidoglycane. La vancomycine est une grosse molécule qui ne pénètre pas à l'intérieur du cytoplasme. Elle n'atteint sa cible que lorsque les dipeptides sont transloqués à la surface

extérieure de la membrane bactérienne (Santos-Beneit et al., 2017). Cet antibiotique est utilisé dans le cas d'infections causées par des souches de *S. aureus* SARM. Son utilisation à l'échelle planétaire a exercé une pression de sélection sur *S. aureus* entraînant l'émergence de clones résistants (Leloir et Gautier, 2010).

I.7. Facteurs de virulence

S. aureus est responsable d'un grand nombre d'infections chez l'Homme, notamment des infections cutanées (folliculites, impétigos, panaris, furoncles) et des infections des muqueuses (conjonctivites, pneumonies, otites, salpingites, endométrites) (Lowy, 1998).

Ces infections peuvent mener à des bactériémies et faire l'objet de métastases septiques à l'origine de foyers des infections profonds (Pilly, 2008).

La capacité des staphylocoques pathogènes à provoquer de nombreuses infections différentes est probablement due à l'expression de nombreuses toxines, facteurs de virulence et protéines qui adhèrent à la paroi cellulaire (Belmamoun, 2016) (Figure 02).

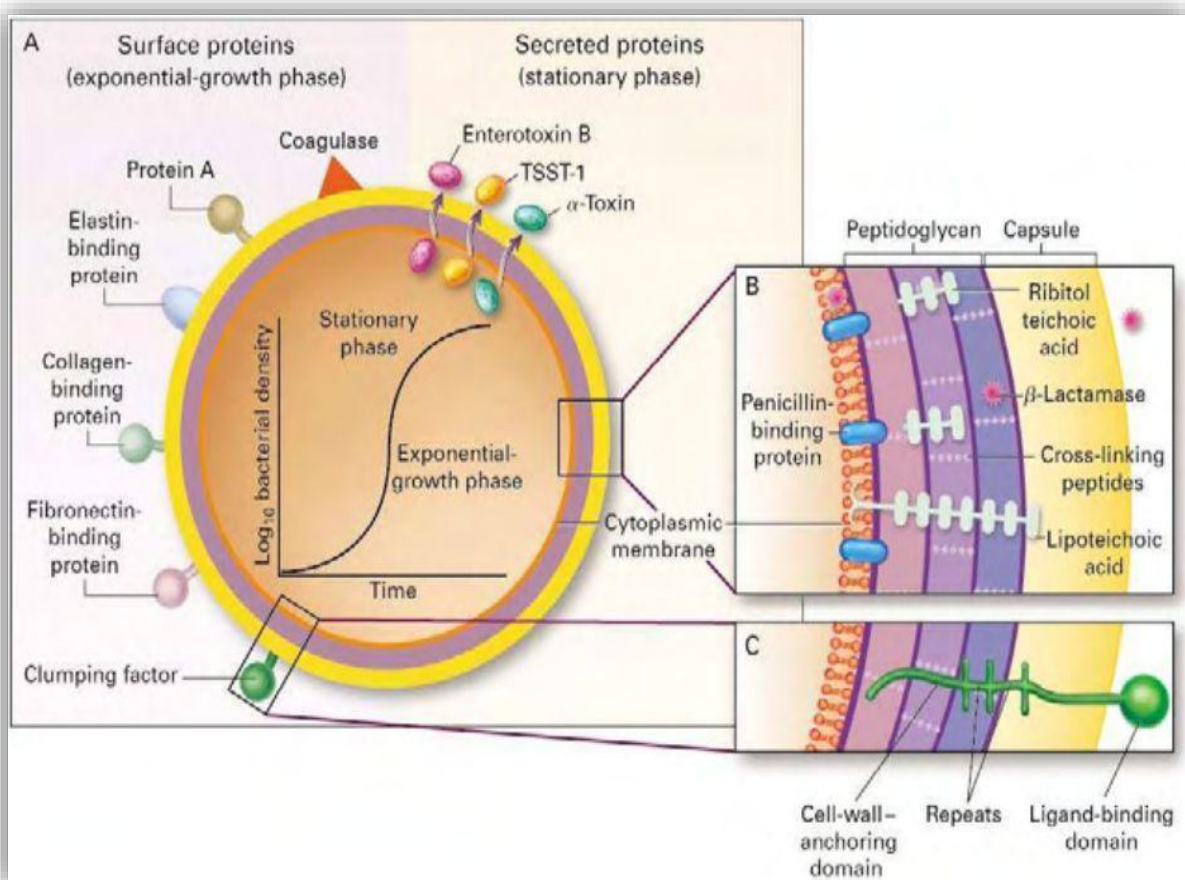


Figure 2 : Facteurs de virulence chez *Staphylococcus aureus* (Lowy, 1998)

I.7.1. Facteurs structuraux

Ils interviennent dans la reconnaissance de *S. aureus* par les cellules hôtes.

I.7.1.1. Capsule polysaccharidique

La capsule améliore la virulence en conférant à la bactérie une meilleure résistance face au système immunitaire de l'hôte, notamment en interférant avec la phagocytose, (Nilsson *et al.*, 1997 ; O'Riordan et Lee, 2004 ; Cunnion *et al.*, 2003 ; Nanra *et al.*, 2013). Elle facilite également l'adhérence de *S. aureus* aux cellules épithéliales, endothéliales, monocytes. Dans ce cas, elle induit la sécrétion par ces cellules de cytokines inflammatoires (IL-1 β , IL6, TNF, IFN) et la chimiokine (IL-8) (Nilsson *et al.*, 1997 ; Soell *et al.*, 1995).

I.7.1.2. Peptidoglycane

Le peptidoglycane est immunogène et mitogène (Groves *et al.*, 1978 ; Dziarski *et al.*, 1979 ; Verbrugh *et al.*, 1983). Il possède une activité chimiotactique sur les neutrophiles en stimulant l'activation de la cascade du complément (Riber *et al.*, 1990).

I.7.1.3. Acides téichoïques

Ils sont également appelés polysaccharides A, caractérisent les réponses immunes en réaction aux infections à bactérie à Gram positif (Karthik, 2007), jouent un rôle de contrôle de l'activité enzymatique et protection contre le stress environnemental (Xia *et al.*, 2010).

I.7.2. Composants de la surface

I.7.2.1. Protéine A (spa)

Il s'agit d'une protéine de 42KD, caractéristique de l'espèce *S. aureus*, Se lie à la partie FC de l'immunoglobuline (Sutra et Poutrel, 1994). Elle représente l'un des mécanismes les plus importants d'évasion immunitaire de *S. aureus* en liant notamment aux IgG, aux récepteurs 1 du TNF et aux facteurs de Von willebrand (Lacey *et al.*, 2016). Elle favorise le développement de biofilm et joue un rôle dans la protection de la bactérie contre les agents antimicrobiens (Merino *et al.*, 2009).

I.7.2.2. Adhésines

Elles sont des protéines bactériennes nommées MSCRAMM ou « Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules », *S. aureus* exprime ces protéines à sa surface pour favoriser l'attachement à certaines molécules de l'hôte telles que la

fibronectine, la laminine, le collagène qui forment la matrice extracellulaire des surfaces épithéliales et endothéliales (Clarke et al., 2006 ; Foster, 2013).

I.7.2.2.1. Protéine de liaison à la fibronectine

C'est une protéine qui est présent dans la majorité des souches de *S. aureus* (Vaudaux et al.,1995). La fixation à la fibronectine permet une interaction avec les récepteurs de la fibronectine au niveau de la cellule hôte. Cette interaction permet ainsi à *S. aureus* d'adhérer une large gamme de types cellulaires différents, telle que les cellules épithéliales et endothéliales, les ostéoblastes, les fibroblastes, les kératinocytes (Paharik et al., 2016 ; Lacey et al., 2016).

I.7.2.2.2. Protéine de liaison au fibrinogène

Elle est appelée également coagulase liée, est responsable de l'adhésion bactérienne aux tissus endommagés et aux caillots sanguins (Foster et al., 2013 ; Bodén et al., 1989). C'est une protéine de surface pouvant être diffusible suite à l'autolyse., elle est dépourvue d'activité enzymatique et elle inhibe la phagocytose par les neutrophiles en formant à la surface de *S. aureus* une couche protectrice de fibrinogène, empêchant la reconnaissance du pathogène, même opsonisé (Ko et al., 2013). Au sein du genre *Staphylococcus*, uniquement l'espèce *S. aureus* possède cette protéine (Brown, 2005).

I.7.2.2.3. Protéine de liaison au collagène (CNA)

La CNA représente un facteur de virulence dans l'arthrite septique, influence la progression des infections bactériennes dans divers modèles animaux, permet également aux bactéries d'adhérer suffisamment fortement aux structures tissulaires contenant leur ligand. Ainsi, se lie à la protéine C1q du complément et empêche la voie classique de fixation du complément. De plus, la CNA contribue à la virulence des kératites à *S. aureus*, des ostéomyélites, et des mammites démontrant que la capacité d'interagir avec le collagène offre un avantage général aux bactéries dans la pathogenèse (Patti et al., 1994 ; Herman-Bausier et al., 2016 ; Paharik et al., 2016 ; Madani et al., 2017).

I.7.3. Composants sécrétés

I.7.3.1. Exoenzymes

I.7.3.1.1. Coagulase libre

Appelée également la staphylocoagulase, c'est une protéine extracellulaire thermostable caractérise les souches de *S. aureus*, à l'exception de *Staphylococcus delphini*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, qui possèdent aussi la coagulase

(Langlet et al., 1992). Elle provoque la coagulation du plasma Humain ou du lapin en absence de Ca²⁺, (prélevé sur EDTA, oxalate, héparine, citrate) (Avril et al., 1992). Elle forme avec la prothrombine du plasma, un complexe nommé Staphylothrombine qui converti le fibrinogène en fibrine (Peacock, 2006).

I.7.3.1.2. Hyaluronidase

C'est une enzyme extracellulaire thermolabile qui hydrolyse l'acide Hyaluronique, ce qui permet la diffusion tissulaire des *S. aureus* (Makris et al., 2005). Cette enzyme est produite uniquement dans la phase exponentielle de croissance (Poncholi, 2002).

I.7.3.1.3. Staphylokinase

C'est une glycoprotéine de 136 acides aminés sécrétée par certaines souches de *S. aureus* (Alessi, 2000). Elle forme un complexe avec le plasminogène, (Deverrière et al., 2007). Facilite ainsi les précurseurs de la protéase fibrinolytique plasmine et l'activation des plasminogènes (Jin et al., 2004). Cette enzyme joue un rôle dans la formation d'embolies septiques (Avril et al., 1992).

I.7.3.1.4. Catalase

Cette enzyme empêche la formation de radicaux oxygénés toxiques, après avoir inhibé la bactéricidie intraleucocytaire (Peacock, 2006).

I.7.3.1.5. Protéases

Elles sont présentée chez *S. aureus* et regroupent les métalloprotéases, les sérines protéases et les thiolprotéases (Arvidson, 1973 ; Drapeau, 1978). La protéase joue un rôle dans la protection de *S. aureus* par la clivation de certains peptides antimicrobiens cationiques tels que la cathélicidine LL-17 produite par les neutrophiles et les kératinocytes (Sieprawska-Lupa et al., 2004).

I.7.3.2. Toxines

Les souches *S. aureus* sécrètent un grand nombre de toxines. Elles sont résumées dans le **tableau III**.

Tableau III : Toxines impliquées dans la virulence de *S. aureus* (Vincenot et al., 2008)

Familles	Principales toxines	Mécanismes d'action
Toxines Super antigéniques	<ul style="list-style-type: none">- Toxine du choc toxique staphylococcique - Entérotoxines A à E, G, I à U	<ul style="list-style-type: none">-Choc toxique staphylococcique par activation du système immunitaire et libération de cytokines de l'inflammation. - Réaction auto-immune. - Intoxication alimentaire.
Toxines formant Des pores	<ul style="list-style-type: none">- Toxines à hélice alpha - Alpha-hémolysine - Gamma-hémolysine -Leucocidine de Panton-Valentine	<ul style="list-style-type: none">- Destruction des cellules de défense de l'hôte par formation de pores au niveau des membranes cellulaires.
Toxine à activité protéolytique	<ul style="list-style-type: none">- Exfoliatines	<ul style="list-style-type: none">-Syndrome d'exfoliation généralisé - Impétigo bulleux staphylococcique

II.1. Généralités sur la cavité buccale

La cavité buccale est située entre le massif osseux facial supérieur et la mandibule, elle est divisée en deux parties par l'interposition des arcades alvéolo-dentaires en forme de fer à cheval. Elle contient les lèvres muqueuses, réunies latéralement au niveau des commissures labiales, la langue, le plancher buccal, les gencives, les vestibules, la face interne des joues, les trigones rétro molaires et le palais (**figure 03**). (**Maladière et Vacher, 2016**). Elle est limitée par les lèvres en avant, deux parois latérales formée la face interne des joues, la voute palatine (palais osseux ou dur) et le voile du palais (palais mou) en haut, une paroi inférieure composée du plancher buccal (muscle mylohyoïdien) dans lequel la région cervicale dont la partie centrale est occupée par la langue mobile et en arrière les piliers antérieurs et postérieurs ainsi que la tonsille palatine latéralement et l'isthme du gosier par laquelle la cavité buccale communique en arrière avec le pharynx (**Maladière et Vacher, 2016**).

Elle assure plusieurs fonctions grâce aux différents organes qu'elle possède (**Voellinger, 2017**).

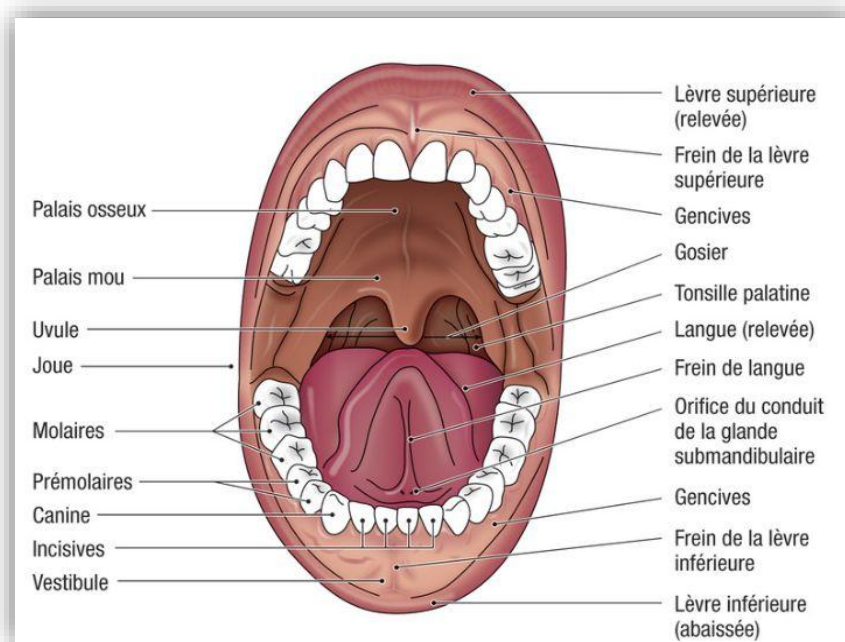


Figure 3 : Schéma d'anatomie de la cavité buccale (Tortora et *al.*, 2009)

II.2. Structure de la cavité buccale

La cavité buccale est composée de :

II.2.1. Langue

La langue est un organe musculaire et mobile, c'est le plus volumineux dans la cavité buccale (**Jung, 2018**) Elle est impliquée dans la perception du goût grâce aux papilles qui se situent à sa surface mais elle joue également un rôle essentiel dans la phonation, la déglutition et la mastication (**Sevenmice, 2008**).

II.2.2. Dent

La dent est formée d'une couronne (la partie visible de la dent), d'une ou plusieurs racines (la partie invisible de la dent) et d'un collet séparant les deux. Plus largement l'organe dentaire comprend l'odonte (l'email, la dentine, le cément et la pulpe) et le parodonte (tissus de soutien de la dent) (**Lautrou, 1997**).

II.2.3. Gencive

La gencive est un muqueux buccal masticatoire, recouverte de kératine, qui recouvre les procès alvéolaires des mâchoires et entoure les parties cervicales des dents. Fermement accrochée aux dents et à l'os environnant, la gencive est la partie visible du parodonte que l'on examine lors de l'examen buccal initial. (**Aude, 2011**).

II.2.4. Salive et les glandes salivaires

La salive est un liquide biologique incolore et visqueux qui baigne la cavité buccale la sécrétion salivaire est assurée par trois paires de glandes salivaires principales : la glande parotide, la sous maxillaire et la sublinguale et par une grande quantité de glandes accessoires dispersées dans la muqueuse bucco pharyngée. Elle est constituée à 99% d'eau et 1% de constituants organiques et inorganique (**Jung, 2018**).

II.2.5. Amygdales

Les amygdales doivent leur nom à la sensation de striction de la gorge (latin : angere = serrer, suffoquer) (**Mallet, 1997**). Elles forment de cellules stimulaire aux lymphocytes du système sanguin fixé dans des tissus fibreux et elles jouent aussi un rôle dans la protection du pharynx, des invasions bactériennes (**Dedio et al., 1988**).

II.2.6. Flore buccale

La cavité buccale héberge plusieurs espèces bactériennes Gram positifs et Gram négatifs (**Tableau IV**), et de champignons. Tous ces microorganismes rassemblés sous le nom de la flore buccale, vivent dans un écosystème buccal et constituent le biofilm buccal (**Sixou et al., 2007**).

Tableau IV : Principale Bactéries de la cavité buccale (Rossi et al., 1995).

Bactéries à Gram positif	Genre	Espèces buccales
Bacilles facultatifs	<i>Actinomyces</i>	<i>Naeslundii</i>
		<i>Viscosus</i>
	<i>Corynebacterium</i>	<i>Matruchotii</i>
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Acidophilus</i>
	<i>Rothia</i>	<i>Mucilaginosus</i>
Bacilles anaérobies	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Jentium</i>
	<i>Clostridium</i>	<i>Butiricum</i>
		<i>Ramsus</i>
	<i>Eubacterium</i>	<i>Brachy</i>
		<i>Yurrii</i>
Cocci facultatifs	Enterococcus	Faecalis
	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>
		<i>Epidermidis</i>
<i>Streptococcus oraux</i>	<i>Pneumoniae</i>	
Cocci anaérobies	<i>Fingoldia</i>	<i>Magna</i>
	<i>Peptococcus</i>	<i>Niger</i>
Bactéries à gram négatif		
Bacilles anaérobies non mobile	<i>Tannerella</i>	<i>Forsythia</i>
	<i>Porphyromonas</i>	<i>Endodontalis</i>
		<i>Gingivalis</i>
Bacilles anaérobies mobiles	<i>Selenomonas</i>	<i>Artemidis</i>
		<i>Flueggei</i>
	<i>Centipeda</i>	<i>Periodontii</i>

Bacilles facultatifs non mobile	<i>Aggregatibacter</i>	<i>Actinomycetemcomitans</i>
	<i>Eikenella</i>	<i>Corrodens</i>
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Aeruginosa</i>
Bacilles facultatifs mobiles	<i>Campylobacter</i>	<i>Cansisus</i>
		<i>Sputorum</i>
	<i>Capnocytophaga</i>	<i>Gingivalis</i>
		<i>Sputigena</i>
Cocci anaérobies	<i>Veillonella</i>	<i>Atipyca</i>
		<i>Dispar</i>
Cocci aérobies ou facultatifs	<i>Neisseria</i>	<i>Sicca</i>
	<i>Moraxella</i>	<i>Catarrhalis</i>

Méthodologie du travail

I.1. Cadre et l'objectif de l'étude

Cette étude a été effectuée au niveau du laboratoire biologie générale de l'université A. Mira Bejaia, durant une période allant du mois de mai jusqu'au mois de juillet 2022. L'objectif principal de ce travail s'est axé sur l'évaluation de certains facteurs de virulence des souches de *Staphylococcus aureus* isolés de la cavité buccale des enfants.

I.2. Origine des souches

Les souches de *Staphylococcus aureus* utilisées dans cette étude sont isolées à partir des angines infantiles (origine clinique) consultés dans les structures hospitalières de la wilaya de Bejaia. Un total de 22 souches a été étudié.

I.3. Revivification et purification des souches

La revivification des souches a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure. Des repiquages successifs ont été réalisés sur gélose Chapman et sur le bouillon nutritif (BN).

Les souches de *S. aureus* utilisées dans cette étude ont été conservées dans des tubes de bouillon nutritif, conservés à 4°C.

A. Sur le bouillon nutritif

Un volume de 1 ml de la culture déjà conservée a été repiqué dans des tubes de 9ml de bouillon nutritif puis incubé à 37°C durant 24h.

B. Sur milieu Chapman

Elle consiste à ensemencer la surface de la gélose Chapman, à l'aide d'une anse de platine, incubées à 37°C pendant 24h.

La purification des souches a été réalisée sur le milieu Chapman. Pour s'assurer de cette dernière, l'étape des observations macroscopiques et microscopiques est indispensable.

I.4. Observation macroscopique et microscopique

I.4.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram est utilisée dans le but de classification des bactéries en deux groupes, les bactéries à Gram positif qui apparaissent violettes et les bactéries à Gram négatif

qui apparaissent roses. Elle permet de se renseigner sur la forme et le regroupement des bactéries.

Les étapes suivantes ont été effectuées :

- Prélèvement d'une colonie isolée à l'aide d'une anse de platine ;
- Dépôt de la colonie sur une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame, et puis réaliser un étalement bactérien séché et fixé à la chaleur ;
- Coloration du frottis par le violet de gentiane, et laisser agir 1 min puis rinçage à l'eau distillée ;
- Etalement de la lame par une solution iodo-iodurée (Lugol), laisser agir 1min puis rinçage à l'eau distillée ;
- Décoloration à l'alcool et laisser agir de 10 à 15 secondes puis rinçage à l'eau distillée ;
- Contre coloration avec quelques gouttes de la fuchsine, et laisser agir pendant 1min ;
- Rinçage à l'eau distillé puis séchage.

L'observation du frottis coloré se fait sous le microscope optique (grossissement 10 x 100) après l'ajout d'une goutte de l'huile à immersion.

I.4.2. Test de catalase

Le test de catalase permet de différencier entre les espèces bactériennes bactérienne. A partir d'un isolement, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée, pour chaque souche de *Staphylococcus aureus*, puis placée sur une lame qui contient une goutte de peroxyde d'hydrogène, une réaction positive se traduit par un dégagement des bulles de gaz.

I.4.3. Test de coagulase

La coagulase est une protéine extracellulaire, permettant la différenciation des Staphylocoques à coagulase positive (SCP) des staphylocoques à coagulase négative (SCN). Le test est réalisé dans des tubes à hémolyse, par le mélange de 0,5 ml d'une culture de *S. aureus* de 24h sur bouillon BHIB avec 0,5 ml du plasma Humain. Homogénéisé en agitant le tube puis incubé à 37°C pendant 24h. Le milieu doit être observé toutes les 2 heures, un caillot moins compact visible avant la 24^{ème} heure doit être considéré comme positif. Coagulation du plasma = Coagulase positive, absence de caillot = Coagulase négative.

I.5. Mise en évidence des facteurs de virulence

I.5.1. Présence de la capsule

La capsule est généralement de nature polysaccharidique, ou protéique. Mise en évidence au microscope par la réalisation d'une coloration de spore qui consiste au dépôt d'une goutte d'une suspension bactérienne sur une lame et à une distance de 0,5 mm, une goutte de l'encre de Chine est déposée. Elle apparaît sous forme d'un halo clair et réfringent.

I.5.2. Croissance dans le plasma Humain

La croissance dans le plasma est réalisée dans le but de se renseigner sur la capacité de la synthèse des enzymes dans le sang vu que le plasma est un milieu très riche en protéines.

I.5.2.1. Obtention des cellules bactériennes

Une centrifugation nécessaire a été réalisée pour l'obtention des cellules qui permet le dépôt de ces dernières et la récupération de culot en éliminant du surnageant qui est un ensemble de métabolisme synthétique par les bactéries. Le protocole est illustré dans la **(Figure 04)**.

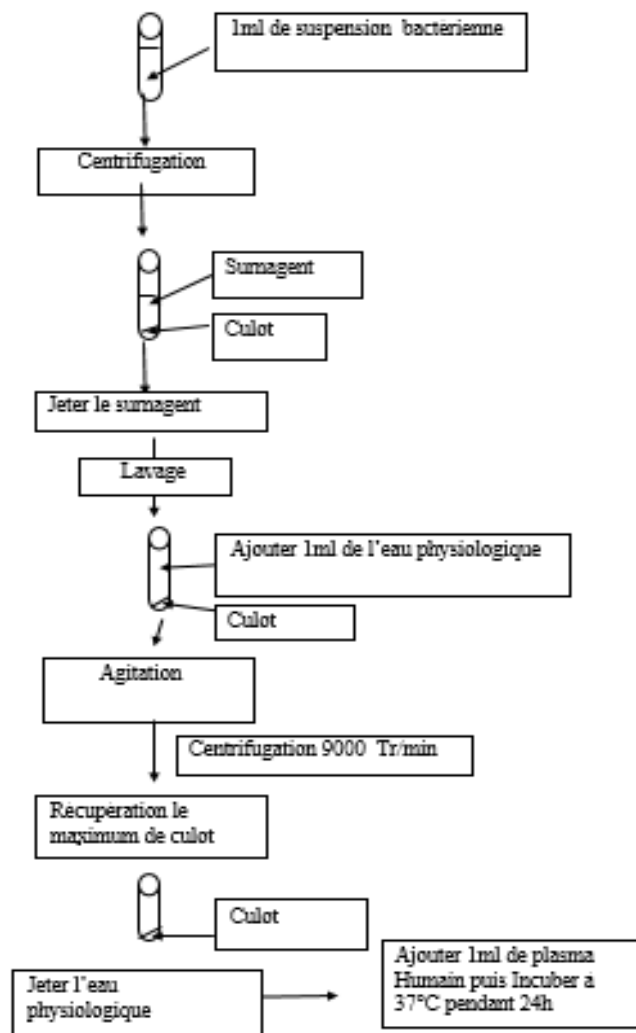


Figure 4 : Schéma des étapes de l'obtention du culot

I.5.2.2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

Le dosage des protéines est déterminé par la technique de Bradford (1976), cette technique est basée sur l'adsorption de bleu de Coomassie G- 250 sur les protéines.

I.5.2.3. Elaboration de courbe d'étalonnage des protéines

Une gamme d'étalon a été réalisée à partir d'une solution mère de sérum Albumine bovine (BSA) (100µg/µl) selon le (Tableau V).

Tableau V : Préparation de la gamme d'étalon de BSA (100µg/µl).

Tube n°											
Volume (µl)	Blanc	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
BSA(100µg/µl)	0	300	600	900	1200	1500	1800	21000	24000	27000	30000
Eau distillée (µl)	30000	27000	24000	21000	1800	1500	1200	900	600	300	0
Total (µl)	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000
réactif de Bradford (µl)	5000										

I.5.3. Préparation des échantillons

Après la récupération des surnageant des échantillons bactériens, une gamme d'étalonnage a été réalisée à partir de ces surnageant (100µg/µl) selon le (**Tableau VI**).

Tableau VI : Préparation de la gamme d'étalon des protéines de *S. aureus* (100µg/µl)

Tube n°	Blanc	1	2
Volume (µl)			
Surnageant (100µg/µl)	0	300	600
Eau distillée (µl)	30000	27000	24000
Total (µl)	30000	30000	30000
réactif de Bradford (µl)	5000		

I.6. Résistance aux antibiotiques

L'antibiogramme est une technique de laboratoire permet de tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques.

L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose à partir de disques d'antibiotiques selon les recommandations du CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute).

Ensemencement

Cette méthode consiste à déposer des disques d'antibiotiques sur la totalité de la surface de la gélose Muller Hinton (MH) ensemencée à partir d'une colonie caractéristique suspendue dans de l'eau physiologique. Pour cela, un prélèvement, à l'aide d'une anse de platine, de 3 à 4 colonies bien isolées à partir d'une culture pure et fraîche sur gélose, est effectué. Les colonies prélevées sont déchargées dans 5ml d'eau physiologique, et bien homogénéisées au vortex, pour obtenir un inoculum à 0,5 Mac Farland (10^8 UFC/ml).

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, et essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube pour le décharger. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface d'une boîte de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton sèche, de haut en bas en stries serrées puis l'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

Le disque des antibiotiques sont appliqués sur les boites de Pétri ensemencée à l'aide d'une pince stérile. Les boites ainsi obtenues sont incubées à 37°C pendant 24 heures (**Figure 05**).

À l'aide d'une règle, les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques sont mesurés et l'interprétation en Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R) est effectuée selon les critères définis par le (**EUCAST 2010 et 2019**):

Les antibiotiques testés sont les suivants :

Vancomycine 30µg, Clindamycine 10µg, Céfoxitine 30µg, Amoxicilline + Acide clavulanique 30µg,

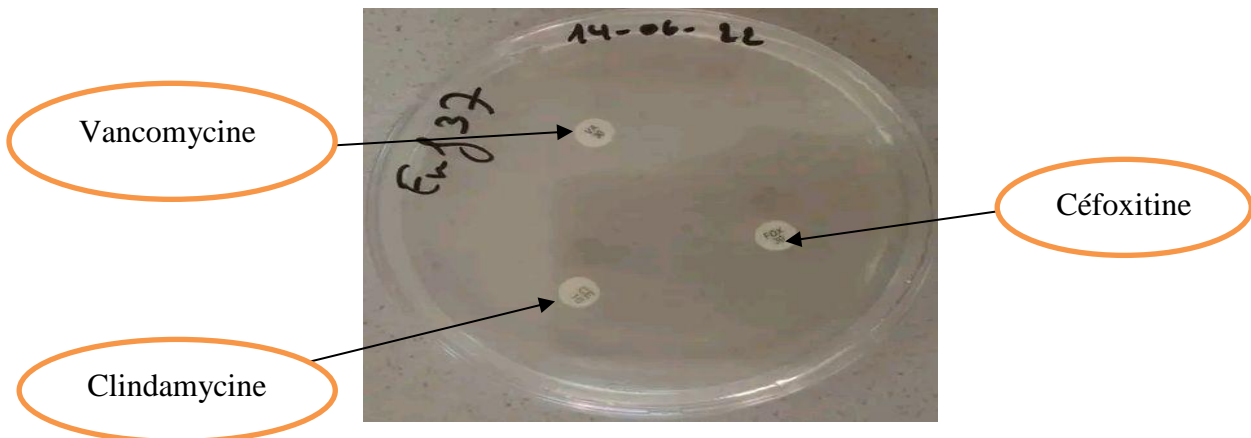


Figure 5 : Test d'antibiogramme.

Résultats et discussion

II.1. Revivification et purification des souches de *S. aureus*

A. Sur le bouillon nutritif

Dans le milieu nutritif liquide, la croissance des souches de *S. aureus* apparaît sous forme de trouble concentrée au fond du tube (**Figure 06**).

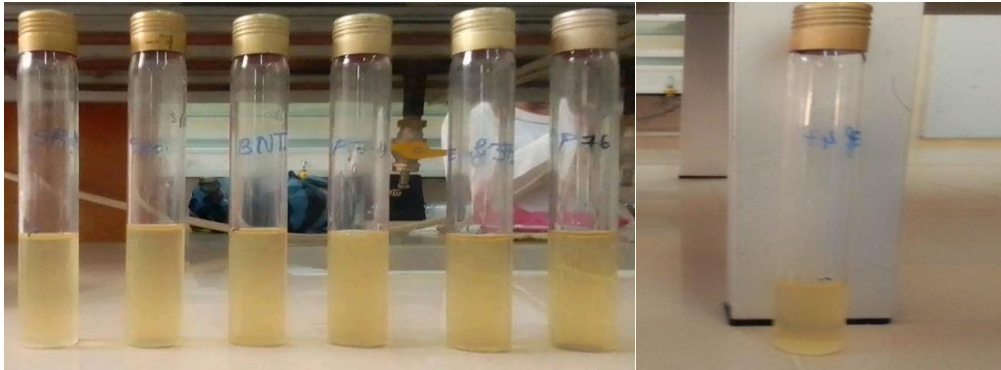


Figure 6 : Aspect des souches *S. aureus* dans le bouillon nutritif.

B. Sur le milieu Chapman

Après l'incubation, des colonies rondes, bombées de 1 à 2mm de diamètre, entourées d'une auréole jaune a été observée cela indique la fermentation du mannitol. Ce milieu contient une concentration de 7,5% NaCL qui inhibe la plupart des autres germes (**Figure 07**).



Figure 7 : L'aspect des colonies des isolas de *S. aureus* sur le milieu Chapman.

II.2. Observation macroscopique et microscopique

II.2.1. Coloration de Gram

Les résultats de la coloration de Gram ont montré que l'ensemble des souches sont Gram positif. *S. aureus* se présente sous forme de Cocci sphérique, en paires, des colonies violette en grappe de raisin.

II.2.2. Test de catalase

La totalité des souches de *Staphylococcus aureus* testées sont catalase positive, (Figure 08).

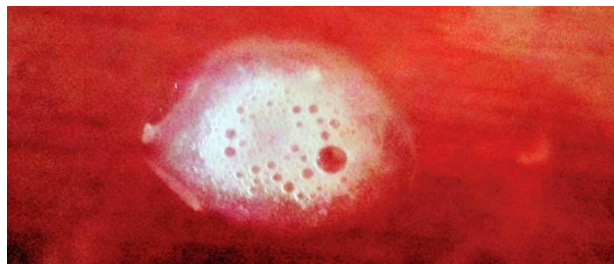


Figure 6 : catalase positive

II.2.3. Résultats du test de coagulase

Les résultats obtenus montrent que les souches de *S. aureus* étaient de coagulase positive. La propriété de ces souches à provoquer la coagulation de plasma est due à la sécrétion d'une protéine extracellulaire ; la Staphylocoagulase. Ce dernier joue un rôle central dans le pouvoir pathogène des Staphylocoques, en leur permettant de lutter contre les anticorps (Le loir et Gautier, 2010). (Figure 09).



Figure 7 : coagulase positive

II.3. Mise en évidence des facteurs de virulence

II.3.1. Capsule

L'observation microscopique a permis d'observer une capsule sous forme d'un halo clair. ce qui confirme que les souches de *S. aureus* testées sont capsulées. La capsule est considérée comme un élément génétique mobile, conduise à l'acquisition de facteur de virulence et de résistance aux antibiotiques, interagisse physiquement avec l'enveloppe bactérienne. (Haudiquet et al., 2021).

II.3.2. Croissance dans le plasma Humain

Après l'incubation, la plupart des souches de *S. aureus* testées présentent des Coagulation. en absence de Ca²⁺, *S. aureus* provoque la coagulation du plasma humain (Avril et al., 1992). La coagulase forme avec la prothrombine (coagulase-reacting factor : CRF) du plasma, un complexe appelé Staphylothrombine qui converti le fibrinogène en fibrine (Peacock, 2006), c'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et les protégeant de la phagocytose (les leucocytes ayant une mauvaise pénétration à l'intérieur des caillots de fibrine), elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées (Avril, 1992). (Figure 10)



Figure 8 : Résultats de la croissance de *S. aureus* dans le plasma Humain.

II.3.3. Dosage des protéines

Les résultats obtenus sont représentés dans le (Tableau VII).

Tableau VII : Résultats de l'absorbance de la gamme d'étalon

Concentration de protéines (100µg/µl)	DO (595 nm)
0	0
10	0,02
20	0,04
30	0,08
40	0,08
50	0,1
60	0,13
70	0,145
80	0,17
90	0,185
100	0,22

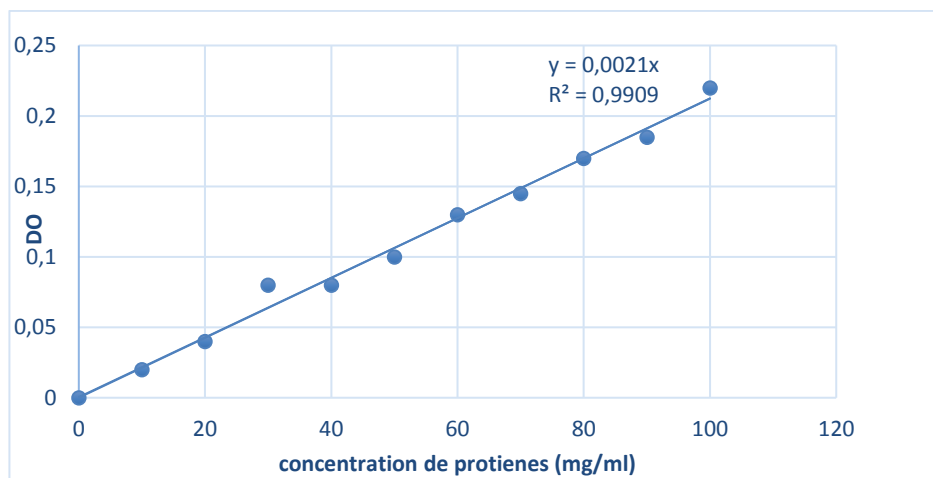


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la solution BSA (1000 mg/ml).

II.3.4. Dosage des protéines de *S. aureus*

Les concentrations ont été mesurées en utilisant la fonction de la courbe d'étalonnage ($Y = 0,002 X$) sachant que, Y : absorbance, X : concentration, les résultats sont représentés dans le (tableau VIII).

Après avoir comparé entre les concentrations des protéines du *S. aureus* en solution et la concentration des protéines de témoin et mesuré les absorbances et calculé les

concentrations de chaque souche, nous avons obtenu des valeurs variées ; tous les valeurs de concentration du *S. aureus* sont supérieurs à celle de témoin, signifie que les souches ont synthétisé des nouvelles protéines, parmi ces protéines on peut distinguer ;

La protéines A ; caractéristique de l'espèce *Staphylococcus aureus*, elle est élaborée par 90% des souches d'origine Humaine (Sutra et Poutrel, 1994), elle a un rôle dans le phénomène d'agrégation bactérienne et favorise le développement du biofilm, renforçant également l'adhésion et la protection de la bactérie face à l'action des agents antimicrobiens produits par les cellules immunitaires (Merino et al., 2009). fibrinolysine ; c'est une substance thermostable antigénique caractérisé les souches pathogènes humaine, sécrétée par les germes ayant colonisés le caillot, joue un rôle dans la formation de microembolus suppurée responsable des métastases septique (Flandrois, 1997 ; Jin et al., 2003).

Tableau VIII : Résultats de la mesure de la DO pour le dosage des protéines.

Souche	Absorbance (nm)	Concentration (100µg/µl)
BNT	0,06	28,5
ENF37	0,035	16,66
ENF47	0,019	9,05
P46	0,033	15,71
P72	0,021	10
P74	0,015	7,14
P76	0,020	9,52
S2O	0,038	18,09
SRYS	0,166	79,05

II.3.5. Résistance aux antibiotiques

Le résultat de l'antibiogramme réalisé par la technique des disques est indiqué dans le (tableau IX). La souche de *Staphylococcus aureus* présente une résistance au Céfoxitine et Clindamycine, en revanche la souche reste sensible à l'association Amoxicilline-acide clavulanique, et la Vancomycine (Figure 12).

A. Céfoxitine

Toutes les souches de *S. aureus* sont résistantes au Céfoxitine 100%, ces résultats corroborent avec ceux trouvés par (Rebiahi et al., 2011). L'étude réalisée au Brésil par Gushiken et al qui ont annoncé un taux moins élevé qu'est de 16,6%. (Gushiken et al., 2016). Ces taux sont bien plus élevés que ceux rapportés dans divers publications nationales (étude de Tlemcen 10,6% (Bentrar et al., 2016). Cette résistance est conférée par la production d'une nouvelle PLP, appelée PLP2a et codé par le gène mec A.

B. Vancomycine

Dans notre étude il a été constaté que le taux de sensibilité à la Vancomycine des souches de *S. aureus* testées est de 100%, ce taux est supérieur de celui enregistré chez (Malinowski et al., 2002). Le pourcentage de la sensibilité à cette antibiotique pourrait être la cause de leur moins fréquents en Algérie du cout élevé de ces médicaments.

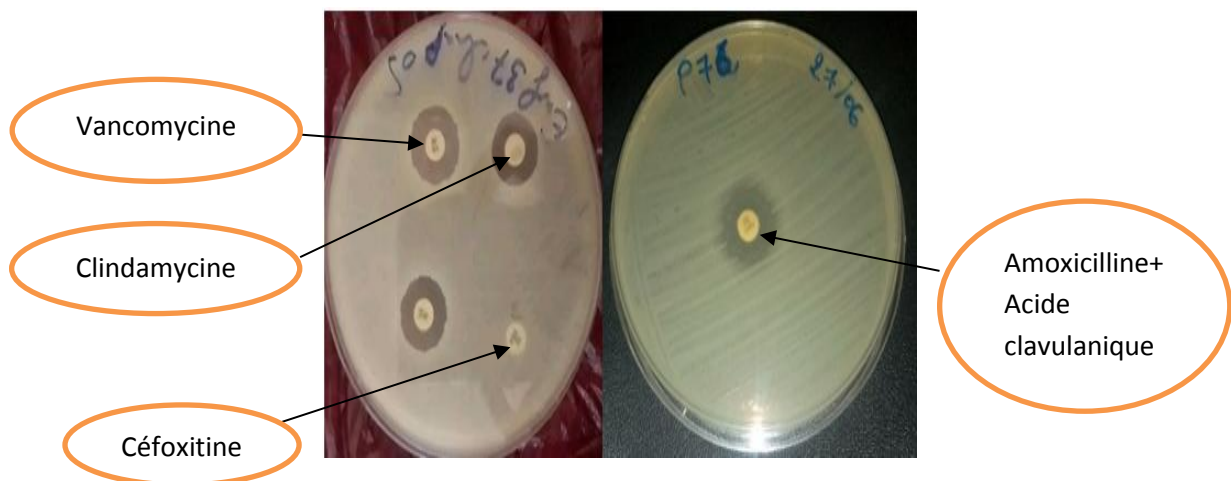


Figure 10 : Résultats de test d'antibiogramme

Tableau IX : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition en (mm)

Souche	Vancomycine	Clindamycine	Céfoxitine	AMC
BNT	19	17	08	24
SRYS	19	15	07	25
S20	18	15	08	25
ENF 37	18	16	09	23
ENF 47	18	15	08	25
P72	/	/	/	15
P74	/	/	/	22
P76	/	/	/	15

/ => pas testé.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Staphylococcus aureus est un agent pathogène majeur chez l'homme, constitue un réel problème de santé publique, qui peut causer de diverses maladies, allant des infections qui évoluent à des pathologies mortelles, ainsi il est l'une des premières cause d'infection dans la cavité buccale.

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de notre étude qui consiste à évaluer la pathogénicité des souches de *S. aureus* par mise en évidence des facteurs de virulence, cette étude s'étale sur deux mois, effectuée dans le laboratoire de biologie générale de l'université de A. Mira-Bejaia.

Au cours de cette période, des revivifications ont été réalisés pour les souches de *S. aureus*. Les résultats obtenus lors de cette étude ont permis de révéler plusieurs points :

- Concernant l'antibiogramme, toutes les souches de *S. aureus* qu'on a testé étaient ;
 - ✓ 100% sensibles au Vancomycine et à l'Amoxicilline +Acide clavulanique,
 - ✓ 100% résistantes à la Céfoxitine, et Clindamycine.
- 100% des souches de *Staphylococcus aureus* sont coagulase positive et catalase positive.

En perspective, ces résultats doivent être complétés par d'autres tests, beaucoup plus performants, à savoir

- Etudier une population saine pour la comparaison qualitative des germes testés ;
- Etudier une population plus importante dans une durée plus importante ;
- Caractérisation moléculaire des isolats dans le but de déterminer leur origine (commensale ou pathogène).

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- **Alessi M.C.** Quels nouveaux fibrinolytiques ? Sang, thrombose, vaisseaux. 2000; 12 (6):371-8.
- **Aly R, Shinefield HI, Strauss WG, Maibach HI.** Bacterial adherence to nasal mucosal cells. infect Immun. 1977 ;17 :546-549.
- **Ananthanarayan, Paniker. (2006).** Textbook of Microbiology. Edition Seventh, India. 665 pages.
- **Arvidson S.** The Formation of a calcium-dependent extracellular proteolytic enzyme from *Staphylococcus aureus*. Acta Pathol Microbiol Scand [B] Microbiol Immunol. 1973;81:552-558.
- **Aude V.** Les limites cervicales en prothèse fixée : Conception et précepte . thèse université de henry poincaré –nancy (France)(2011).
- **Avril J.L., Dabernath H, Denise F, Montei L.H; (1992),** Bactériologie clinique ; éditions copyright (2ème édition). p 118.

B

- **Belmamoun A (2016).** Etude microbiologique, épidémiologique et antibiorésistance du *Staphylococcus aureus* dans le lait de vache atteinte de mammite. Thèse de doctorat en Alimentation et nutrition humaine, université de Sidi Bel Abbes, 27p.
- **Bentrar. K. Bensnoui. H:** Prévalence du portage Nasal de *Staphylococcus aureus* en communautaire dans la région de Tlemcen. 2016.
- **Bodén MK, Flock JI.** Fibrinogène-binding protein /clumping factor from *Staphylococcus aureus*. Infet Immun.1989 ;57 :2358-2363.
- **Brown DFJ.** Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Antimicrob Chemother.2005 ;56 :1000-1018.doi :10.1093/jac/dk372.
- **Bush, K., Bradford, P.A., (2016).** β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. Cold Spring Harb Perspect Med 6.

Références bibliographiques

C

- **Camille Delarras. (2014).** Pratique en Microbiologie de laboratoire, Recherche de Bacteries et levures-moisissures. Tec&Doc.lavoisier, Paris, p 275.
- **Cheng, A.G., McAdow, M., Kim, H.K., Bae, T., Missiakas, D.M., Schneewind, O., (2010).** Contribution of coagulases towards *Staphylococcus aureus* disease and protective immunity. PLoS Pathog. 6, e1001036.
- **Clarke SR, Foster SJ.** Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. Adv Microb Physiol.2006 ;51 :187_224 doi. 10.1016/S0065-2911(06)51004-5.
- **Comite De L'Antibiogramme De La Societe Française De Microbiologie:** Recommandations2010.
- **Comite De L'Antibiogramme De La Societe Française De Microbiologie:** Recommandations 2017.
- **Couture, B.,** Bacteriologie Medicale Troisième édition.1997 : decarie éditeur Québec, p 10.

D

- **Dedio RM., Tom LWC., MC Gowan K.L., Wetmore RF., Handler SD., et Pastic WP. (1998)** Microbiology of the Tonsils and Adenoids in a pediatrices population. Arch. Otolaryngol. Neck surg. 114.763-765.
- **Deverrière B.V.M. (2007)** Reproduction expérimentale de mammites à *S. aureus* chez la brebis : Comparaison lignées génétiques divergentes pour les comptages cellulaires. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Toulouse : Université Paul Sabatier, p 45
- **Dicko OA. (2013).** Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline au CHU point G de 2007-2009. Thèse de doctorat en pharmacie. Bamako : Université des sciences, des techniques et des technologies, 91p.
- **Drapeau GR.** Role of metalloprotease in activation of the precursor of staphylococcal protease. J Bacteriol. 1978 ; 136 :607-613.
- **Dziarski R, Dziarski A.** Mitogenic activity of staphylococcal peptidoglycan. Infect Immun. 1979;23: 706-710.

Références bibliographiques

F

- **Fasquelle R., (1974).** Element de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36p.
- **Flandrois J.P. (1997).** Bacteriologie médicale. Presse Universitaire de Lyon. p 108-109.
- **Fleurette J.** Staphylocoques et Microcoques. In Bactériologie médicale. 2ème édition. Paris : Médecine-Sciences. Flammarion 1989 ; p 773.
- **Foster T.J. (2017).** Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. FEMS Microbiol. Rev. **41**: 430-449.
- **Foster TJ, Geoghegan JA, Ganesh VK, Höök M.** Adhesion, invasion and evasion : the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. Nat Rev Microbiol.2013 ;12 :49-62. doi :10.1038/nmicro3161.
- **Freeman-Cook. L and Freeman-Cook. K.** *Staphylococcus aureus* infection. Chelsea House Publishers. Philadelphia, 2006, p 26-29
- **Freney J, Kloos W, Hajek V, Webster J, Bes M, Brun Y, Vernozy Rozand C. (1999).** Recommended minimal Standers for description of new *Staphylococcal* speies. International Jornal of Systematic Bacteriology , 49,489-502.
- **Freney J.** Précis de bactériologie clinique. Paris : Ed. Eska ; 2007.

G

- **G. J. Tortora et B. Derrickson,** Eléments d'anatomie et de physiologie, adaptation francaise de L. Martin et M. Forest, Montréal, Editions du renouveau pédagogique, 2009, p475 et 477.
- **Grov A, Sveen K.** Induction of leukochemotaxis by peptidoglycan of *Staphylococcus aureus*. Acta Pathol Microbiol Scand [B]. 1978 ;86B :375-378.
- **Gushiken et al.** Nasal carriage of resistant *Staphylococcus aureus* in a medical student community. 2016.

Références bibliographiques

H

- **Haudiquet M, Buffet A, Rendueles O, Rocha,** EPC Plos Biology, 06 juillet 2021. <http://doi.org/journal.pbio.3001276>.
- **Herman-Bausier P., Valotteau C., Pietrocola G., Rindi S., Alsteens D., Foster T.J., Speziale P. and Dufrêne Y.F. (2016)** Mechanical Strength and Inhibition of the *Staphylococcus aureus* Collagen-Binding Protein Can. *mBio*. **7**: e01529-16.
- **Holmes. MA., Zadoks, R.N. (2011).** Methicillin resistant *S. aureus* in human and bovine mastitis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* **16**,373-383.

J

- **Jin T., Bokarewa M., McIntyre L., Tarkowski A, Corey G.R., Reller L.B. Fowler V.G. (2003).** Fatal outcome of bacteraemic patients caused by infection with staphylokinase deficient *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Medical Microbiology* **52**, 919–923.
- **Jin T, Bokarewa M, Foster T, Mitchell J, Higgins J, Tarkowski A.** *Staphylococcus aureus* resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. *J Immunol* 2004;**72**:1169-76.
- **Jung C.** Les infections bactériennes bucco – dentaire, conseil du pharmacien, thèse 2018.

K

- **Karthik S. (2007).** Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation. The University of Southern Mississippi. Edition UMI Microform USA. p 20-24.
- **Ko Y-P, Kuipers A, Freitag CM, Jongeruis I, Mendina E, van Rooijen WJ, et al.** Phagocytosis Escape by a *Staphylococcus aureus* Protein That Connects Complement and Coagulation Proteins at the Bacterial Surface. Skaar EP, editor. *PLoS Pathog*. 2013; **9**: e1003816. doi:10.1371/ journal.ppat.1003816.
- **Krakaeur T., Pradhan K. and Stiles B.G. (2016)** Staphylococcal Superantigens Spark Host-Mediated Danger Signals. *Front Immunol* **7** : 23.

Références bibliographiques

L

- **Lacey K.A., Geoghegan J.A. and McLoughlin R.M. (2016).** The Role of *Staphylococcus aureus* Virulence Factors in Skin Infection and Their Potential as Vaccine Antigens. *Pathogens*. **5**: pii: E22. doi: 10.3390/pathogens5010022.
- **Langlet S, Quentin G, Contant G, Ghnassia C.J.** Method chromogénique d'identification rapide de *Staphylococcus aureus*. *Annales de Biologie clinique*, 1999; **57** (2) : 191-6.
- **Larpent JP. (2010).** *Staphylococcus aureus*. France : Editions documentation et technique, Lavoisier, 279p.
- **Lautrou A.** Abrégé d'odontomatologie anatomie dentaire 2ème édition Masson –paris 1997.
- **Le Loir Y, Baron F, Gautier M. (2003).** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* **2** :63-76.
- **Le Loir Y. and Gutier M. (2010).** *Staphylococcus aureus*. Monographie de Microbiologie, Edition Tec&Doc.
- **Lewis K.** Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2013 ; **12** :371-87.
- **Liljemark WF, Bloomquist C.** Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1996; **7**(2):180-98. Review.
- **Lowy FD.** *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*, 1998 ; **339**: 520-532.

M

- **Madani A., Garakani K. and Mofrad M.R.K. (2017).** Molecular mechanics of *Staphylococcus aureus* adhesion, CAN, and the inhibition of bacterial adhesion by stretching collagen. *PLoS One*. **12**: e0179601.
- **Makris G, Wright D.J, Ingham E, et Holland T.K.** The hyaluronate lyase of *Staphylococcus aureus*- a virulence factor? *Microbiology*; 2005; **150**:2013.
- **Maladière E, Vacher C .** Examen clinique en stomatologie. EMC-chirurgie orale et maxillo-faciale ;2016 ; **11**(4).

Références bibliographiques

- **Malinowski, E., Lassa, H., Tomaszewska, J., & Malkińska-Horodyńska, M. (2011).** Phenotypical identification of atypical *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk of cows from one herd. *Bull Vet Inst Pulawy*, 55: 211-215
- **Mallet E. (1997).** Etiologie, expression clinique de l'angine. *Médecine Mal. Infect.* 27, 418–423.
- **Manandhar S, Singh A, Varma A, Pandey S, Shrivastava N. (2018).** Evaluation of methods to detect in vitro biofilm formation by *Staphylococcal* clinical isolates. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3820-9>.
- **Merino, N., A. Toledo-Arana, M. Vergara-Irigaray, J. Valle, C. Solano, E. Calvo, J.A. Lopez, T.J. Foster, J.R. Penades and I. Lasa. (2009).** Protein A-mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 191: 832-843.
- **Mojon P.** Oral Health and Respiratory Infection. *J Can Dent Assoc* 2002; 68(6):340-5.
- **Mulcahy ME, Geoghegan JA, Monk IR, O'keeffe KM, Walsh EJ, Foster TJ, et al.** Nasal Colonisation by *Staphylococcus aureus* Depends upon Clumping Factor B Binding to the Squamous Epithelial Cell Envelope Protein Loricrin. *Peschel A, editor. PLoS Pathog.* 2012 ;8 : e1003092.doi : 10.1371/journal.ppat.1003092.

N

- **Nanra JS, Buitrago SM, Crawford S, Ng J, Fink PS, Hawkins J, et al.** Capsular polysaccharides are an important immune evasion mechanism for *Staphylococcus aureus*. *Hum Vaccines Immunother.* 2013 ;9 : 480-487.doi :10.4161/hv.23223.
- **Nilsson I-M, Lee JC, Bremell T, Ryden C, Tarkowski A.** The role of *staphylococcal* polysaccharide microcapsule expression in septicemia and septic arthritis. *Infect Immun.* 1997 ;65 :4216-4221.

O

- **O'Riordan K, Lee JC.** *Staphylococcus aureus* Capsular Polysaccharides. *Clin Microbiol Rev.* 2004 ; 17 : 218-234.doi : 10.1128/CMR.17.1.218-234.2004.

Références bibliographiques

- **Ogston A. (1882).** Micrococcus poisoning. *J. Anat. Physiol.* **16** : 526–567.
- **Oliveira D., Borges A. et Simões M. (2018).** *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*, *10*(6), 252.

P

- **Paharik A.E. and Horswill A.R. (2016).** The Staphylococcal Biofilm: Adhesins, regulation, and host response. *Microbiol. Spectr.* **4**: doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0022-2015.
- **Patti J.M., Allen B.L., McGavin M.J. and Hook M. (1994).** MSCRMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu. Rev. Microbiol.* **48**: 585-617.
- **Peacock, S.J., Paterson, G.K., (2015).** Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu. Rev. Biochem.* **84**, 577–601.
- **Peacock S J. (2006).** *Staphylococcus aureus* in: Principales and practice of clinical bacteriology. 2nd edition. England: John Wiley & Sons Ltd; p 76.
- **Pilly E.** Maladies infectieuses et tropicales. 21ed, 2008.
- **Pittet D, Sax H.** Alerte rouge : staphylocoques dorés de sensibilité diminuée à la vancomycine. Genève.Juin 2000.Vol 7.N°2.
- **Poncholi V.** Staphylococcal extracellular surface enzymatic activity.In: *Staphylococcus aureus* infection and Disease. USA : Kluwer Academic Publishers, 2002; p 145.
- **Prescott., Willey., Sherwood., Woolverton. (2013).** Les bactéries : les Gram-positives à faible teneur en G+C dans l'ADN.*In* : Microbiologie. Bruxelles : Edition De Boeck supérieur ,551-1070p.
- **Price JR., Cole K., Bexley A., Kostiou V., Eyre DW., Golubchik T.,Wilson D., Crook DW., Walker S., Timothy E., John P. et Llewelyn MJ. (2016).** Transmission of *Staphylococcus aureus* between health-care workers, the environment, and patients in an intensive care unit: a longitudinal cohort study based on whole-genome sequencing. *The Lancet Infectious Diseases*, *17*(2), 207-214.

Références bibliographiques

Q

- **Qeuvauvillierz J., Samojyi A., et Fingerhut A. (2007).** Dictionnaire médical de poche. Edition : Masson. Paris.

R

- **Rebaihi S A (2011).** Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat : université de Tlemcen, Option Microbiologie. 168.
- **Riber U, Espersen F, Wilkinson BJ, Kharazmi A.** Neutrophil chemotactic activity of peptidoglycan. A comparison between *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. APMIS Acta Pathol Microbiol Immun Scand. 1990;98: 881-886.
- **Rossi T .Laint J .Eerola E, Kotilaine P, Pettonen R.** Denture Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* . Lancet 1995, 345, 1577.

S

- **Santos-Beneit, F., Ordóñez-Robles, M., Martín, J.F., (2017).** Glycopeptide resistance: Links with inorganic phosphate metabolism and cell envelope stress. Biochem. Pharmacol. 133, 74-85.
- **Sevenmice.** La langue et la gustation. (internet). (cité 20 juillet 2022). Disponible sur <http://www.medicine-et-sante.com/anatomie/langueetgustation.html>
- **Shallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM et Hayward AC. (2013).** The role of the Pantone-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. The Lancet Infect Dis; 13 :43–54.
- **Sieprawska-Lupa M, Mydel P, Krawczyk K, Wojcik K, Puklo M, Lupa B, et al.** Degradation of Human Antimicrobial Peptide LL-37 by *Staphylococcus aureus*-Derived Proteinases. Antimicrob Agents Chemother. 2004 ; 48 :4673-4679. doi: 10.1128/AAC.48.12.4673-4679.2004.
- **Sixou M, Diouf A, Alvares D.** biofilm buccal et pathologies buccodentaires, Elsevier Masson,2007.

Références bibliographiques

- **Soell M, Diab M, Haan-Archipoff G, Beretz A, Herbelin C, Poutrel B, et al.** Capsular polysaccharide types 5 and 8 of *Staphylococcus aureus* bind specifically to human epithelial (KB) cells, endothelial cells, and monocytes and induce release of cytokines. *Infect Immun.* 1995 ; 63 : 1380-1386.

- **Sollid J.U.E., Furberg A.S., Hanssen A.M. and Johannessen M. (2014).** *Staphylococcus aureus*: Determinants of human carriage. *Infect. Genet. Evol.* **21**: 531-541.

- **Sutra L, Poutrel B. (1994).** Virulence factor involvovd in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.*40,79-89.

T

- **Teng Yen-Tung A, • Taylor G W., Scannapieco F., Kinane DF, Curtis M, Beck J D, Kogan S.** *Journal de l'association dentaire canadienne.* 2002, vol63 n°3. Santé parodontale et troubles systémiques.

- **Thomer, L., Schneewind, O., Missiakas, D., (2016).** Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections. *Annu Rev Pathol* 11, 343–364.

V

- **Valero A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J.M., García-Gimeno R.M. and Zurera G. (2009).** Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus* : Effect of temperature, pH and water activity. *Int. J. Food. Microbiol.* **133** : 186-194.

- **Vaudaux PE, Francois P, Proctor RA, McDevitt D, Foster TJ, Albrecht RM, et al.** Use of adhesion-defective mutants of *Staphylococcus aureus* to define the role of specific plasma proteins in promoting bacterial adhesion to canine arteriovenous shunt. *Infect Immun.*1995;63 :585-590.

- **Verbrugh HA, Verhoef J, Wilkinson BJ, Peterson PK.** Biology and clinical significance of peptidoglycan antibody response in staphylococcal infections. *Scand J Infect Dis Suppl.* 1983; 41: 117-125.

- **Vestergaard M., Frees D. and Ingmer H. (2019).** Antibiotic Resistance and the MRSA Problem. *Microbiol. Spectr.* **7**: GPP3-0057-2018.

- **Vincenot F, Saleh M, Prévost G.** Les facteur de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des Laboratoire.* 2008 ;407:61-69.

Références bibliographiques

- **Voellinger Q.** Manuel d'hygiène bucco –dentaire 2017.

W

- **Wilkinson, B., Crossley, and Archer, G., eds (1997).** the staphylococci in human disease (New York, Churchill Livingstone).

X

- **Xia G, Kohler T, Peschel A.** The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. International Journal of Medical Microbiology 2010; 300:148–154.

Annexes

Annex 01 : Composition des milieux de culture

- **Gélose Chapman**

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande 1g
- Peptone..... 10g
- Chlorure de sodium 75g
- Mannitol..... 10g
- Rouge de phénol 0,025g
- Agar..... 18g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7 \pm 0,2$. Autoclaver à 120°C/30 minute.

- **Milieu bouillon nutritive**

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande 1g
- Extrait de levure 2,5g
- Peptone..... 5g
- Chlorure de sodium 5g
- Agar..... 18g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7 \pm 0,2$. Autoclaver à 120°C/30 minute.

- **Milieu Gélose Nutritive**

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande 1g
- Extrait de levure 2,5g
- Peptone..... 5g

Annexes

- Chlorure de sodium5g
PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7 \pm 0,2$. Autoclaver à 120°C/30 minute.

- **Gélose Mueller Hinton**

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande.....3g
- Hydrolysat de caséine (Tryptone).17,5g
- Amidon.....1,5g
- Agar18g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7 \pm 0,2$. Autoclaver à 120°C/30 minute.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer la pathogénicité des souches de *staphylococcus aureus* isolés de la cavité buccale des enfants.

Les souches de *S. aureus* ont été testé au niveau de laboratoire de biologie générale de l'université A. Mira- Bejaia.

Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* sont positifs aux test de catalase et de coagulase. Plusieurs tests ont été réalisée ; la présence de la capsule, la résistance aux antibiotiques, la croissance dans le plasma humain, et un test de dosage des protéines dans le but du mis en évidence des facteurs de virulence.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* ; cavité buccale ; enfants ; facteur de virulence.

Abstract

The objective of this work is to evaluate the pathogenicity of strains of *staphylococcus aureus* isolated from the oral cavity of children.

Strains of *S. aureus* were tested at the biology laboratory level General of the University A. Mira-Bejaia.

Strains of *S. aureus* are positive for catalase and coagulase tests. Several tests were carried out ; the presence of capsule, resistance to antibiotics, growth in human plasma, protein assay, with the aim of highlighting virulence factors.

Keywords : *Staphylococcus aureus* ; oral cavity ; children ; virulence factor.