

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

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**  
**Filière : Sciences biologiques**  
**Option : Génie Biologique**



**Réf : .....**

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Etude de la résistance du *Staphylococcus aureus*  
résistant à la méthicilline aux autres antibiotiques**

Soutenue le : 21 - 06 - 2017

Présenté par :

**M<sup>me</sup> ADEL Khadidja & M<sup>me</sup> TALBI Maria**

Devant le jury composé de :

<b>Mr DJOUDI. F</b>	<b>MCA</b>	<b>Président</b>
<b>M<sup>me</sup> BOUDRIES. S</b>	<b>MAA</b>	<b>Encadreur</b>
<b>M<sup>me</sup> MOUICI. K</b>	<b>MCB</b>	<b>Examinatrice</b>

**Année universitaire : 2016-2017**

# *Dédicaces*

*A mes très chers parents*

*A toi, mon tendre époux*

*A mes adorables frangines*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,  
l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour  
vous.*

*Et à tous ceux qui me sont chers ...*

*Khadija*



# *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire*

*A mes très chers parents, en reconnaissance de tous les sacrifices, les efforts, l'amour et la bonté qu'ils m'ont toujours apportée, qu'ils trouvent ici le témoignage de mon affection, mon admiration et mon profond respect. Que Dieu les garde pour moi.*

*A mon Adorable fils Salas que Dieu le protège et le garde.*

*A mon Petit ange.*

*A mon Très cher Mari, Hamza, qui n'a cessé de m'apporter ses encouragements et son soutien.*

*A La Mémoire de ma grand-mère.*

*A ma famille, tantes, oncles, cousins et cousines, qu'ils trouvent ici mes salutations les plus profondes*

*A ma belle Famille.*

*A mes amis, filles et garçons, pour leur amitié et l'estime qu'ils portent pour moi.*

*A tous mes enseignants, du primaire à l'université, pour le savoir et les valeurs qu'ils m'ont transmis.*

*MARIA*

# Remerciements

*Louanges à Allah le miséricordieux, le très miséricordieux, qui nous a aidé tout au long de notre vie, nous le remercions pour sa bienveillance, la patience et le courage qu'il nous a accordé.*

*Nos vifs remerciements vont à notre encadreur Mr DJOUDI F, en avoir accepté de diriger ce travail, nous a permis de profiter de ses conseils, son aide et ses encouragements.*

*Nos remerciements s'adressent également aux honorables membres du jury, Mme BOUDRIES .S et Mme MOUICI .K, de nous avoir fait le grand honneur d'accepté d'examiner ce modeste travail*

*Nous remercions toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie enseignants, doctorants ainsi que l'ingénieur du laboratoire, Mme RAHMANI, de nous avoir accueillis chaleureusement parmi eux,*

*Pour finir, nous souhaitons remercier tous ceux qui sont rentrés dans nos vies à un moment ou un autre, et nous ont aidés de près ou de loin, et contribué à l'élaboration de ce travail en particulier Saida, Tamazighth et Soussou.*

# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction..... 1

## Partie théorique

### CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

I. Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la Méthicilline.....	2
II. Les facteurs de virulence et de pathogénicité .....	4
III. La résistance des SARM aux antibiotiques .....	4
III.1. $\beta$ -Lactamines .....	5
III.1.1. La pénicilline. ....	6
III.1.2. La Méthicilline. ....	6
III.1.3. Céphalosporines de 5eme génération .....	7
III.2. Antibiotiques phosphoniques .....	7
III.3. Glycopeptides .....	7
III.4. Lipopeptides .....	8
III.5. Aminoglycosides ou aminosides .....	8
III.6. Macrolides, Lincosamides et Synergystines (MLS) .....	9
III.7. Phénicolés .....	9
III.8. Tétracyclines .....	9
III.9. Fusidanines.....	10
III.10. Oxazolidinones .....	10
III.11. Fluoroquinolones.....	10
III.12. Acide pseudomonique .....	11
III.13. Rifamycines.....	11
III.14. Sulfamides et triméthopri­me ou pyriméthamine .....	11

# *Travail Expérimental*

## *CHAPITRE II : Matériel et Méthodes*

I. Cadre et objectifs .....	12
II. Revivification des souches .....	12
III. Culture et purification .....	12
IV. Identification .....	12
IV.1. Test de la DNAase .....	12
V.2. Test de coagulase .....	13
IV.3. Galerie API 20 Staph .....	13
IV.3.1. Principe .....	13
IV.3.2. Mode opératoire .....	14
IV.3.3. Lecture et interprétation .....	14
V. Etude de la résistance des SARM aux antibiotiques .....	15
V.1 Sensibilité à la méthicilline .....	15
V.1.1 Préparation de l'inoculum .....	15
V.1.2 Ensemencement .....	15
V.1.3 Lecture .....	16
V.2 Sensibilité aux autres familles d'antibiotiques .....	16
VI. Détermination des CMI pour vancomycine .....	17

## *CHAPITRE III : Résultats et Discussion*

I. Répartition des souches de SARM .....	19
I.1. Répartition des SARM par type de prélèvement .....	19
I.2. Répartition des souches de SARM selon le lieu d'isolement .....	19
II. Profil de sensibilité des souches de SARM.....	20
II.1. Famille des $\beta$ lactamines : Céfoxitine .....	22
II.2. Famille des Glycopeptides : La Vancomycine .....	22
II.3. Famille des Aminosides : la gentamicine, la tobramycine .....	24
II.4. Familles des Macrolides Lincosamides : L'érythromycine, clindamycine ....	25
II.5. Famille des tétracyclines .....	27
II.6. Famille des Fusidanines : L'acide fusidique .....	28

II.7. Famille des Fluoroquinolones : La ciprofloxacine .....	29
II.8. Familles des Rifamycines : La Rifampine .....	30
II.9. Famille des Sulfamides et triméthoprimé .....	31
Conclusion .....	34

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Les antibiotiques complémentaires testés et interprétation selon les recommandations de la CFA-SFM 2017.	17
II	Répartition des souches de SARM en fonction de la nature du prélèvement	19
III	Résultat des CMI à la vancomycine des souches de SARM	23

## Liste des figures

Figure n°	Titre	Page
1	<i>S. aureus</i> sous microscope électronique (a et b) et photonique (c)	2
2	Structure de base de l'élément <i>SCCmec</i>	4
3	Différents sites d'action des classes d'antibiotiques.	5
4	Répartition des isolats de SARM en fonction des établissements	20
5	Le taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline aux autres antibiotiques	21
6	Antibiogrammes de la vancomycine.	23
7	Antibiogrammes de la gentamicine et de la tobramycine.	24
8	Antibiogrammes de la clindamycine et de l'érythromycine	26
9	Antibiogramme de la tétracycline.	27
10	Antibiogrammes de l'acide fusidique	28
11	Antibiogramme de la ciprofloxacine	29
12	Antibiogramme de la rifampine	30
13	Antibiogramme de la sulfaméthoxazole	31
14	Répartition de la résistance des SARM selon l'origine des souches	32

# Liste des abréviations

- ADN:** Acide désoxyribonucléique
- ARNm:** Acide Ribonucléique messenger
- ARNr :** Acide Ribonucléique ribosomique
- BORSA:** Bordeline *Staphylococcus aureus*
- BHIB :** Bouillon coeur-cerveille (Brain Heart Infusion Brouth)
- PBP :** penicillin-binding protein
- CAT:** Chloramphénicol Acétyltransferase
- CCR :** Cassette chromosomal recombinase
- CIP:** Ciprofloxacine
- CHU :** Centre Hospitalier Universitaire
- CMB:** Concentration Minimale Bactéricide
- CMI :** Concentration Minimale Inhibitrice
- CN :** Gentamicine
- Cna:** Collagen binding protein
- DA :** Clindamycine
- DHFR:** Dihydrofolate reductase
- DHPS:** Dihydropteroate synthase
- DNase:** Désoxyribonucléase
- E :** Erythromycine
- EF-G :** Facteur d'élongation G
- ERM :** Erythromycin ribosome methylase
- ET:** Exfoliatine
- FA:** Acide fusidique
- FAME:** Fatty Acid Modifying Enzyme
- FnBP:** Fibrinogen Binding Protein
- Fox :** Céfoxitine
- GISA :** Glycopeptides intermediate *Staphylococcus aureus*
- LPV:** Leucocidine de Panton-Valentine
- MDR:** Multi Drug Resistance

**MLS** : Macrolides, lincosamides et streptogramines

**MODSA** : Modified *S. aureus*

**MSCRAMM** : Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules

**NAG**: N-AcetylGlucosamine

**ORF**: Open reading frame

**PAB**: Para-Amino Benzoïque

**PLP2a**: Protéine Liant les Pénicillines 2a

**PSM**: Phenol soluble moduline

**RA**: Rifampine

**SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

**SARM-C** : SARM communautaire

**SARM-H** : SARM hospitalier

**SCCmec**: Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*

**SIDA**: Syndrome d'immunodéficience acquise

**SXT** : Triméthoprime/ Sulfaméthoxazole

**TE**: Tétracycline

**TOB**: Tobramycine

**VA**: Vancomycine

**VISA**: Vancomycin intermeriate *Staphylococcus aureus*

**VRSA**: Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*

# *INTRODUCTION*

Le SARM, acronyme du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, est une bactérie commensale distribuée dans le monde entier pouvant devenir un pathogène opportuniste majeur de l'homme et des mammifères. Il est à l'origine d'une grande variété d'infections suppuratives et toxiques (Avril et al., 1992).

Depuis l'apparition du Staphylocoque doré résistant à la méthicilline dans des dispensaires il y a plus de 50 ans, plusieurs changements épidémiologiques ont affecté cette bactérie pathogène, jusqu'à sa participation plus récente dans des infections communautaires et animale (Chambres et DeLeo, 2009).

Le SARM est devenu rapidement une terreur mondiale, les infections causées par ce germe entraînent des séjours hospitaliers longs et des traitements de plus en plus coûteux (Engemann et al., 2003). Le taux de mortalité par septicémies causées par les SARM représente près de deux tiers des cas de septicémies aux staphylocoques. Par ailleurs, aux USA le SARM a fait plus de victimes que le SIDA (Klevens et al., 2006).

Son antibiorésistance rend en effet le traitement de ces infections difficile et incertain, ce qui en fait un important problème de santé publique, en particulier les souches résistantes à la vancomycine, faisant craindre l'émergence des souches toto-résistantes (Rebahi et al., 2011 ; Kanj et al., 2013). Il est ainsi primordial de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques afin de contourner les résistances acquises par ce pathogène en particulier.

Dans le but d'apporter quelques éléments de réponses sur les questions inhérentes à la résistance des SARM, nous avons entamé cette étude.

Nos objectifs fixés au départ étaient d'estimer les taux de résistance du SARM de différentes origines aux nouveaux antibiotiques (Céphalosporines de 5<sup>ème</sup> génération), mais faute d'arrivage d'antibiotiques, on s'est contenté d'estimer ce taux et d'étudier la résistance des SARM aux différentes familles d'antibiotiques. Pour cela, nous avons adopté la méthodologie suivante :

- Ré-identification des SARM à partir de la collection de laboratoire d'écologie microbienne par antibiogramme à la céfoxitine ;
- Test de la sensibilité des SARM aux autres familles d'antibiotiques ;
- Détermination des CMI des souches de SARM résistantes à la vancomycine.

***PARTIE***

***THÉORIQUE***

# CHAPITRE

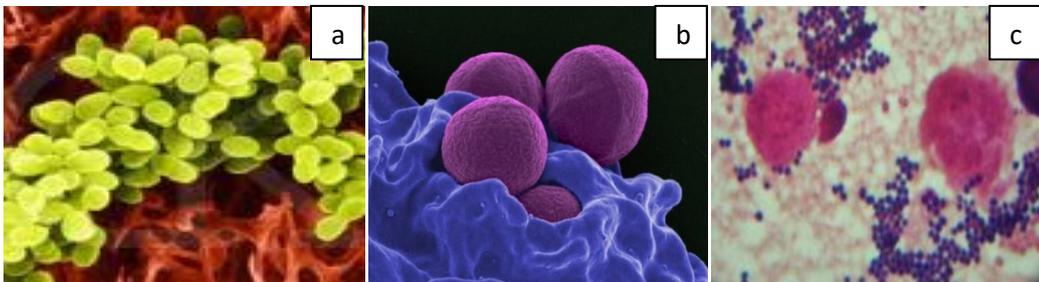
« I »

*Synthèse*

*Bibliographique*

## I. Généralités sur *Staphylococcus aureus* résistant à la Méthicilline

Le genre *Staphylococcus* a été découvert en 1880 par Pasteur dans un pus de furoncle, Sir Ogston l'a dénommé Staphylocoque en 1881 pour décrire ces grains (kokos). Il réfère à une bactérie à Gram positif de forme sphérique 0,5 à 1,5  $\mu\text{m}$  de diamètre, immobile, non sporulé, ne possédant pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches (Kenneth et al., 2004) (Figure n°1) et qui croît en grappe. Les *Staphylococcus* sont des microorganismes commensaux, ils peuvent aussi survivre dans une grande diversité d'environnement (EFSA,2009). Au début du 21<sup>ème</sup> siècle, plus de 50 espèces et sous-espèces ont été décrites, dont 17 identifiées chez l'homme (Corne 2004; Garrity et al., 2007). L'espèce la plus pathogène est majoritairement *Staphylococcus aureus*. Cette bactérie se retrouve habituellement dans le nez, la gorge, les aisselles et le tractus intestinal. Cette bactérie cause souvent des infections mineures de la peau et infecte les plaies post-opératoires (Deurenberg, 2008). Le *Staphylococcus aureus* est un aéro-anaérobie facultatif, oxydase positive, catalase positif. Il produit plusieurs enzymes, telles que la ADNase, coagulase, et différentes hémolysines (Avril et al., 1992; D.Lowy, 1998).



**Figure n°1** : *S. aureus* sous microscope électronique (a et b) et photonique (c).

Selon le Bergey's de 2007, *Staphylococcus aureus* appartient au :

Règne : *Bacteria*

Phylum : *Fermicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Staphylococcaceae*

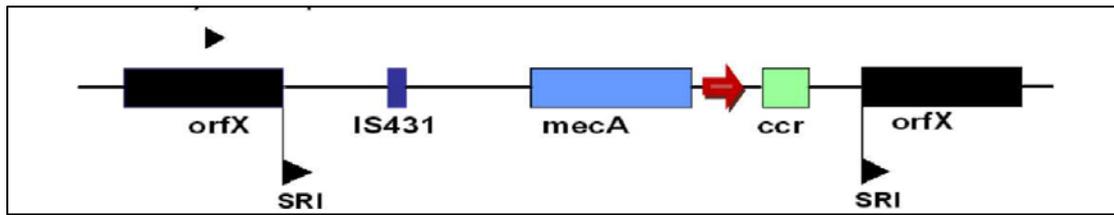
Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus*

Le traitement des infections à *S. aureus* a été initié par la pénicilline, et vers les années 1960, environ 80 % des souches ont développé une résistance. Une nouvelle classe de pénicilline, résistante à la pénicillinase, a ensuite été commercialisée, les pénicillines semi-synthétiques du groupe M, comme la méthicilline, l'oxacilline et la dicloxacilline (Sevin et al., 1999). Après deux ans d'utilisation de la méthicilline comme agent thérapeutique, une souche de *S. aureus* résistante à la méthicilline (SARM) fut découverte en Angleterre, avant de se répandre de façon épidémique puis endémique dans les hôpitaux à partir des années 1970 (Chambers et DeLeo, 2009). Un petit nombre de clones de SARM multirésistants, dénommés SARM hospitaliers (SARM-H), a diffusé très largement de manière épidémique dans les hôpitaux, à l'échelle nationale, continentale, voire mondiale (David et Daum, 2010). Depuis la fin des années 90, de nouveaux clones de SARM, dits SARM communautaires (SARM-C), ont émergé sans lien avec les clones HA-MRSA, et ont diffusé dans la communauté. On peut notamment citer le clone USA300 aux USA, et le clone ST80 en Europe et en Afrique du Nord (Djoudi et al, 2013). Enfin, depuis le milieu des années 2000, une dernière vague de souches de *S. aureus* résistante à la méthicilline est apparue, il s'agit de SARM isolés chez des animaux, appelés SARM animal (SARM-A) (Graveland et al., 2010).

Les caractéristiques générales d'un SARM sont: premièrement, d'appartenir à l'espèce *S. aureus*; deuxièmement, d'être résistant à la méthicilline et à d'autres pénicillines semi-synthétiques; et troisièmement, d'avoir acquis le gène de résistance *mecA*.

Le gène *mecA* code pour une protéine de liaison modifiée ayant une basse affinité avec la pénicilline (PBP2a : penicillin-binding protein). Il confère une résistance à la plupart des antibiotiques  $\beta$ -lactamines (Lowy, 2003). Ce gène est porté dans un SCC*mec* pour «Staphylococcal cassette chromosome». Cet élément mobile contient un site spécifique «cassette chromosome recombinase» (*ccr*) qui est responsable de la précision de l'excision et de l'intégration d'élément SCC*mec* dans le chromosome des *Staphylococcus* (Figure n °2). Jusqu'à présent, 11 différents types SCC*mec* (I à XI) et plusieurs sous-types ont été décrits pour les SARM selon leur complexe *mec* et leurs gènes *ccr* (Vanderhaeghen et al., 2012). Tous les SCC*mec* s'intègrent dans le chromosome au niveau du gène *orfX* dont le rôle est toujours inconnu (Valvatne et al., 2009).



**Figure n°2** : Structure de base de l'élément SCC $_{mec}$ . OrfX, gène où s'intègre *mecA*; SRI, séquences inversées répétées; IS431, séquence d'insertion 431; Flèche rouge : phénol-soluble moduline (PSM-*mec*), *ccr*, chromosomal cassette recombinase; (Moneckeet *al.*, 2012).

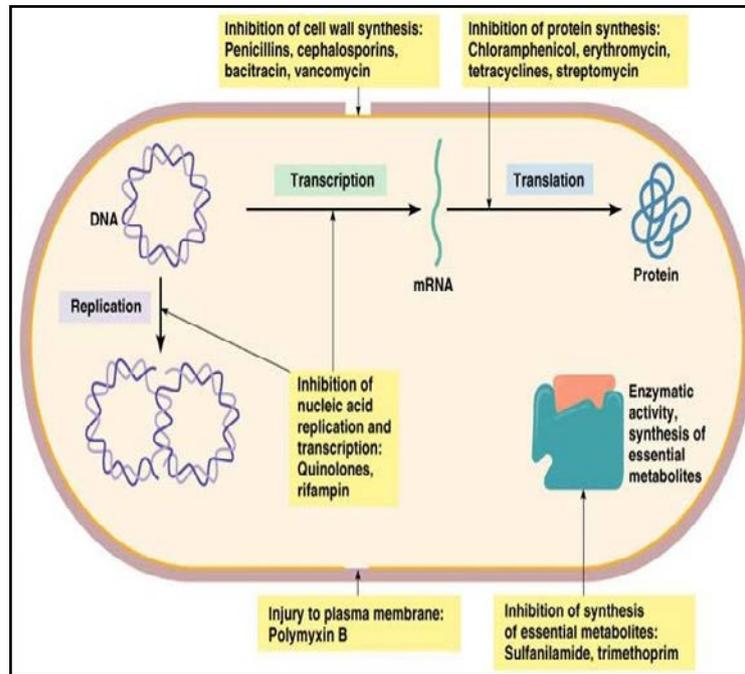
## II. Les facteurs de virulence et de pathogénicité

Les infections à SARM sont essentiellement les mêmes que les infections à toutes les souches de *S. aureus* à la seule différence de la multi-résistance aux antibiotiques, ce qui complique souvent le traitement. Ainsi, les SARM peuvent être responsables d'abcès, pneumonies, arthrites, méningites, ostéomyélites, endocardites et septicémies (Hasman *et al.*, 2009). Plusieurs facteurs contribuent à la virulence de *S. aureus*, dont les adhésines et les toxines. Les adhésines du groupe «MSCRAMMs» (pour : microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) sont des protéines associées à la surface. La protéine A et le facteur d'agglutination, qui interagissent avec des composants de l'hôte comme les anticorps, le fibrinogène et la fibronectine, sont des exemples. Après l'adhésion aux tissus de l'hôte, le SARM est capable de former des biofilms, envahir les cellules épithéliales ou former des «small-colonyvariants» (SCV) (Gordon et Lowy, 2008). Les toxines quant à elles, sont des protéines inhibitrices du chimiotactisme (Gordon et Lowy, 2008). L'entérotoxine A, toxine du choc toxique (TST), leucocidine de Panton-Valentine et les exfoliatines en sont des exemples (Vincenot *et al.*, 2008).

## III. La résistance des SARM aux antibiotiques

Face à l'arsenal thérapeutique, les bactéries ont su opposer des stratégies de défense et sont donc devenues résistantes aux antibiotiques. L'OMS définit une souche résistante aux antibiotiques comme « une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce ». Les antibiotiques ont principalement deux actions possibles sur les bactéries : bactériostatiques ou bactéricides. Un antibiotique bactériostatique est une molécule qui, à dose thérapeutique, est capable d'inhiber seulement la croissance bactérienne sans perte de viabilité. L'autre possibilité étant que l'antibiotique soit bactéricide, c'est-à-dire une molécule qui, à dose thérapeutique, est capable de provoquer la mort de la cellule bactérienne. Chaque famille d'antibiotiques possède un mécanisme

d'action qui lui est propre mais on peut résumer leurs actions en trois grandes catégories spécifiques qui sont : action sur la paroi bactérienne, action sur les processus de synthèse d'acides nucléiques et de protéines et action sur les voies métaboliques (**Figure n°3**).



**Figure n°3** : Différents sites d'action des classes d'antibiotiques.

La résistance de *S. aureus* aux antibiotiques est liée à sa grande plasticité génomique qui peut être acquise ou apportée par un plasmide ou d'autres éléments mobiles. Les plus importantes familles d'antibiotiques anti-staphylococciques sont:

### III.1. $\beta$ -Lactamines

Les  $\beta$ -lactamines regroupent plusieurs classes d'antibiotiques car leurs structures moléculaires sont proches : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes ainsi que les monobactames.

Les  $\beta$ -lactamines agissent sur la paroi bactérienne, plus précisément sur les protéines liant la pénicilline PLPs (**Pinho et al., 2000**). Elles sont situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Cette fixation covalente entre les PLP et les  $\beta$ -lactamines induit un blocage des réactions de transglycosylation et transpeptidation consécutif à l'acylation des PLP par la  $\beta$ -lactamines, ainsi qu'une stimulation de l'activité des auto-lysines (enzymes impliquées dans le renouvellement de la paroi) (**Tankovic, 2000 ; Cavallo et al., 2004 ; Drugeon, 2006**). Les souches de *S. aureus* possèdent 4 PLP : PLP1, PLP2, PLP3 (essentiels à la survie) et PLP4 (accessoires) (**Chambers, 1997**). Les  $\beta$ -lactamines ont, vis-à-vis de *S. aureus*, une activité bactéricide.

### III.1.1. La pénicilline

Le premier mécanisme de résistance à un antibiotique est décrit et identifié en 1942 par synthèse de la pénicillinase plasmidique, une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame et donc de rendre inapte l'antibiotique. La pénicillinase staphylococcique est le produit d'expression du gène *blaZ* qui est porté par un plasmide ou un transposon et qui est sous le contrôle de deux gènes régulateurs adjacents : l'anti-répresseur (ou activateur) *blaRl* et le répresseur *blal* (**Winston et Chambers, 2009**).

### III.1.2. La Méthicilline

La résistance est conférée par l'acquisition d'une cassette chromosomique SCC*mec* portant un gène d'expression inductible *mecA*, qui code une protéine membranaire additionnelle (PLP2a), dont l'affinité pour les bêta-lactamines est très faible, elle possède la capacité de catalyser seule l'assemblage du peptidoglycane contrairement aux 4 PLPs inactivées par les  $\beta$ -lactamines (**Berger-Bachi, 1998**). L'expression de la PLP2a dépend au moins de deux systèmes régulateurs agissant au niveau transcriptionnel : le système des gènes *mecI* et *mecRl* situés en amont du gène *mecA* et le système *blal* et *blaRl* situés en amont du gène *blaZ* de la pénicillinase. La Protéine MecR1, produit du gène *mecR1*, agit comme transducteur du signal et détecte la présence de  $\beta$ -lactamines grâce à son domaine extracellulaire. Une fois l'antibiotique lié, il y aura activation du domaine intracellulaire, celui-ci subit une activation par protéolyse limitée lui conférant une activité protéasique. Cette dernière conduit à la dégradation du MecI (répresseur de la transcription codé par *mecI*) qui est fixé au niveau de l'opérateur, d'où libération de ce dernier et expression du *mecA* (**Chambers, 1997 ; Golemi-kotra et al., 2003**).

Des variants du gène *mecA*, les gènes *mecB* et *mecC* peuvent conférer aussi des résistances staphylococciques (**Laurent et al., 2012**), (**Garcia-Alvarez et al., 2012 ; Djoudi et al., 2016 ; Hiramatsu et al., 2013**).

Il existe des souches à résistance de bas niveau nommé BORSA (Bordeline *Staphylococcus aureus*) et MODSA (modified *Staphylococcus aureus*) ne possèdent pas le gène *mecA*. Pour les souches BORSA, le mécanisme impliqué est une hyperproduction de la pénicillinase staphylococcique. Tandis que pour les souches MODSA, une modification des PLP endogènes (PLP1, 2 ou 4) entraîne une résistance sans production de pénicillinase (**Chambers, 1997**).

### III.1.3. Céphalosporines de 5<sup>ème</sup> génération

Le ceftaroline et le ceftobiprole sont de nouvelles molécules récemment présentées et approuvées pour le traitement des pneumonies communautaires, et des infections compliquées de la peau. Le ceftaroline possède une activité démontrée contre les souches cliniques de SARM, y compris celles qui présentent une sensibilité réduite à la vancomycine, le linézolide, et daptomycine (**Fernandez et al., 2014**).

La résistance est conférée par un changement allostérique de PBP2a (proche du site actif de la transpeptidase) ce qui provoque l'ouverture de la molécule et facilite sa liaison au site actif (**Chan et al., 2014 ; Fishovitz, 2014**). Tandis que la ceftobiprole peut accéder à l'emplacement actif de PBP2a par son résidu R2 (**Djoudi et al., 2016**).

Des études antérieures ont montré que cette résistance n'est pas due à une pression sélective après l'introduction de ces molécules mais due aux mutations ponctuelles spécifiques dans quelques allotypes du gène *mecA* (**Schaumburg et al., 2016**). Des mutations multiples au niveau de ce gène donnent une résistance de haut niveau à ces deux antibiotiques (**Chan et al., 2014**).

### III.2. Antibiotiques phosphoniques

La fosfomycine est une molécule issue de *Streptomyces fradiae*, elle inhibe la synthèse du peptidoglycane en rendant inapte l'enzyme énoylpyruvyl-transférase, codée par le gène *murA*. Les antibiotiques phosphoniques sont bactéricides envers le SARM.

La résistance à ces molécules est due à une mutation chromosomique au niveau du *murA* ou à la production d'une protéine FosB qui hydrolyse la fosfomycine en ouvrant le noyau époxyde, cette dernière est apportée par des plasmides ayant le gène de *FosB* (**Etienne et al., 1991**).

### III.3. Glycopeptides

La vancomycine d'*Amycolatopsis orientalis* et la teicoplanine d'*Actinoplanes teichomyceticus* agissent sur la synthèse du peptidoglycane, en se liant avec le dimère D-alanyl-D-alanine des précurseurs à la surface bactérienne. Cette fixation masque les sites d'action des transpeptidases et empêche la réaction de transglycolisation lors de la synthèse du peptidoglycane (**Hiramatsu, 2001**). Ces antibiotiques sont bactéricides.

La résistance du SARM à cette famille est liée à une diminution de la pénétration des glycopeptides dans la bactérie par piégeage grâce au D-alanyl-D-alanine qui se retrouve en abondance. Cette résistance est probablement due à des mutations dans de multiples gènes qui donnent une anomalie de la biosynthèse du peptidoglycane et est

connue chez les souches glycopeptide-intermediate *S. aureus* (GISA) ou vancomycine-intermediate *S. aureus* (VISA). Le second est dû à la non dégradation des anciennes couches de peptidoglycanes par les enzymes autolytiques (**Hiramatsu, 2001; Daurel et Leclerq, 2008**). Une autre résistance plus rare est connue chez les souches vacomycin-resistant *S. aureus* (VRSA) (**Sievert et al., 2002**) due à l'acquisition de l'opéron *vanA*, porté par des plasmides et qui provient de souches d'Entérocoques résistantes aux glycopeptides (**Périchon et Courvalin, 2009**), la chaîne pentapeptidique du peptidoglycane change dans sa partie terminale. On retrouve un dimère D-alanyl-D-lactate qui présente une très faible affinité avec l'antibiotique (**Lowy, 2003**).

#### III.4. Lipopeptides

L'unique représentante des lipopeptides cycliques, la daptomycine isolée à partir de *Streptomyces roseosporum* agit sur la paroi bactérienne. Elle s'insère dans la membrane cytoplasmique en présence de cation  $Ca^{2+}$ , puis elle entraîne par polymérisation la formation de pores transmembranaires et la mort cellulaire par fuite ionique. L'antibiotique a une action bactéricide sur le SARM (**Rose et al., 2008**).

Le mécanisme de résistance est encore peu connu à ce jour, il se fait soit par :

- La réduction de la fixation de l'antibiotique sur la membrane cytoplasmique à cause de la perte d'une protéine membranaire (**Rose et al., 2008 ; Sheetal et al., 2013**)
- Changement de la charge électrique sur la membrane (+).

#### III.5. Aminoglycosides ou aminosides

Le premier aminoside naturel découvert a été nommé streptomycine puis il a été suivi par d'autres hémi-synthétiques (amikacine et netilmicine). Ces molécules agissent sur la traduction des ARNm et la synthèse des protéines en interférant avec la sous-unité 30S des ribosomes et donne des protéines non-sens qui entraînent la mort bactérienne (**Daurel et Leclerq, 2008**). Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides rapides et puissants.

La résistance est apportée par des transposons ou des plasmides, et peut être assurée par 3 mécanismes différents : des mutations au niveau des gènes codant pour des protéines ribosomales ou touchant la perméabilité de l'antibiotique ainsi que la production d'enzymes inactivatrices (**Lyon et Skurray, 1987 ; Winston et Chambers, 2009**).

#### III.6. Macrolides. Lincosamides et Synergystines (MLS)

D'un point de vue moléculaire, les MLS sont différents et hétéroclites structurellement parlant mais ils sont regroupés dans la même famille, car leurs

mécanismes d'action ainsi que leurs spectres antibactériens sont similaires. Ces antibiotiques se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S des ribosomes et inhibent ainsi la synthèse protéique (**Pichere, 2001**). Les MLS sont des antibiotiques bactériostatiques, sauf les synergystines qui sont bactéricides.

Trois mécanismes de résistance ont été décrits :

- La modification de la cible ribosomale par méthylation de l'adénine en position A2058 de l'ARNr 23S empêche la fixation du MLS et son action. Les enzymes en cause sont des méthylases codées par des gènes de la famille *erm* (erythromycinresistancemethylase). Cette résistance peut être inducible (induite en présence de macrolides) ou constitutive (exprimée en permanence). Elle ne touche pas les streptogramines A.
- La présence d'une pompe ATP-dépendante, codée par le gène plasmidique *msrA*, confère une résistance par efflux aux macrolides de 14 et 15 atomes ainsi qu'aux streptogramines B.
- L'inactivation enzymatique des lincosamides, dû à l'acquisition du gène *lnuA* (**Daurel et Leclerq, 2008**).

### III.7. Phénicolés

La principale molécule est le chloramphénicol, suivi du thiamphénicol qui est mieux tolérée par l'organisme. Ils sont essentiellement bactériostatiques. L'antibiotique se fixe à côté du site accepteur A de la sous-unité 50S du ribosome et inhibe ainsi la synthèse protéique (**Dorosz et al., 2011**).

La résistance aux phénicolés est assurée par :

- De multiples mécanismes d'efflux (MDR) codé par le gène *norA*.
- Neutralisation de l'antibiotique par une chloramphénicol acétyltransferase (CAT) codée par le gène *cat* qui se trouve sur un plasmide.

### III.8. Tétracyclines

Ces molécules agissent au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en inhibant l'élongation peptidique. Ils sont bactériostatiques envers le SARM. Il existe deux types de résistance ; le premier est lié à un plasmide (le plus connu est pT181), ce qui entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines Tet situées dans la membrane interne. La seconde résistance entraîne une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines Tet (**Lyon et Skurray, 1987 ; Bismuth et al., 1990 ; Wen et al., 2013**).

### III.9. Fusidanines

L'acide fusidique est d'origine naturelle et produit par un micromycète *Fusidium coccineum*. Les fusidanines forment un complexe stable avec le facteur d'élongation EF-G qui est une GTPase au niveau de la sous unité 50S, ce qui empêche la fixation des amino-acyl-ARNt et bloque l'élongation de la chaîne peptidique. L'antibiotique a une activité bactéricide rapide (**Lyon et skurray, 1987 ; Daurel et Leclerq, 2008**).

La résistance à cet antibiotique est la conséquence d'une diminution de l'affinité entre le facteur d'élongation et l'antibiotique, la résistance est de type chromosomique par mutation du gène *fusA* codant le facteur EF-G ou un défaut de pénétration dans la bactérie à cause d'une résistance de type plasmidique, (gène *fusB* ou *fusC*) (**O'Neill et al., 2007**).

### III.10. Oxazolidinones

Le linézolide est l'unique représentante de la classe des oxazolidinones, il interagit avec le fragment 23S de la sous-unité 50S du ribosome et inhibe ainsi la formation du complexe d'initiation de la traduction (**Winston et Chambers, 2009**). L'antibiotique présente une action bactériostatique.

La résistance est due soit par l'acquisition du gène *cfr* plasmidique de la méthyl-transférase ribosomale, soit à des mutations ponctuelles sur le gène chromosomique « rrl » codant la partie protéique de l'ARNr 23S (**Endimiani et al., 2011**). Cette dernière nécessite de muter 5 à 6 copies des gènes de la partie protéique de l'ARNr pour obtenir une résistance franche.

### III.11. Fluoroquinolones

Ces antibiotiques ont comme cible la synthèse des acides nucléiques. Ils interagissent avec les complexes ADN/topoisomérases (de type II, incluant la gyrase et la topo isomérase IV et entraînent l'arrêt de la réplication et de la transcription de l'ADN bactérien (**Daurel et Leclerq, 2008**). Ces molécules ont une activité bactéricide.

Il existe deux mécanismes de résistance de type chromosomique exclusivement :

- La première étant liée à une surexpression des pompes *Multi Drug Resistance* (MDR), codées par le gène *NorA*, permettant l'efflux des fluoroquinolones hors du cytoplasme de la bactérie (**DeMarco, 2007 ; Hooper, 2002**).
- La seconde est une mutation du gène *parC* codant une partie de la topoisomérase IV ou sur une autre cible (ParC, ParE ou GyrA) qui confère une résistance de haut niveau à plusieurs molécules (**Lowy, 2003 ; Daurel et Leclerq, 2008**).

### III.12. Acide pseudomonique

La mupirocine est d'origine naturelle (*Pseudomonas fluorescens*). Elle inhibe la synthèse des protéines bactériennes par liaison réversible et spécifique de l'isoleucyl t-RNA synthétase. Cette compétition stoppe l'élongation peptidique (Gregston et al., 2004). La molécule est considérée comme un antibiotique bactéricide.

Une résistance dite de bas niveau est liée à une mutation du gène *ileS* gène qui code l'isoleucyl-ARNt synthétase, implique la non fixation de l'antibiotique sur l'enzyme. Par contre la résistance de haut niveau nécessite l'acquisition du gène plasmidique *mupA* qui modifie l'isoleucyl-ARNt synthétase (Hurdle et al., 2004 ; 2005).

### III.13. Rifamycines

La molécule rifamycine est divisée en sept rifamycines différentes A, B, C, D, E, S et SV. Ces molécules se lient à la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase-ADN dépendante et bloquent l'initiation de la transcription de l'ADN bactérien en ARN messager. Ces antibiotiques sont des agents bactéricides (Lyon et Skurray, 1987).

Des mutations du gène *rpoB* qui code la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase-ADN dépendante altèrent la structure de l'ARN polymérase sur laquelle l'antibiotique ne pourra plus agir (Daurel et Leclerq, 2008, Winston et Chambers, 2009).

### III.14. Sulfamides et triméthoprime ou pyriméthamine

Ces différentes molécules inhibent la synthèse des folates. Le Sulfaméthoxazole entre en compétition avec l'acide para-amino benzoïque (PAB) ce qui va enrayer l'action de la dihydroptéroate synthétase (DHPS), tandis que le triméthoprime neutralise la dihydrofolate réductase (DHFR). Les sulfamides sont des antibiotiques bactériostatiques mais leur association avec le triméthoprime rend leur activité bactéricide, les deux molécules agissant en synergie.

La résistance à cette classe d'antibiotique peut trouver sa cause dans divers mécanismes. Une imperméabilité aux antibiotiques d'origine chromosomique ou plasmidique, une hyperproduction de DHPS ou de DHFR, et enfin la présence de DHPS ou de DHFR distincts substitué d'un acide aminé (Lyon et Skurray, 1987 ; Winston et Chambers, 2009).

***PARTIE***

***EXPÉRIMENTALE***

# *CHAPITRE*

## *« II »*

### *Matériel et Méthodes*

## **I. Cadre et objectifs**

L'étude réalisée durant notre travail s'est intéressée aux profils de résistance d'une collection de souches de SARM conservées au niveau du laboratoire d'écologie microbienne. Les SARM ont été isolés de différentes sources.

L'étude bactériologique a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa, durant une période de 3 mois (Février-Avril).

Les milieux de cultures et leurs compositions, les réactifs, les colorants et le matériel utilisé sont représentés dans **l'annexe I**.

## **II. Revivification des souches**

Pour revivifier les souches conservées dans du bouillon glycérol TSB à - 4°C / - 6°C, on a introduire l'anse de platine dans le tube de conservation après décongélation, puis on a prélevé soigneusement une goutte du bouillon qu'on a mis dans 5 ml du bouillon nutritif et qu'on a incubé à 37°C pendant 24 heures.

## **III. Culture des souches et Purification**

L'isolement des souches de SARM a été réalisé à l'aide d'une anse de platine à partir du bouillon nutritif ; puis on aensemencé sur boîte de Pétri contenant de la gélose Chapman par la méthode des stries ; et on a incubé à 37°C pendant 24 heures.

On a refait les ré-isolements jusqu'à l'obtention d'une culture pure ayant comme caractéristiques : colonies de couleur jaune, de 1 à 2 mm de diamètre, arrondies, semi-bombées, entourées d'un halo jaune.

## **IV. Identification**

Après avoir isolé et purifié les souches de SARM, on procède, respectivement, aux tests d'identifications : la catalase, la coloration de Gram (**Annexe II**), recherche de la DNAase, le test de coagulase et les galeries API 20 Staph.

### **IV.1. Test de la DNAase ( Kateete et al ., 2010)**

La révélation de l'activité désoxyribonucléase (DNAase) est un critère de différenciation de *S. aureus* des autres espèces. On procède comme suit :

- Ensemencer une boîte de gélose DNA par une strie courte de la souche à identifier avec deux souches témoins (négatif et positif) ;
- Incuber à 37° C/ 24 h, puis inonder la boîte de Pétri avec une solution de HCl à 1 N, l'acide chlorhydrique précipite l'ADN polymérisé et opacifie le milieu ;
- Les microorganismes qui dégradent l'ADN forment une zone claire autour de la zone de croissance.

#### **IV.2. Test de coagulase (Avril et al., 1992)**

Il consiste à rechercher un caractère taxonomique essentiel de l'espèce, la production de la staphycoagulase qui confère un pouvoir pathogène au SARM. C'est une exo-enzyme capable de coaguler le plasma de l'Homme ou du lapin. Cette protéine thermostable, active la prothrombine et la transforme en thrombine, qui à son tour, transforme le fibrinogène en fibrine. Elle peut entraîner in vivo la formation d'un caillot endoveineux par prise en masse du plasma (**Ferron, 1982**).

Pour réaliser ce test, et à partir d'une culture pure, on a réalisé une subculture dans un tube de bouillon cœur cerveau (B.H.I.B), qu'on a incubé à 37° C pendant 18 à 24 heures, puis dans un tube à hémolyse stérile on a mélangé 0,5 ml de plasma Humain et 0,5 ml de la culture fraîche sur le B.H.I.B par la suite on a incubé le mélange à 37°C pendant 24 heures et on a effectué la lecture après 30 minutes, 1 heure, 4 heures et 24 heures. Un résultat positif se traduit par la prise en masse du plasma dans le tube à hémolyse.

**Remarque :** une coagulation peut être observée après 30 minutes d'incubation, mais la lecture doit être poursuivie jusqu'à 24 heures, car la réaction est plus au moins lente selon la souche.

#### **IV.3. Galerie API 20 Staph (bioMérieux SA, Réf : 20500)**

##### **IV.3.1. Principe**

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

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

### **IV.3.2. Mode opératoire**

#### **Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Sortir la galerie de son emballage individuel ;
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

#### **Préparation de l'inoculum**

- Réaliser une préculture sur gélose Chapman 18-24 h à 37° C ;
- Vérifier l'appartenance de la souche à la famille des *Staphylococcaceae* (morphologie, Gram, catalase...), ainsi que sa pureté ;
- Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium en exerçant une pression horizontale avec le pouce sur la partie striée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule ;
- Préparer une suspension bactérienne homogène, qui devrait avoir une opacité égale à 0,5 McFarland (Cette suspension doit être utilisée extemporanément).

#### **Inoculation de la galerie**

- A l'aide d'une pipette, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe ;
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37° C pendant 18-24 heures.

### **IV.3.3. Lecture et interprétation**

La lecture peut s'effectuer, soit directement par rapport aux résultats du tableau d'identification, ou bien après transformation de ces résultats en codes chiffrés dont la signification est donnée par un index numérique (API web) (Murray, 2003) (Annexe III).

- **Détermination du profil numérique**

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique (**Annexe III**).

- **Identification**

Elle est réalisée à partir de la base de données (V 4.1)

➤ À l'aide du Catalogue Analytique :

Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

➤ À l'aide du logiciel d'identification **apiweb<sup>TM</sup>** :

Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

## **V. Etude de la résistance des SARM aux antibiotiques**

La résistance aux antibiotiques des souches purifiées et ré-identifiées comme étant des SARM a été réalisée par l'antibiogramme standard.

### **V.1 Sensibilité à la méthicilline**

C'est le premier à être réalisé. Il a pour but de tester la sensibilité des souches vis-à-vis de la céfoxitine (FOX), et cela par diffusion sur gélose Muller Hinton, selon les recommandations de l' (**EUCAST,2017**).

#### **V.1.1 Préparation de l'inoculum**

- A partir d'une culture pure et fraîche (moins de 24 heures), racler à l'aide d'une anse de platine 3 à 4 colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité devrait être équivalente à 0,5 Mc Farland soit  $10^8$  UFC/ml ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne au vortex.

#### **V.1.2 Ensemencement**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- Essorer l'écouvillon en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum ;

- Sur une boîte de Pétri contenant la gélose de Muller-Hinton, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose de haut en bas et en stries très serrés ;
- Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même ;
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- Déposer les disques de la céfoxitine (FOX 30 µg) au centre de la gélose ;
- Incuber à 30° C pendant 24 heures.

### **V.1.3 Lecture**

Après incubation, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition. L'interprétation en sensible (S), résistant (R) est effectuée selon les recommandations de l'**EUCAST, 2017** comme suit :

- Diamètre  $\leq 22$  mm  $\longrightarrow$  la souche est résistante (R).
- Diamètre  $> 22$  mm  $\longrightarrow$  la souche est sensible (S).

### **V.2 Sensibilité aux autres familles d'antibiotiques**

Il concerne les souches qui ont montré une résistance à la céfoxitine. Il a pour but de tester leurs sensibilités vis-à-vis d'autres antibiotiques. La méthode de préparation de l'inoculum est la même que celle indiquée pour l'antibiogramme standard, mais la température d'incubation diffère, elle se fait à 37° C pendant 24 heures, tout en respectant les recommandations de l'**EUCAST, 2017**.

**Tableau I** : Les antibiotiques complémentaires testés et interprétation selon les recommandations de la **CFA-SFM 2017**.

Familles	Antibiotiques (Abréviation et charge des disques en µg )	Diamètres critiques (mm)	
		S ≥	R <
<b>B-Lactamines</b>	Céfoxitine (Fox 30)	22	22
<b>Aminosides</b>	Gentamicine (CN10)	18	18
	Tobramycine (TOB 30)	18	18
<b>Sulfamides</b>	Triméthoprième/ Sulfaméthoxazole (SXT 25)	17	14
<b>Fusidanines</b>	Acide fusidique (FA10)	24	24
<b>Macrolides</b>	Erythromycine (E 15)	21	18
	Clindamycine (DA 2)	22	19
<b>Fluoroquinolones</b>	Ciprofloxacine (CIP 5)	21	21
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine (VA 30 cmg)	17	17
<b>Cyclines</b>	Tétracycline (TE 30)	22	19
<b>Rifamycines</b>	Rifampine (RA 5)	26	23

## **VI. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour vancomycine**

Le test est effectué sur les souches de phénotype vancomycine résistante sur gélose Muller-Hinton, présentant des diamètres de résistance inférieur à 17 mm.

### **Préparation de la microplaque**

Distribuer 100 µl de bouillon Muller-Hinton (MHB) dans chaque cupule à part pour la première colonne où l'on met 200 µl à l'aide de la micropipette multicanaux de préférence. Dans la cupule contenant 200 µl de MHB, y ajouter un volume de la solution d'antibiotiques (volume compris entre 10 et 25 µl) pour une concentration finale de 256 µg / ml ( $C1.V1 = C2.V2$ ).

**Les dilutions :**

- Bien mélanger la solution avec le MHB à l'aide de la micropipette et prélever 100  $\mu$ l de ce mélange et l'ajouter à la cupule adjacente et ainsi de suite jusqu'à l'avant dernière cupule et jeter les 100  $\mu$ l restant (dilution de 256  $\mu$ g / ml à 0,125  $\mu$ g / ml c. à. d de la cupule 1 à la cupule 11).
- La dernière cupule (cupule 12) ne contenant pas d'antibiotique (uniquement MHB) servira de témoin négatif pour le control de l'inoculum.

**Préparation de l'inoculum :**

- Suspension bactérienne dans du MHB.
- $A = 0,08-0,1$  et  $\lambda = 625$  nm équivalent à  $10^8$  UFC / ml
- Inoculer 5  $\mu$ l de la suspension dans chaque cupule à commencer par la colonne ne contenant pas d'antibiotique (témoin négatif) jusqu'à la cupule contenant la concentration d'antibiotique la plus élevée (cupule 1) (sens inverse de la dilution).
- Incuber des microplaques à 37° C / 18 h.

**Lecture :**

- D'abord vérifier s'il y a croissance dans la cupule témoin (sans antibiotique) (présence de culot).
- La CMI étant la plus faible concentration où il n'y a plus de croissance.

# *CHAPITRE*

## *« III »*

### *Résultats et discussion*

Au bout de 3 mois de travail au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Bejaia, 78 souches de SARM ont été collectionnées de différentes origines, humaines et animales, infectieuses et de portage nasal ont fait l'objet d'une ré-identification et d'une étude de leurs profil de résistance à certains antibiotiques.

## I. Répartition des souches de SARM

### I.1. Répartition des SARM par type de prélèvement

La répartition des souches de SARM a été variable en fonction de la nature des prélèvements : 46 sont d'origine infectieuse (58,97%), alors que 31 (39,74 %) sont issues de prélèvements nasaux, dont 25 (32,05 %) sur des patients hospitalisés et 6 (7,69 %) sur des animaux (4 chez la vache et 2 chez le chameau) (**Tableau II**).

**Tableau II** : Répartition des souches de SARM en fonction de la nature du prélèvement

Nature des prélèvements			SARM	
			Nombre	%
Infectieuse Humaine			46	58,97
Nasale	Humaine		25	32,05
	Animale	Vache	4	5,12
		Chameau	2	2,56

### I.2. Répartition des souches de SARM selon l'origine

La fréquence d'isolement de ces souches est variable selon les établissements, une prédominance de la collection antérieure du laboratoire d'écologie microbienne avec 26 souches, soit 33,21 % est constatée. La répartition des 78 souches de SARM sont représentés dans la figure suivante (**Figure n° 4**).

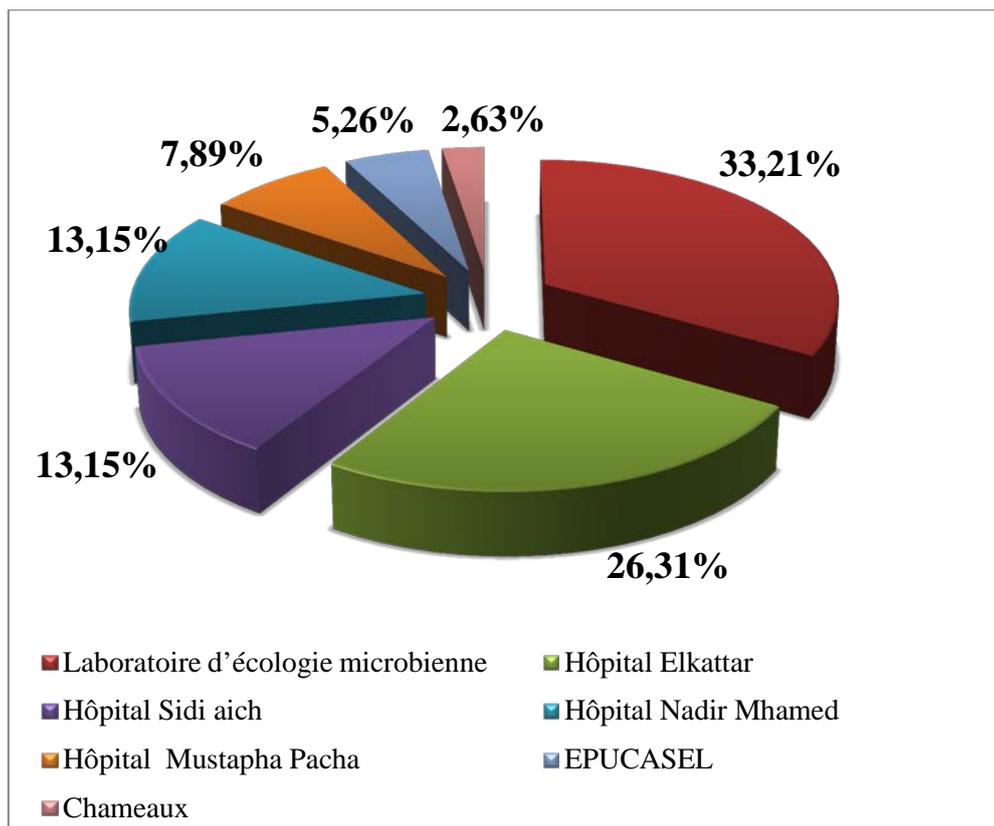


Figure n° 4 : Répartition des isolats de SARM en fonction des établissements.

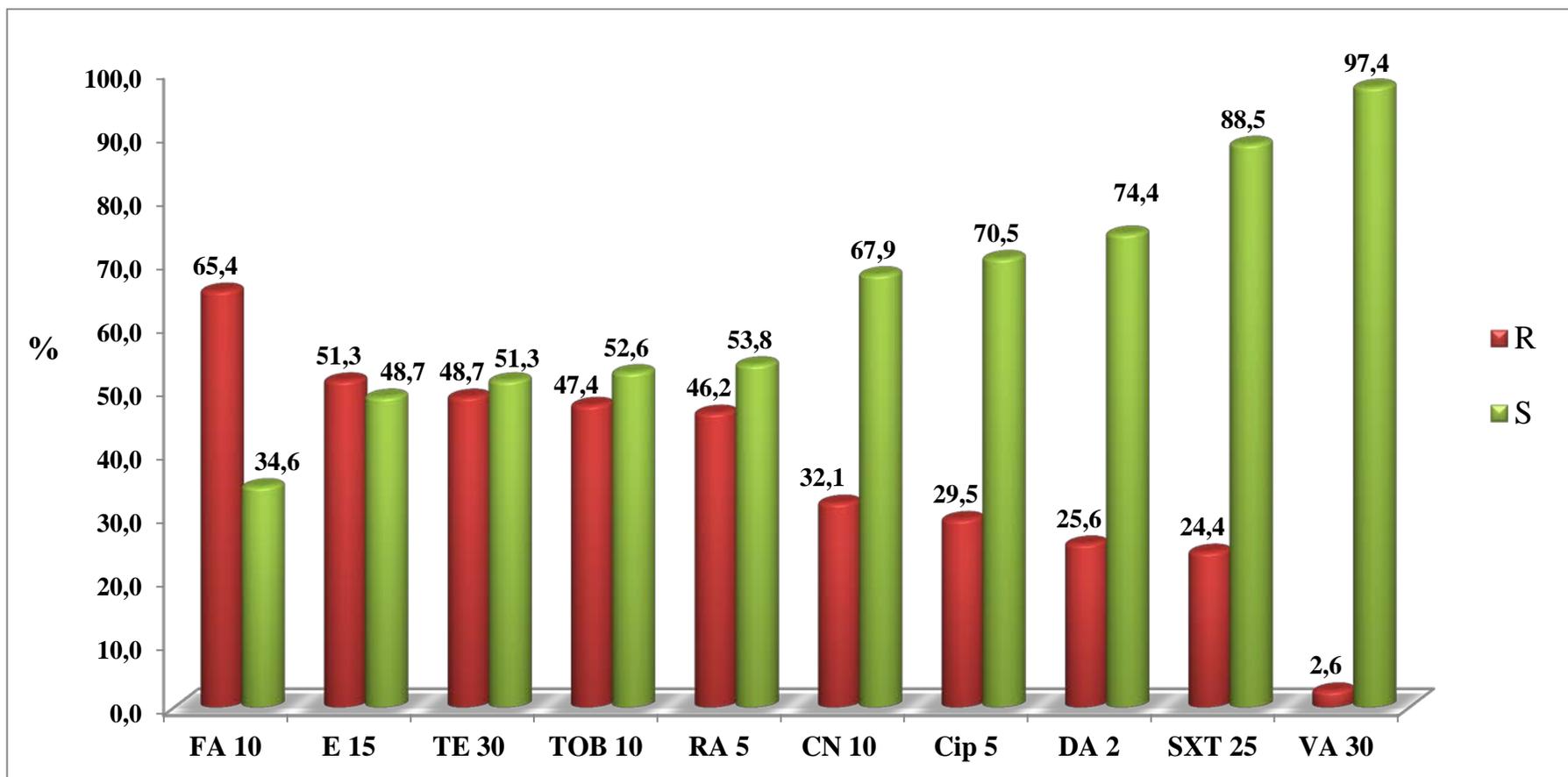
## II. Profil de sensibilité des souches de SARM

Les antibiogrammes ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion sur gélose Muller Hinton, selon les recommandations de l'EUCAST, 2017. L'analyse phénotypique des SARM a permis l'obtention des résultats décrits dans la figure n° 5.

Le *S. aureus* résistant à la méthicilline est une espèce bactérienne qui présente une capacité d'adaptation vis-à-vis des antibiotiques ; cependant, des taux variables de résistances sont enregistrés.

Les souches isolées ont exprimé un faible niveau de résistance aux triméthoprime sulfaméthoxazole avec 24,4%. Concernant les autres familles, des taux de 25,6% et 29,5 % ont été respectivement rapportés pour la clindamycine et ciprofloxacine. Cependant, ces souches ont montré une forte résistance vis-à-vis de l'acide fusidique (65,4%), suivi par l'érythromycine avec un taux de 51,3%. La tétracycline, la tobramycine et la rifampine ont montré des taux de résistance très rapprochés avec respectivement 48,7%, 47,4% et 46,2%.

Deux souches étaient notées résistantes à la vancomycine soit un taux de 2,63%.



FA10 : Acide fusidique  
 E15 : Erythromycine  
 TE30 : Tétracycline

TOB10 : Tobramycine  
 RA5 : Rifampine  
 CN10 : Gentamycine

CIP5 : Ciprofloxacine  
 VA 30 : Vancomycine  
 DA2 : Clindamycine

SXT 25 : Triméthoprim et Sulfaméthoxasole

Figure n° 5 : Le taux de résistance de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline aux autres antibiotiques.

L'érythromycine, tétracycline, tobramycine et gentamycine ont montré des taux élevés de résistance, cette dernière est liée à la grande plasticité génomique des genes responsables de cette résistance, qui peut être acquise ou apportée par un plasmide ou d'autres éléments mobiles (transposons).

En effet, Le SARM hospitalier présente une multi résistance élevée, contrairement au SARM communautaire, car il est porteur de gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques portés par des plasmides (pUB110, pI258, pT181) et transposons (Tn554) intégrés dans les cassettes *SCCmec* II et III (**David et Daum, 2010**).

Cependant le taux élevé de la résistance à l'acide fusidique, peut s'expliquer par l'hypothèse que la majorité des SARM soit de type communautaire, Dumitrescu et ses collaborateurs du Centre National de Référence des Staphylocoques de Lyon en France, ont appuyé que ce profil de résistance à l'acide fusidique est une caractéristique du SARM communautaire européen ST80 qui possède les gènes codants pour un facteur de virulence particulier, la leucocidine de Panton Valentine (**Dumitrescu et al., 2010**). Ce constat est déjà rapporté par (**Djoudi et al., 2013 ; 2014**) en Algérie.

### **II.1. Famille des $\beta$ lactamines : Céfoxitine**

Pour cette famille, nous nous sommes contentés de tester la céfoxitine, qui nous a permis de confirmer que nos souches étaient exclusivement des SARM.

### **II.2. Famille des Glycopeptides : La Vancomycine**

La résistance à la vancomycine a été testée par la méthode de dilution sur microplaque sur neuf souches, révélées phénotypiquement résistantes à cet antibiotique par la méthode de l'antibiogramme par diffusion, avec des diamètres de zones d'inhibition inférieurs à 17 mm.

Dans notre étude, deux souches ont montré une résistance à la vancomycine soit un taux de résistance de 2,6%, avec une CMI > 2 $\mu$ g/ml (**EUCAST, 2017**) (**Tableau III**), Ces deux souches sont issues de prélèvements hospitaliers de nature infectieuse (**Figure n° 6**).

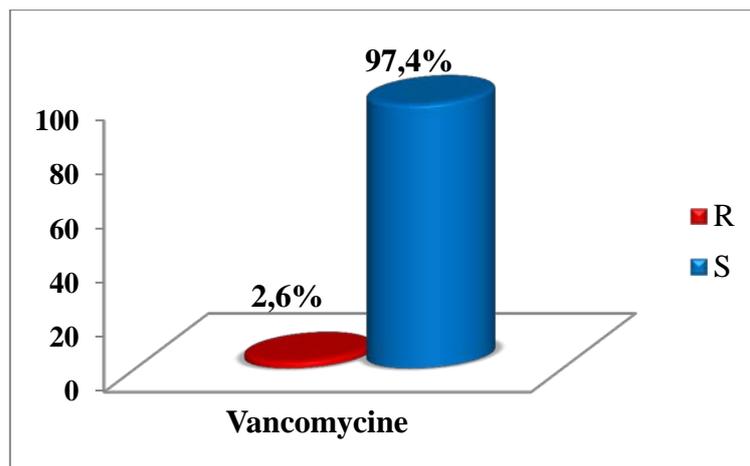


Figure n° 6 : Antibiogramme de la vancomycine.

Tableau III : Résultat des CMI à la vancomycine des souches de SARM

Souche	CMI (µg/ml)											
	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
391	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
443	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
358	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
637	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
CN24	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

(+): croissance

(-): pas de croissance

Cette sensibilité diminuée du SARM aux glycopeptides pose un problème d'actualité. Les premières souches résistantes ont été rapportées au Japon (**Hiramatsu et al., 1997**). Ainsi, différentes études dans le monde rapportent l'isolement de souches de SARM intermédiaires ou résistantes à cet antibiotique (**Rébiahi et al., 2011** ; **Soltani et al., 2015**). Une autre étude récente en Irak a constaté que 8% des souches étudiées étaient résistantes à la vancomycine (**Al-Mayahie et al., 2015**); ces souches possèdent une paroi épaissie (environ 2 fois), une activité autolytique accrue, relarguent des débris de peptidoglycane, produisent plus de précurseurs monomériques et ont de multiples autres altérations de leur paroi (**Hiramatsu, 2001**). Ceci traduit une réorganisation complexe du métabolisme du peptidoglycane liée probablement à des mutations dans les multiples

gènes *Van* gouvernants ce métabolisme ou dans l'expression de ces gènes. Ces réorganisations pourraient empêcher l'accès de la vancomycine à sa cible. Une autre hypothèse non exclusive serait l'hyperproduction de précurseurs du peptidoglycane agissant comme autant de leurres pour les glycopeptides (Roland, Vincent, 2012).

Rappelant que la vancomycine est utilisée depuis 1956 et est le médicament de choix pour le traitement des infections graves causées par les bactéries à Gram positif, toutefois, son utilisation abusive a abouti ces dernières années à l'apparition de résistance.

### II.3. Famille des Aminosides

Concernant cette famille, deux antibiotiques ont été testés, la gentamicine et la tobramycine. Les résultats sont représentés par un histogramme comparatif (figure n° 7).

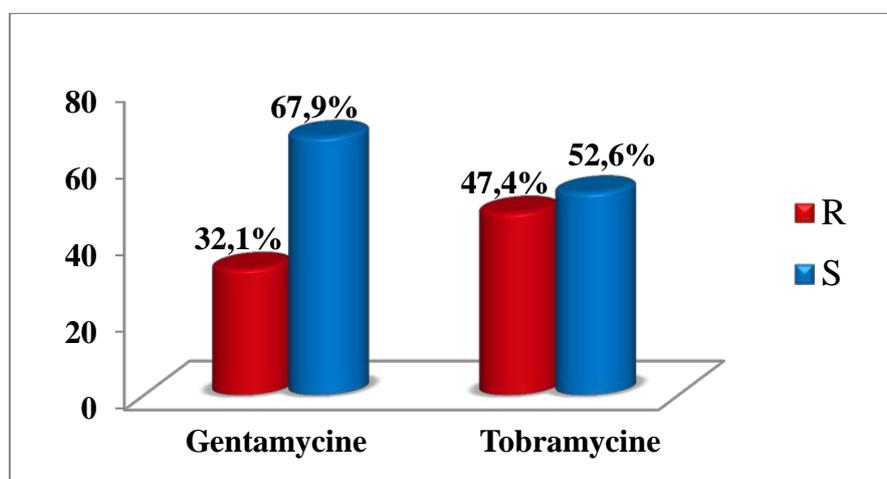


Figure n° 7: Antibiogrammes de la gentamicine et de la tobramycine.

#### ➤ La gentamicine

Pour la gentamicine, on a eu une résistance moyenne de 32,1 %. Ce résultat est inférieur à celui cité par Rahimi et ses collègues en Iran et qui est de 59 % (Rahimi et al.; 2013), supérieur à celui enregistré par Chanq et ses collaborateurs (13,9 %) aux USA (Chanq et al., 2015), et enfin nettement inférieur à celui enregistré par Yildiz et ses collègues en Turquie dont le résultat est de 90,2 % de résistance (Yildiz et al.; 2014).

Sur 25 souches résistantes à la gentamicine, 12 souches étaient issues de prélèvements nasaux humains (15,4%), 11 souches étaient issues de prélèvements de type infectieux (14,1%), et 2 souches de prélèvements nasaux sur des animaux (2,6%).

### ➤ La Tobramycine

Pour la tobramycine, on a eu un pourcentage légèrement plus élevé par rapport à celui de la gentamycine, avec un taux de 47,4%. Mais nettement inférieur à celui enregistré par Rahimi, qui est de 91% en Iran (**Rahimi et al., 2013**), à noter également que notre résultat est semblable aux 45% enregistré par Rashed au Bangladesh (**Rashed et al., 2016**).

Sur 37 souches résistantes à la tobramycine, les souches de type infectieux étaient majoritaires avec 22 souches (28,2%), suivies de 12 souches (15,4%) de prélèvements nasaux sur des patients et 3 souches (3,8%) seulement étaient d'origine animale.

La résistance acquise des Staphylocoques aux aminosides peut être assurée par 3 mécanismes différents. Le premier consiste en des mutations au niveau des gènes codant pour des protéines ribosomales, le second mécanisme résulte des mutations touchant la perméabilité de l'antibiotique et le troisième est assuré par la production d'enzymes inactivatrices (**Lyon et Skurray, 1987 ; Winston et Chambers, 2009**).

Les gènes de la résistance enzymatique aux aminosides sont portés par des transposons ou des plasmides transférables non seulement entre staphylocoques, mais aussi avec d'autres bactéries à Gram positif y compris les entérocoques. La localisation la plus fréquente du transposon Tn4001, qui confère la résistance à la gentamicine via l'expression d'une *aac(6\*)aph(2'')*, est plasmidique. Le gène *aadD* codant la nucleotidyltransferase *aad(4')(4'')* est aussi porté par de petits plasmides (**Lyon et Skurray, 1987**). Parmi ces derniers, le Pub110 présente la particularité d'être présent en position chromosomique sous une forme linéaire intégré aux cassettes *SCCmec* de types I, II et IV (**Le Loir et Gantier, 2009**).

Une étude récente en Turquie, a prouvé que le gène *aac-aph* était le gène le plus commun parmi les staphylocoques résistants à la gentamycine (83%) (**Yildiz et al., 2014**).

### II.4. Familles des Macrolides Lincosamides

Concernant cette famille, deux antibiotiques ont été testés, l'érythromycine et la gentamycine. Les résultats sont représentés sur la **figure n° 8**.

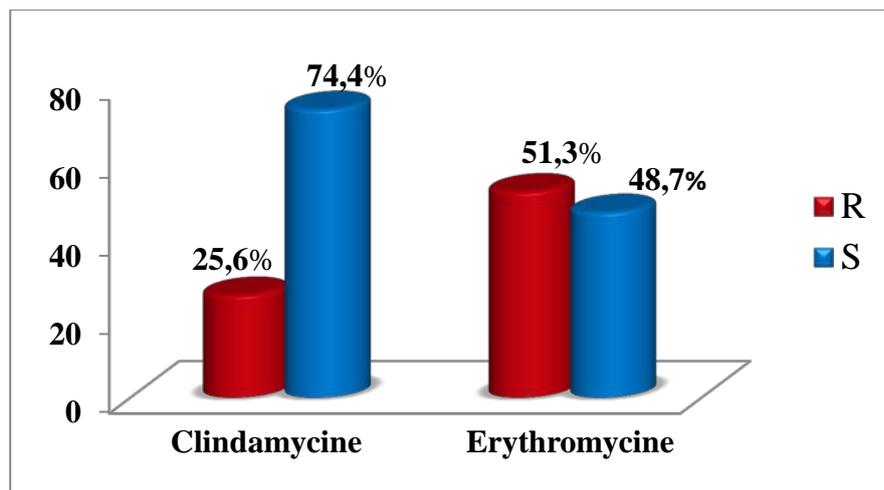


Figure n°8 : Antibiogrammes de la clindamycine et de l'érythromycine.

#### ➤ Erythromycine

Nous avons enregistré un taux de résistance à l'érythromycine chez le SARM de 51,3% proche de celui rapporté en Turquie avec 56.7% (Yildiz et al., 2014), et supérieur à celui enregistré en Irak avec 18,87% (Taha, 2013), mais reste moins élevé par rapport à celui rapporté aux Etats-Unis ,au Népal et en Egypte avec 66% , 62% et 80% respectivement (Pillar et al.,2008 ;Ansari et al., 2016 ; El shabrawy et al., 2016). Cependant Kaddora a constaté que 100% des isolats examinés étaient résistant aux Etats Unis (Kaddora, 2010).

Sur 40 SARM résistants à l'érythromycine, 21 souches sont issues des prélèvements d'origine infectieuse soit un taux de 26,9%, 18 souches (23,1%) de prélèvements nasaux humains et une seule souche issue du portage nasal chez la vache.

Rappelons que cette résistance des SARM à l'érythromycine est assuré par un élément génétique intégré dans la cassette SCCmec, le transposant (Tn 554) porté par trois type de la cassette SCCmec II, III, VIII, (Nour et al., 2005).

#### ➤ Clindamycine

L'étude de la sensibilité des souches de SARM vis-à-vis de la clindamycine a montré un taux de 25,6 % de résistance soit 20 souches, ce taux est proche de celui enregistré en Egypte (20%) (El shabrawy et al., 2016) et inférieur à celui rapporté en Turquie (46,1%) (Yildiz et al., 2014). Dans une autre étude aux Etats-Unis, l'incidence de la résistance est signalée variable et s'étend de 75 à 100 % (Kaddora, 2010).

La répartition selon la nature du prélèvement donne 12,8 % (10 souches) de SARM résistant à la Clindamycine sont d'origine infectieux, 7,7% (6 souches) sont issues du portage nasal humain et 5,1% (4 souches) du portage nasal sur des animaux.

La résistance à cette famille d'antibiotiques est due au mécanisme d'efflux, la présence d'une pompe ATP-dépendante codée par le gène plasmidique *msrA* (Claire et roland, 2008) et aussi par la synthèse d'une méthylase codé par les gènes *erm* (Winston et Chambers, 2009).

Dans le monde, parmi les isolats SARM résistants aux MLS, le gène *ermA* était le gène le plus fréquent en France (57.6%), en Colombie (78.5%) et en Malaisie (52.8%) ; par contre, en Grèce, le gène le plus fréquent est l'*ermC* (96.5%) (EL Shenawy, 2016).

## II.5. Famille des tétracyclines

Les souches de SARM examinées étaient à 48,7% résistantes à la tétracycline (37 souches), ces résultats sont proches de ceux obtenus en Egypte avec 50% de résistance (El shabrawy et al., 2016), et inférieur des résultats rapportés en Iran (83%) (Rahimi et al., 2013) et en Turquie par Yildiz en 2014 où les souches résistantes étaient de 88.2%. Encore ceci était différent de ceux détecté par Kaddora aux Etats-Unis, où 100% des isolats étaient sensible à la tétracycline (Kaddora, 2010).

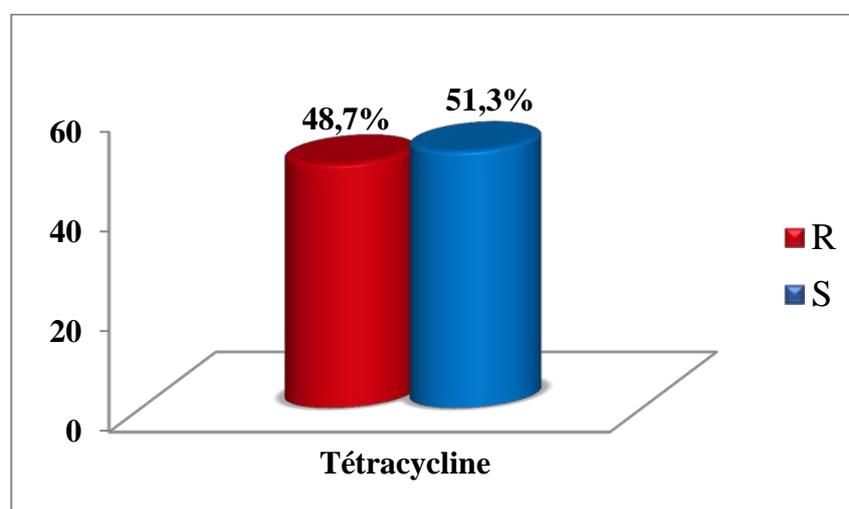


Figure n° 9: Antibiogramme de la tétracycline.

La résistance à cet antibiotique est assurée par le gène *Tet M* codant des protéines Tet responsables d'efflux actif de la tétracycline, ou par la protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines Tet (Wen et al., 2013).

Ces gènes responsables de la résistance sont portés soit sur une cassette SCCmec type III, ou lié à un plasmide, le plus connu est le pT181 (fréquent chez le SARM) (Nour et al., 2005).

Sur les 37 souches résistantes à la tétracycline de notre étude, 25 souches soit un taux de 32,1% sont d'origine infectieuse, 11 souches soit 14,1% de prélèvements nasaux humains, et 2 souches soit 2,6 % de prélèvements nasaux sur des animaux (vaches).

## II.6. Famille des Fusidanes : L'acide fusidique

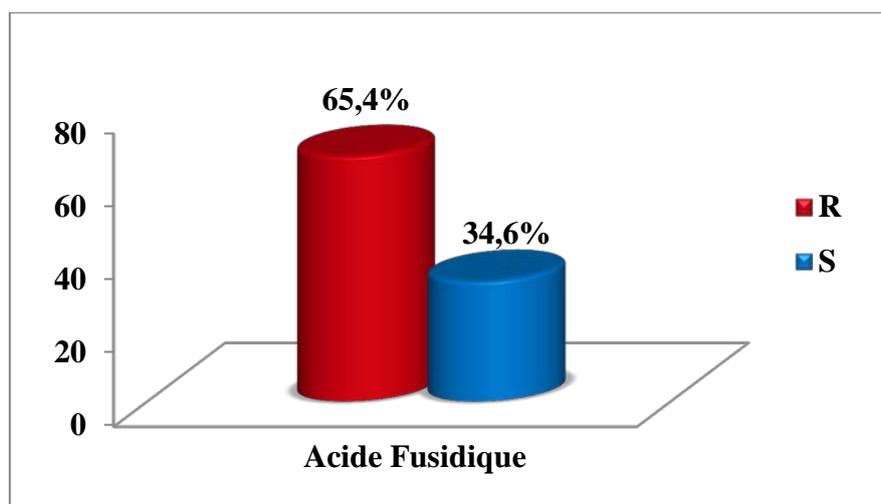


Figure n° 10: Antibiogrammes de l'acide fusidique.

Nous avons noté une résistance assez importante vis à vis de l'acide fusidique, elle a été exprimée chez 65,4% des souches. Ce taux de résistance est très proche de celui enregistré au Maroc avec 68% de résistance (Benouda et El hamzaoui, 2009), et supérieur à celui noté en Turquie avec juste 8,1% de résistance (Yildiz et al., 2014).

Cette remarquable résistance est peut être la conséquence de consommation de plus en plus importante de cet antibiotique ou même son utilisation de façon inappropriée, sachant que cet antibiotique peut développer rapidement une résistance à Staphylocoque s'il est utilisé en monothérapie (Darley et Mac-Gowan, 2004), elle peut être causée par une mutation du gène *fusA* codant le facteur d'élongation EF-G (Daurel et Leclercq, 2008) ou un défaut de pénétration dans la bactérie par une résistance de type plasmidique (gène *fusB* ou *fusC*) (O'Neill et al., 2007).

Pour la répartition de nos 51 souches résistantes à l'acide fusidique, 32 souches (41%) était de type de prélèvement infectieux, 15 souches (19,2%) du portage nasal humain, et 4 souches (5,1%) du portage nasal animal.

## II.7. Famille des Fluoroquinolones : La ciprofloxacine

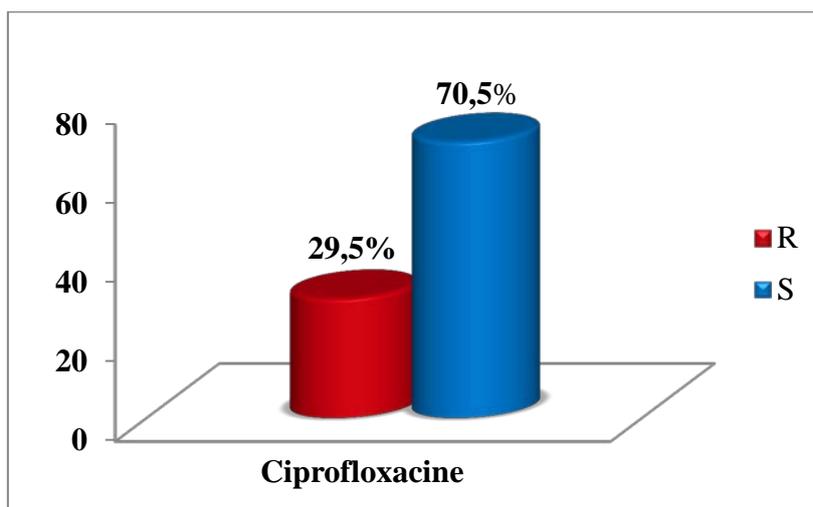


Figure n° 11: Antibiogramme de la ciprofloxacine

L'étude de la sensibilité des souches de SARM vis-à-vis de la ciprofloxacine a montré un taux de 70,5% (23 souches), inférieur à celui enregistré en Irak (82,6%) (Al-Mayahie et al., 2015). Randrianirina a rapporté une sensibilité de 92,2% en Inde (Randrianirina et al., 2007), mais reste nettement supérieur au 2,8% enregistré par Song à Changhaï (Song et al., 2017). Cependant, L'Egypte a marqué le taux le plus élevé de sensibilité avec un 100% (El shabrawy et al., 2016).

Rappelons que la ciprofloxacine est un nouvel antibiotique de la famille des Fluoroquinolones et utilisé récemment en thérapie, en outre sa résistance semble se produire par mutation dans la cible d'antibiotique au niveau des gènes ParC, ParE ou Gyr, et par changement de perméabilité de la membrane externe de la cellule (gène *NorA*) (Daurel et Leclercq, 2008 ; DeMarco, 2007 ; Hooper, 2002).

Selon l'origine des souches étudiées, ce taux de résistance était à 15,4% (12 souches) issues du portage nasal sur des patients et 14,1% (11 souches) issues de prélèvements de type infectieux.

## II.8. Familles des Rifamycines : La Rifampine

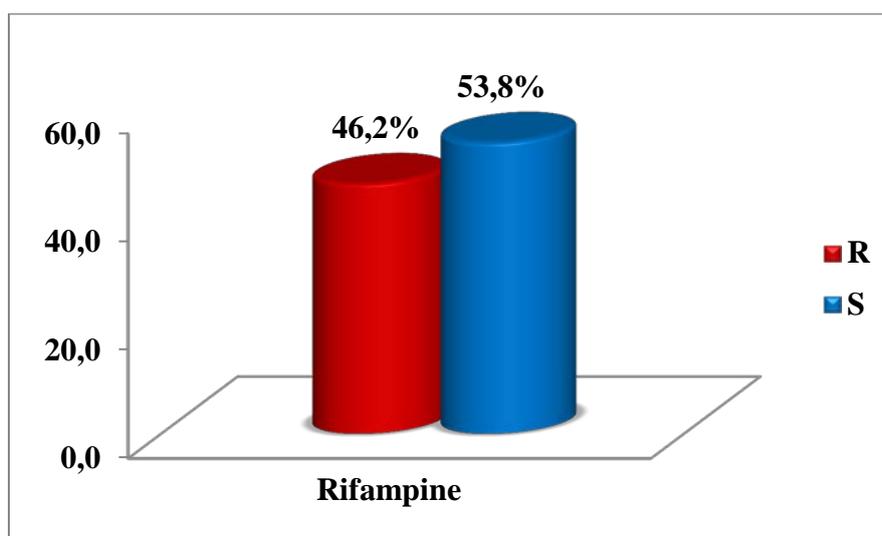


Figure n° 12: Antibiogramme de la rifampine.

Un pourcentage de 46,2 % de SARM étaient résistants à la rifampine, un taux élevé par rapport à celui enregistré par Benouda au Maroc et Ansari au Nepal avec 16% et 37,5% respectivement (Benouda et El hamzoui, 2009; Ansari et al., 2014), inférieur à celui rapporté par Rahimi et ses collègues en Iran (68%) (Rahimi et al., 2013). Cependant, les résultats de Saravanan en Inde du sud et d'El shabrawy en Egypt, ont marqué une sensibilité de 100% à rifampicine (Saravanan et al., 2013 ; El shabrawy et al., 2016).

Des mutations du gène *rpoB* qui code la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase-ADN peuvent être à l'origine de cette résistance (Daurel et Leclerq, 2008, Winston et Chambers, 2009).

La répartition des 52 souches résistantes à la rifampine, donne 20 souches (35,9%) d'origine infectieuse, 12 souches (23,1%) du portage nasal humain, et 4 souches d'origine animale soit 7,7%.

## II.9. Famille des Sulfamides et triméthoprimine: le triméthoprimine sulfaméthoxazole

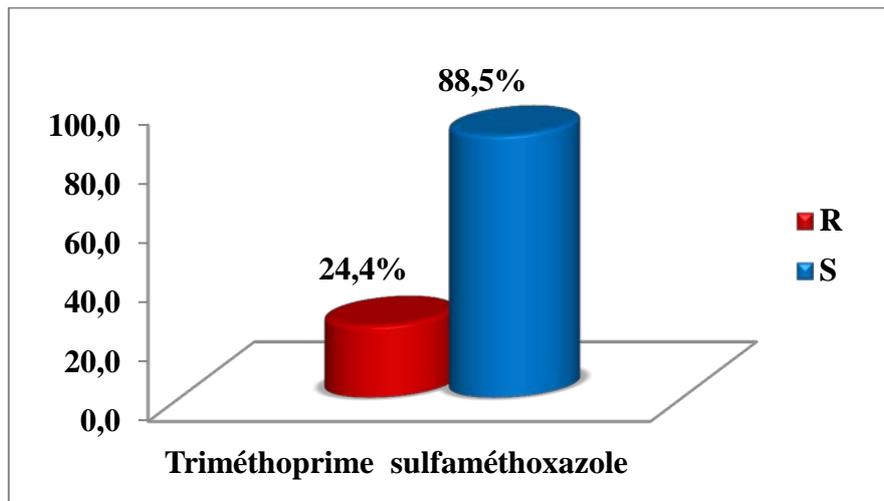
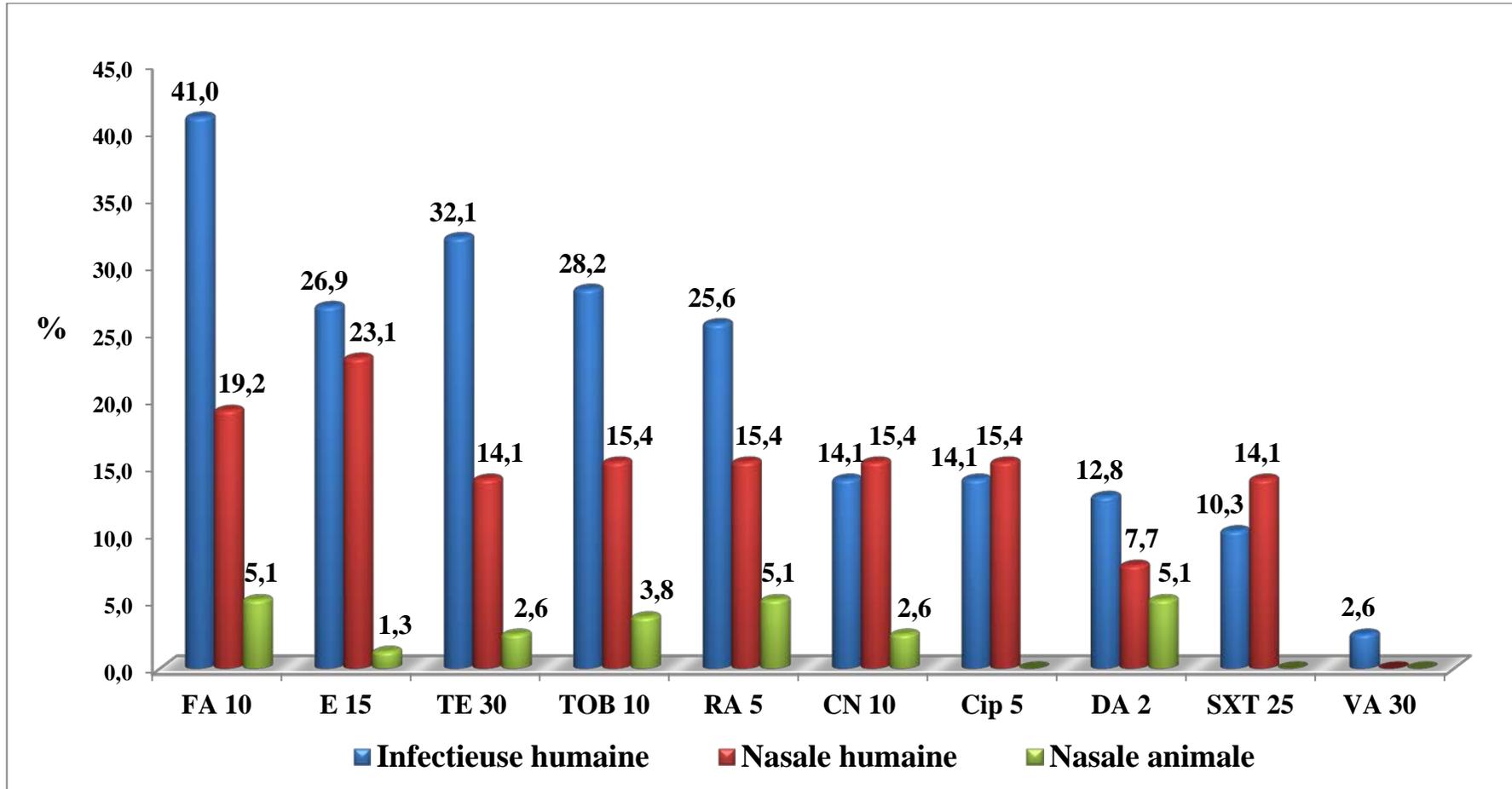


Figure n° 13: Antibiogramme du triméthoprimine sulfaméthoxazole

Le SARM a enregistré un faible taux de résistance envers cet antibiotique avec une valeur de 24,4 % (19 souches) en comparaison à celui signalé en Ouganda et en Irak avec 88,2% et 50% respectivement (Ojulong et al.,2009 ; Al-Mayahie et al., 2015); cependant, en Egypte, tous les isolats étaient sensibles au triméthoprimine et sulfaméthoxazole (El shabrawy et al., 2016).

Les résistances acquises à cette famille d'antibiotique sont aussi bien de nature chromosomique que plasmidique ,elle se font par une diminution de perméabilité , une hyperproduction de DHPS ou de DHFR, ou par production d'une DHPS mutée résistante (Winston et Chambers, 2009).

Selon l'origine des souches étudiées, ce taux de résistance était à 15,4% (11 souches) infectieux et les 14,1% (8 souches) restantes étaient issues du portage nasal sur des patients.



FA10 : Acide fusidique  
 E15 : Erythromycine  
 TE30 : Tétracycline

TOB10 : Tobramycine  
 RA5 : Rifampine  
 CN10 : Gentamycine

CIP5 : Ciprofloxacine  
 VA 30 : Vancomycine  
 DA2 : Clindamycine

SXT 25 : Triméthoprim et Sulfaméthoxasole

Figure n° 14 : Répartition de la résistance des SARM selon l'origine des souches

Le SARM a un potentiel de pathogénicité très important et est responsable aussi bien d'infections nosocomiales hospitalières ainsi que communautaires (Djoudi et al., 2014).

Pour la répartition détaillée de la résistance aux antibiotiques selon l'origine des souches, le type infectieux a marqué le taux le plus élevé par rapport aux autres types, en ce qui concerne l'acide fusidique, la rifampine, l'érythromycine, la clindamycine, et la tétracycline, contrairement à la gentamycine, la ciprofloxacine, et le triméthoprim et sulfaméthoxazole, où le taux des SARM du portage nasal humain a devancé le classement.

Les SARM issues des prélèvements de portage nasal sur les animaux, avaient le plus faible taux pour tous les antibiotiques testés. Le triméthoprim et sulfaméthoxazole et la ciprofloxacine étaient complètement actifs sur ce type de SARM.

Ces résultats sont cohérents avec la littérature, le SARM hospitalier est plus dominant que le SARM communautaire et le SARM animal, et possède une multi résistance vu son contact permanent aux différents antibiotiques (pression de sélection exercé dans les hôpitaux).

Les infections à SARM chez les animaux de compagnie est faible mais sont de plus en plus fréquentes, et presque toujours, les souches responsables de l'infection de ces animaux sont les mêmes que celles fréquemment rencontrées dans les hôpitaux de la même région géographique. Les êtres humains sont donc susceptibles de propager des infections à SARM aux animaux de compagnie et ceux-ci peuvent être un réservoir de la maladie pour l'homme (Andreoletti et al., 2009).

***CONCLUSION***

## **Conclusion**

Au cours de cette étude, 78 souches de SARM de différentes origines ont été isolées et ré-identifiées. Ces dernières ont subi des antibiogrammes de différentes familles d'antibiotiques.

Les résultats obtenus montrent que le taux de résistance le plus élevé correspond à celui de l'acide fusidique suivi par l'érythromycine, la tétracycline, la tobramycine et la rifampine avec des taux de résistance rapprochés, par contre la ciprofloxacine et la clindamycine avec des pourcentages de résistance moyens et enfin vient le triméthoprime et la sulfaméthoxazole avec des taux de résistances faibles ; pour la vancomycine, deux souches de SARM ont montré une résistance avec une CMI > 2 µg.

Cette multirésistance des SARM aux antibiotiques pose un vrai problème thérapeutique, soit par le taux de mortalité causé par les septicémies de ce dernier ou les coûts des soins qui deviennent de plus en plus onéreux. Pour pallier à cela, des mesures doivent être prises afin de remédier à cette catastrophe qui continue à faire des dégâts colossaux, par exemple :

- Apprendre à avoir une bonne hygiène de vie (bien se laver les mains, bien laver les aliments, éviter le contact avec les personnes malades, etc.)
- Veiller à surveiller l'état de santé des animaux, que ce soit ceux de compagnie ou d'élevage, et avoir une bonne conduite lors des maladies : mise en quarantaine, contacter le vétérinaire, bien suivre le traitement prescrit, désinfection des lieux, etc.
- Limiter la prescription des antibiotiques uniquement pour les cas nécessitant et l'interdiction de l'automédication.
- Pratiquer des antibiogrammes avant la prescription des traitements et faire des CMI.
- Encourager les recherches sur de nouvelles molécules antibiotiques.
- Bien étudier les mécanismes de résistance des SARM (des tests moléculaires) et essayer de trouver des moyens de les détourner.

*RÉFÉRENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

# *Références bibliographiques*

## *A*

- **Al-Mayahie, S.M.G., Al-Hamashee, H.T.R., Hameed, H.M.** Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Outpatients with Chronic Rhinosinusitis in Al-Kut/Wasit Province/Iraq. *J Bacteriol Parasitol.* (2015); 6:230.
- **Ansari, S., Rajendra-Gautam, R., Shrestha, S., Rahman-Ansari, S., Nanda Subedi, Sh., et Chhetri, M.R.** Risk factors assessment for nasal colonization of *Staphylococcus aureus* and its methicillin resistant strains among pre-clinical medical students of Nepal. *BMC Res Notes.* (2016); 9: 214.
- **Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H.** (1992). *Bactériologie Clinique.* 2<sup>nd</sup> Edition, Ellipses, Paris.

## *B*

- **Benouda, A. et Elhamzaoui, S.** *Staphylococcus aureus*: épidémiologie et prévalence des souches résistantes à la Méthicilline (SARM) au Maroc. *Rev Tun Infectiol.* (2009) ; 3(1): 15-20.
- **Berger-Bächi, B., Tschierske, M.** Role of Fem factors in methicillin resistance. *Drug Resisance Updates.* (1998); 1:325–335.

## *C*

- **Cavallo, J.D., De-Mouy, D., Fabre, R., Garrabe, E., Armengaud, M.** *Pseudomona aeruginosa* en pratique de ville : étude AFORCOPIBIO 1995-1996. *Méd mal infect.* (1998) ; 28: 258-259.
- **Cavallo, J.D.R., Fabre, F., Jehl, C., Rapp, E., Garrabé.** Bêtalactamines Beta-lactam antibiotics. *EMC-Maladies Infectieuses.* (2004) ; 1 : 129-202

- **Chambers, H.F.** Methicillin-resistance in staphylococci : molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbio Rev.* (1997); 10, p781-791.
- **Chambers, H.F. et De-Leo, F.R.** Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. *Nat. Rev. Microbiol.*(2009); 7: 629-41.
- **Chan, E.W., Gray, A.I., Igoli, J.O., Lee, S.M., Goh, J.K.** Galloylated flavonol rhamnosides from the leaves of *Calliandra tergemina* with antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Phytochemistry.* (2014); 54, 107:148.
- **Chang, V.S., Dhaliwal, D.K., Raju, L., Kowalski, R.P.** Antibiotic Resistance in the Treatment of *Staphylococcus aureus* Keratitis: a 20-Year Review. *Cornea.* (2015); 34(6): 698-703.
- **Corne, P.** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Ecole doctorale : Science Biologique et Chimique de la Santé. (2004) ; P. 4



- **Darley, E.S.R., et Mac-Gowan, A.P.** Antibiotic treatment of gram positive bone and joint infections. *J Antimicrob Chemother.* (2004); 53 : 928-35.
- **Daurel, C. et Leclercq, R.** L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Rev. Fr.Lab.* (2008) ; 407 : 81-90.
- **Daurel, C., Lectercq, R.** (2008). Identification à pneumocoque et à *Staphylococcus aureus*. Issue :407, p : 81-90.
- **David, M.Z., et Daum, R.S.** Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin. Microb. Rev.* (2010); 23: 616-687.
- **De-Marco, C.E., Cushing, L.A., Frempong-Manso, E., Seo, S.M., Jaravaza, T.A., Kaatz, G.W.** Efflux-related resistance to norfloxacin, dyes, and biocides in bloodstream isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* (2007); 51, p3235-3239.
- **Deurenberg, R.H., Stobberingh, E.E.** The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol.* (2008); 8(6):747-63.
- **Djoudi, F., Bonura, C., Benallaoua, S., Touati, A., Touati, D., Aleo, A., Cala, C., Fasciana, T., Mammìna, C.** Panton-Valentine leukocidin positive sequence type 80 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying a staphylococcal cassette

chromosome mec type IVc is dominant in neonates and children in an Algiers hospital. *New Microbiol.* (2013); 36(1):49-55.

- **Djoudi, F., Benallaoua, S., Touati, A., Bonura, C., Mammina, C.** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from mothers and children hospitalized in an Algiers hospital: predominance of the European virulent clone. *Med Mal Infect.* (2014); 44(5):232-3.
- **Djoudi, F., Benallaoua, S., Aleo, A., Touati, A., Challal, M., Bonura, C. et Mammina, C.** Descriptive Epidemiology of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Among Patients Admitted to Two Healthcare Facilities in Algeria. *Microbial Drug Resistance.* (2015); 21(2): 218-223.
- **Djoudi, F., Touati, A., Bonnura, C., Aléo, A., Benallaoua, S., Mammina, C.** Staphylococcal cassette chromosome mec typing and mecA sequencing in methicillin-resistant staphylococci from Algeria: a highly diversified element with new mutations in mecA. *J Med Microbiol.* (2016); 65(11):1267-1273.
- **Drugeon, H.**  $\beta$ -lactamines et staphylocoques. In : Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. *Antibiogramme.* ESKA, Paris.(2006); p117-123.
- **Dumitrescu, O., et al.** Beta-lactams interfering with PBP1 induce Panton-Valentine leukocidin expression by triggering sarA and rot global regulators of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*(2011); 55:3261–3271.
- **Dorosz, Ph., Vital Durand, D., Le Jeune, C.** *Guide pratique des médicaments.* 30<sup>ème</sup> éd. Maloine, Paris, 2011; p1892.

## *E*

- **El shabrawy, R.M., Gohar, M.K., Ammar, M.G.** Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Antibiotic Profile and Genotypes in Critically Ill Neurosurgery and Medical Oncology Patients. *Ec Microbiologie.* (2016).
- **EFSA,** Assessment of the Public Health significance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods. The European Food Safety Authority, (2009); 999: p. 1-73.
- **Etienne, J., Gerbaud, G., Fleurette, J., Courvalin, P.** Characterization of staphylococcal plasmids hybridizing with the fosfomycin resistance gene fosB. *FEMS Microbiol Lett.* (1991); 68, p119-122.
- **Endimiani, A., Blackford, M., Dasenbrook, E.C., Reed, M.D., Bajaksouszian, S., Hujer, A.M., Rudin, S.D., Hujer, K.M., Perreten, V., Rice, L.B., Jacobs, M.R., Konstan, M.W. et Bonomo, R.A.** Emergence of Linezolid-Resistant *Staphylococcus*

*aureus* after Prolonged Treatment of Cystic Fibrosis Patients in Cleveland, Ohio. *Antimicrob. Agents Ch.* (2011); 55:1684-1693.

- **Engemann, J.J., Carmeli, Y., Cosgrove, S.E., Fowler, V.G., Bronstein, M.Z., Trivette, S.L., Briggs, J.P., Sexton, D.J., Kaye, K.S.** Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Clin Infect Dis.* (2003);1;36(5):592-8.
- **EUCAST.** European committee on antimicrobial susceptibility testing. (2017). Société française de microbiologie.

## *F*

- **Fishovitz, J., Hermoso, J.A., Chang, M., Mobashery, S.** Penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *IUBMB Life.* (2014); 66(8): 572-7.

## *G*

- **Garcia-Alvarez, L., Holden, M.T., Lindsay, H., Webb, CR., Brown, D.F., Currab, M.D.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* (2012); 11, p595-603.
- **Garrity, G.M., Johnson, K.L., Bell J. et Searles, D.B.** (2007). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Second edition. New York.
- **Golemi-Kotra, D., Cha, J.Y., Meroueh, S.O., Vakulenko S.B., et Mobashery, S.** Resistance to -Lactam Antibiotics and Its Mediation by the Sensor, Domain of the Transmembrane BlaR Signaling Pathway in *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.* (2003); 278:18419-18425.
- **Gordon, R.J. et Lowy, F.D.** Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis.* (2008); 46 Suppl 5: p. S350-9.
- **Gregston, HJ., O'Neil, AJ., Ingham, E., Fishwick, C., Chopra, I.** Analysis of mupirocin resistance and fitness in *Staphylococcus aureus* by molecular genetic and structural modeling techniques. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48, p 4366-4376.

## H

- **Hasan, M. R., Chakrabarti, R.** (2009). Floating aquatic macrophytes: water hyacinths. In: Hasan, M. R.; Chakrabarty, R. (Eds). Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small scale aquaculture - a review. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 531. Rome, FAO. 123p.
- **Hiramatsu, K.** Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *Lancet Infect. Dis.*(2001); 1: 147-155
- **Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., Tenover, F.C.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother.* (1997);40(1):135-6.
- **Hooper, D.C.** Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci. *Lancet Infect. Dis.* (2002); 2: 530-38.
- **Hurdle, J.G., O'Neil, A.J., Ingham, E., Fishwick C. et Chopra, I.** Analysis of mupirocin resistance and fitness in *Staphylococcus aureus* by molecular genetic and structural modeling techniques. *Antimicrob. Agents Ch.* (2004); 48: 4366-4376.
- **Hurdle, J.G., O'Neil, A.J., Mody, L., Chopra, I. et Bradley, S.F.** *In vivo* transfer of high-level mupirocin resistance from *Staphylococcus epidermidis* to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with failure of mupirocin prophylaxis. *J Antimicrob Chemother.* (2005); 56: 1166-1168.

## I

- Infectiologie.com. ERV: Quels problèmes thérapeutiques ? [En ligne], <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/JNI/JNI09/FMC/BRU-ERG-JNI09.pdf> consulté en Mai 2017.

## K

- **Kaddora, I.** "modèles antibiotiques de sensibilité de *Staphylococcus aureus* résistant hôpital-hospital-acquired et communauté-community-acquired de méthicilline". Thèses, dissertations et pierres angulaires (2010) ; P100.
- **Kateete, D.P., Kimani, C.N., Katabazi, F.A., Okeng, A., Okee, M.S., Nanteza, A., Joloba, M.L., Najjukal, F.C.** Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and

Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrobials.*(2010); 9: 23-30.

- **Kenneth, J.R., Ray, G.** Sherris Medical Microbiology. An infection to Lactam Resistance in *Staphylococcus aureus*. (2004); 185 Suppl 4 , 5465-54.
- **Klevens, R.M., Edwards, J.R., Tenover, F.C., Mc-Donald, L.C., Horan, T., Gaynes, R.** Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992-2003. *Clin Infect Dis.* (2006); 1;42(3):389-91.

*L*

- **Laurent, F., Chardon, H., Haenni, M., Bes, M., Reverdy, M.E., Madec, J.Y., Lagier, E., Vandenesch, F., Tristan, A.** MRSA harboring variant gene *mecC*, France. *Emerg Infect Dis.* (2012); 18, p1465-1468.
- **Leclercq, R., Oberlé, K., Galopin, S., Cattoir, V., Budzinski, H., et Petit, F.** Changes in Enterococcal Populations and Related Antibiotic Resistance along a Medical Center-Wastewater Treatment Plant-River Continuum. *Appl Environ Microbiol.* (2013); 79(7): 2428–2434.
- **Le Loir ,Y ; Gantier ,M.** (2009). *Staphylococcus aureus* pages .Edition, Tec & Doc ,Paris, pp 129.
- **Li, W., Gemma, C.A., Thakor , N.S., Allas, U., Lu, Ch-ch., Chan, K-Y Tenson, T., Schulten, K., Wilson, K.S., Hauryliuk, V. and Frank, J.** Mechanism of Tetracycline Resistance by Ribosomal Protection Protein Tet(O). HHS Public Access Author manuscript Nat Commun. Author manuscript; available in PMC (2013 August 12).
- **Lowy, F.D.** *Staphylococcus aureus* infections. *NEJM.* (1998); 339: 520-539.
- **Lowy, F.D.** Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus* *J. Clin. Invest.* (2003); 111:1265-1273.
- **Lyon, B.R. et Skurray, R.** Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus*: Genetic Basis. *Microbiol. Rev.*(1987); 51 : 88-134.

*M*

- **Monecke, S., et autres.** Distribution of SCCmec-associated phenol-soluble modulins in staphylococci. *Mol Cell Probes*, (2012).

*N*

- **Nour M., Mastouri M., Ben Nedjma M.** (2005). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: emergence and molecular basis. *Pathologie Biologie*, vol. 53, n° 6, p.334-340

*O*

- **O'Neill, A.J., McLaws, F., Kahlmeter, G., Henriksen, A.S., Chopra, I.** Genetic basis of resistance to fusidic acid in staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* (2007); 51, p1737- 1740.
- **OMS** [en ligne], [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37227/1/WHO\\_TRS\\_210\\_fre.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37227/1/WHO_TRS_210_fre.pdf) consulté en Avril 2017.
- **Ojulong, J., Mwambu, T.P., Joloba, M., Bwanga, F., Kaddu-Mulindwa, D.H.** Relative prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and its susceptibility pattern in Mulago Hospital, Kampala, Uganda. *Tanzan J Health Res.* (2009);11(3):149-53.

*P*

- **Périchon, B. et Courvalin, P.** VanA-Type Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* (2009); 53(11): 4580–4587.
- **Pinho, M.N., Minhalma, M., Rosa, M.J., Taborda, F.** Integration of flotation/ultrafiltration for treatment of bleached pulp effluent. *Pulp Pap Can.* (2000); 104:50–4.
- **Pillar, C.M., Draghi, D.C., Sheehan, D.J. et Sahm, D.F.** Prevalence of multi drug-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States: findings of the

stratified analysis of the 2004 to 2005 LEADER Surveillance Programs. *Diagn Microbiol Infect Dis.* (2008); **60**: 221-224.

**R**

- **Rahimi, F., Bouzari, M., Katouli, M., et Reza-Pourshafie, M.** Antibiotic Resistance Pattern of Methicillin Resistant and Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* Isolates in Tehran, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology.* (2013); 6(2): 144-149.
- **Rashed, N., Rashedul, H., Mrityunjoy, A.** Original Article Prevalence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) in methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) strains isolated from burn wound infections. [www.tzuchimedjnl.com](http://www.tzuchimedjnl.com). (2016).
- **Randrianirina, F. et autres** "activités in vitro de 18 agents antimicrobiens contre des isolats de *Staphylococcus aureus* de l'Institut Pasteur du Madagascar". *Annales de la microbiologie clinique et des antimicrobiens* 23 (2007) : 6-15.
- **Rebiahi, S.A.** (2011).Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leurs antibiorésistance au niveau du centre hospitalo universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat : Université de Tlemcen, Option Microbiologie.168P.
- **Rose, W.E., Rybak, M.J., Kaatz, G.W.** Evaluation of daptomycin treatment of *Staphylococcus aureus* bacterial endocarditis: an *in vitro* and *in vivo* simulation using historical and current dosing strategies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* (2008); 60, p334-340.
- **Rose, W.E., Leonard, S.N., Sakoulas, G., et al.** Daptomycin activity against *Staphylococcus aureus* following vancomycin exposure in an *in vitro* pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrob Agents Chemother.* (2008); 52:831-6.
- **Ruhmann, C.H., et autres.** Pigs as an infection source for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections in humans. *Ugeskrift for Laeger*, (2008);170 (43): p. 3436.

**S**

- **Saravanan, M., et autres.** "modèle antibiotique de susceptibilité de *Staphylococcus aureus* résistant de méthicilline de la septicémie a suspecté des enfants dans l'hôpital tertiaire dans Hosur, Inde du sud". *Journal américain de la recherche microbiologique* 1.2. (2013) ; 21-24.

- **Schaumburg, F., Peters, G., Alabi, A., Becker, K., Idelevich, E.A.** Missense mutations of PBP2a are associated with reduced susceptibility to ceftaroline and ceftobiprole in African MRSA. *J Antimicrob Chemother.* (2016); 71(1): 4-41.
- **Chitnis, Sh., Katara, G., Hemvani, N., Pareek, S. et Chitnis, D.S.** *In vitro* activity of daptomycin & linezolid against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* & vancomycin resistant enterococci isolated from hospitalized cases in Central India. (2013).
- **Sevin, E., Larmaraud-Sevin, O., et Legrand, P.** Approche moléculaire de la résistance à la méthicilline de *Staphylococcus aureus*. *Revue Française des Laboratoires*, (1999) ; 315: p. 25-31.
- **Sievert, D.M., Boulton, M.L., Stolman, G., Johnson, D., Stobierski, M.G., Downes, F.P., Somsel, P.A., Rudrik, J.T., Brown, W., Hafeez W., Lundstrom, T., Flanagan, E., Johnson, R., Mitchell, J., et Chang, S.** *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* (2002); 51:565-567.
- **Soltani, B., Taghavi-Ardakani, A., Moravveji, A., Erami, M., Haji Rezaei, M., Moniri, R., Namazi, M.** Risk Factors for Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization of Healthy Children. *Jundishapur J Microbiol.* (2014);7(9).
- **Song, Z., Gu, F.F., Guo, X.K., Ni, Y.X., He, P. et Han, L.Z.** Antimicrobial Resistance and Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Causing Childhood Pneumonia in Shanghai. *Front Microbiol.* (2017); 8: 455.

## *T*

- **Taha, A.B.** Relationship and susceptibility profile of *Staphylococcus aureus* infection diabetic foot ulcers with *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Foot (Edinb).* (2013); 23(1):11-6.
- **Tankovic, J., Freney, J., Renaud, F., Hansen, W., Bollet, C.** (2000). Mécanisme d'action des antibiotiques ; *Précis de bactériologie clinique*. Edition ESKA. 583-595.

## *V*

- **Valvatne, H., et autres.** A rapid, 2-well, multiplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection of SCCmec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* (2009); 65(4): p.384-91.

- **Vanderhaeghen, W., et autres.** Species and staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) diversity among methicillin-resistant non-*Staphylococcus aureus* staphylococci isolated from pigs. *Vet Microbiol*, (2012).
- **Vincenot, F., Saleha, M., et Prévost, G.** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Rev. Fr. Labor.* (2008); 407: 61-69.

W

- **Wen, H.S., Li, X., Cao, Y.Z. et al. (2013).** Clinical studies on the treatment of cancer cachexia with megestrol acetate plus thalidomide. *Chemotherapy*. Volume 58, Issue 6, April 2013, Pages 461-467
- **Winston, L.G., et Chambers, H.F. (2009).** Antimicrobial Resistance in Staphylococci: Mechanisms of Resistance and Clinical Implications. Mayers D.L. *Antimicrobial Drug Resistance*, volume 2, Clinical and Epidemiological Aspects. Humana Press, New York. p: 735-748.

Y

- **Yıldız, O., Yılmaz, A., Çoban, Gamze Şener, A., Ayten-Coşkuner, S., Bayramoğlu, G., Güdücüoğlu, H., et autres.** Antimicrobial susceptibility and resistance mechanisms of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from 12 Hospitals in Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* (2014); 13: 44.

Z

- **Zhang, H.Z., Hackbarth, C.J., Chansky, K.M., et Chambers, H.F.** A proteolytic transmembrane signaling pathway and resistance to betalactams in *staphylococci*. *Science*. (2001); 291:1962-1965.

***ANNEXES***

# *ANNEXE I*

## **Matériel, réactifs utilisés et milieux de culture**

### **I. Matériels, solutions et Réactifs utilisés**

#### **A /Matériel**

- ❖ Vortex
- ❖ Etuve
- ❖ Bain Marie
- ❖ Autoclave
- ❖ Four Pasteur
- ❖ Hotte microbiologique

#### **B/solutions**

- ❖ Sérum physiologique à 0.9% (NaCl)
- ❖ Acide chlorhydrique (HCl 1N)
- ❖ Eau distillée
- ❖ Plasma humain

#### **C/Réactifs de la coloration de Gram (SIGMA-ALDRICH)**

- ❖ Violet de gentiane
- ❖ Lugol
- ❖ Ethanol
- ❖ Safranine

## II. Milieux de culture et composition

### ❖ Bouillon Trypticase Soja (TSB)

Peptone de caséine.....	17g
Peptone de Soja.....	3g
Glucose.....	2.5g
Phosphate dipotassique.....	2.5g

pH= 7.3

25g du milieu deshydraté par 1L d'eau distillée

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

### ❖ Gélose Chapman

Chlorure de sodium .....	75g
D-mannitol.....	10g
Extrait pancréatique de la caséine.....	5g
Digestion peptique du tissu animal.....	5g
Extrait de bouf .....	1g
Rouge de phénol.....	0.025g
Agar .....	15g

pH= 7.6

111g du milieu deshydraté par litre d'eau distillée.

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

### ❖ Gélose DNase

Peptone de caséine.....	15g
Peptone de soja.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Acide Désoxyribonucléique.....	2g
Agar bactériologique.....	15g

pH=7.3

42g du milieu deshydraté par litre d'eau distillée ;

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

❖ **Bouillon au cœur-cerveau (BHIB)**

Infusion de cœur cerveau.....37g

pH= 7.4 ± 0.2

37g par litre d'eau distillée.

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

❖ **Gélose Mueller- Hinton**

Amidon .....1.5g

Hydrolysate de caséine.....17.5 g

Solides à la perfusion de bœuf.....2g

Agar.....17g

pH=7.3

38g du milieu deshydraté par litre d'eau distillée ;

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

## *ANNEXE II*

### **Coloration de GRAM**

#### **I. Réalisation et frottis :**

Cela consiste en un étalement de la suspension bactérienne, suivi d'un séchage, d'une fixation, et par la suite d'une coloration :

- Prélever une goutte de la suspension bactérienne et la déposer au centre de la lame ;
- L'étaler avec l'anse sur la lame, de façon à obtenir un étalement mince de 1 à 2 cm ;
- Sécher et fixer en portant la lame au-dessus de la flamme du bec benzène (la lame est tenue avec la pince en bois)

#### **II. Mode opératoire :**

- Recouvrir le frottis de quelques gouttes de violet de Gentiane (VG) ; Laisser en contact pendant une minute puis jeter l'excès de VG ;
- Recouvrir de lugol, laisser en contact quelques secondes, jeter l'excès de lugol, répéter une ou deux fois cette opération jusqu'à ce que le teint doré n'apparaisse plus ;
- Décolorer à l'éthanol absolu, goutte à goutte, en inclinant la lame ;
- Rincer à l'eau rapidement (avec un jet de pissette) ;
- Recolorer avec la Safranine diluée, laisser en contact une minute ;
- Rincer à l'eau ;
- Sécher délicatement entre deux feuilles de papier absorbant ;
- Mettre une goutte d'huile à émersion et observer au microscope optique (x100) : la forme, la couleur et le Gram :
  - Les Gram+ apparaissent en violet ;
  - les Gram- apparaissent en rouge rose.

## *ANNEXE III*

### Tableau de lecture de la galerie API 20 Staph

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 10 min	
				incoloro-rose pâle	rouge
PAL	β-naphtylphosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	ZYM A + ZYM B / 10 min	
				jaune	violet
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (VogesProskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incoloro-rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32 1,28	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-aD-glucopyranoside		acidification (Méthyl-aD-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatifs (0) et positifs (GLU).

Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

**Tableau d'identification de la galerie API 20 Staph**

<b>API STAPH V4.1</b>	<b>0</b>	<b>GLU</b>	<b>FRU</b>	<b>MNE</b>	<b>MAL</b>	<b>LAC</b>	<b>TRE</b>	<b>MAN</b>	<b>XLT</b>	<b>MEL</b>	<b>NIT</b>	<b>PAL</b>	<b>VP</b>	<b>RAF</b>	<b>XYL</b>	<b>SAC</b>	<b>MDG</b>	<b>NAG</b>	<b>ADH</b>	<b>URE</b>	<b>LSTR</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	100	100	95	96	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0
<i>Staphylococcus auricularis</i>	0	100	99	36	72	10	90	9	0	0	81	0	1	0	0	40	0	15	90	1	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	100	99	80	43	22	2	36	0	0	86	23	90	0	0	50	0	1	85	35	0
<i>Staphylococcus caprae</i>	0	100	99	70	10	75	74	10	0	0	99	95	99	0	0	0	0	1	99	60	0
<i>Staphylococcus carnosus</i>	0	100	100	99	0	99	99	99	0	0	99	83	83	0	0	0	0	100	100	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	0	100	100	99	79	100	100	13	0	0	96	96	1	0	1	100	0	31	89	95	0
<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	0	100	99	66	99	2	97	88	33	0	21	66	94	0	0	2	0	9	2	1	0
<i>Staph.cohnii ssp urealyticum</i>	0	100	100	99	98	98	100	94	64	0	1	94	87	0	0	0	0	98	0	99	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	100	99	70	99	81	2	0	0	1	80	84	68	1	0	97	4	18	73	88	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	99	75	5	99	80	91	60	0	1	78	3	57	0	0	98	13	83	85	1	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	98	94	41	97	50	86	28	0	1	82	27	70	1	0	97	4	50	43	84	0
<i>Staphylococcus hyicus</i>	0	100	99	99	0	87	99	0	0	0	90	90	15	0	0	99	2	93	100	68	0
<i>Staphylococcus lentus</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	7	99	92	21	57	100	100	100	28	100	0	1	0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	0	100	89	88	99	66	99	0	0	0	99	16	99	0	0	100	0	90	1	50	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0	100	99	2	97	90	99	88	22	0	35	14	79	1	0	96	1	70	30	65	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0	100	80	100	0	1	71	0	0	0	99	97	99	0	0	0	0	94	99	0	0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	0	99	99	99	99	70	93	98	0	0	83	67	30	0	16	95	7	68	0	0	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	0	100	100	57	11	95	92	73	4	0	83	27	38	0	4	97	2	90	97	84	0
<i>Staphylococcus warneri</i>	0	99	99	50	98	19	96	70	0	0	23	16	90	0	0	99	0	6	77	97	0
<i>Staphylococcus xyloso</i>	0	100	100	92	81	85	95	90	30	9	82	75	67	11	82	87	10	80	5	90	0
<i>Kocuria kristinae</i>	0	99	96	99	90	9	84	3	0	0	6	3	93	0	0	90	12	0	0	0	97
<i>Kocuria varians/rosea</i>	0	91	92	8	1	1	8	1	0	0	75	4	8	4	8	4	0	1	1	29	95
<i>Micrococcus spp</i>	0	2	4	0	1	0	1	0	0	0	8	15	1	0	0	1	0	1	11	11	91

# ANNEXE IV

## Profil de résistance aux antibiotiques des 78 souches de SARM

**FA10** : Acide fusidique

**TE30** : Tétracycline

**RA5** : Rifampine

**CIP5** : Ciprofloxacine

**DA2** : Clindamycine

**E15** : Erythromycine

**TOB10** : Tobramycine

**CN10** : Gentamycine

**VA 30** : Vancomycine

**SXT 25** : Triméthoprim et Sulfaméthoxasole

Type	Souche	fox 30	FA 10	E 15	CIP 5	VA 30	DA 2	SXT 25	TE 30	CN 10	TOB 10	RA 5	
Prélèvement d'origine Infectieuse humain	Collection antérieure du laboratoire d'écologie microbienne	TA137	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	
		TA391	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S
		TA1445	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S
		TA4852	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R
		TA6458	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R
		TA810	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
		TA936	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	S
		TA469	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	R
		TA617	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
		TA363	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		TA155	R	R	S	S	R	S	S	R	S	R	R
		TA637	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R
		TA358	R	R	R	S	R	S	S	R	S	R	R
		TA391	R	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S
		TA403	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S	R
		TA664	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
		TA893	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R
		TA361	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	R
		TA443	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R
		TA769	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
TA811	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S		
TA663	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R		
TA626	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S		
TA774	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R		
TA998	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R		
TACN24	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S		
Hôpital El kattar	MA8528	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	
	MA36411	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	
	MA8493	R	R	S	S	S	R	S	R	S	R	S	
	MA8439	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	
	MA8432	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	
	MA8492	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	
	MA8473	R	R	R	S	S	R	S	R	S	R	R	
	MA8435	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	
MA8460	R	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S		

		<b>MA8410</b>	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S
		<b>MA8438</b>	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	S
		<b>MA9420</b>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		<b>MA8454</b>	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R
		<b>MA8511</b>	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S
		<b>MA41710</b>	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
		<b>MA8577</b>	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R
		<b>MA8573</b>	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	S
		<b>MA42002</b>	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S
		<b>MA8567</b>	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R
<b>MA8536</b>	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S		
<b>Prélèvement d'origine nasale humaine</b>	<b>Hôpital Mustapha Pacha</b>	<b>HMB13</b>	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R
		<b>HMB14</b>	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S
		<b>HMB19</b>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
		<b>HMB28</b>	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
		<b>HMB30</b>	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S
		<b>HMB36</b>	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R
	<b>Hôpital Nadir Mhamed</b>	<b>HMN40</b>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
		<b>HMN43</b>	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S
		<b>HNM03</b>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
		<b>HNH06</b>	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R
		<b>HNM07</b>	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S
		<b>HNM09</b>	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
		<b>HNM10</b>	R	S	R	S	R	S	S	R	S	S	R
		<b>HNM14</b>	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S
		<b>HNM16</b>	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R
	<b>HNM25</b>	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	
	<b>Hôpital Sidi Aich</b>	<b>SA03S</b>	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
		<b>SA29S</b>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
<b>SA32S</b>		R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	
<b>SA47S</b>		R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	
<b>SA55S</b>		R	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	
<b>SA62S</b>		R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	
<b>SA63S</b>		R	S	R	R	S	S	R	S	R	S	S	
<b>SA65S</b>		R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S	
<b>SA69S</b>		R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	
<b>SA92S</b>	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	R		
<b>Nasal animal</b>	<b>cheval</b>	<b>CH87</b>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
		<b>CH17</b>	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S
	<b>vache</b>	<b>EPEC37</b>	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R
		<b>EPEC 49</b>	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S
		<b>EPEC50</b>	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R
		<b>EPEC54</b>	R	R	S	S	R	R	S	R	R	R	S

## Résumé

*Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) ne cause pas plus d'infection que les autres *Staphylocoques*, mais limite le choix du traitement (antibiotique), c'est dans ce contexte que rentre l'objectif de cette étude, qui consiste à tester la sensibilité des autres familles d'antibiotiques sur les 78 de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline collectionnées de différentes origines, humaines et animales, infectieuses et de portage nasal.

Le profil de résistance de ces souches a été étudié par la méthode de diffusion en gélose sur le milieu Mueller-Hinton selon les normes de l'EUCAST 2017.

Le caractère de multirésistance des souches de SARM a été confirmé, et ces souches ont montré des taux élevés de résistance à la rifampine (66,7%), à l'acide fusidique (65,4%), à l'érythromycine (51,3%), à la tétracycline (48,7%), à la tobramycine (47,4%), à la clindamycine (25,6%) et ciprofloxacine (29,5 %). Cependant elles ont exprimé de faible niveau de résistance aux triméthoprime sulfaméthoxasole avec 24,4%. Une résistance à la vancomycine a été notées pour deux souches soit un taux de 2,6%, avec une CMI > 2µg.

Le SARM hospitalier était plus dominant et plus résistant que le SARM communautaire et le SARM lié à l'animal.

**Mots clés:** *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline, multirésistance, familles d'antibiotiques, SARM hospitalier, SARM communautaire, SARM lié à l'animal.

---

## Abstract

Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) does not cause more infections than the other *Staphylococcus*, but it limits the choice of the treatment (antibiotic), it is in this context that the aims of this study returns, which consists in testing the sensitivity of other families of antibiotics on 78 isolates of MRSA collected various origins, human and animal, infectious and of nasal carriage.

The resistance profile of these strains was studied by disc diffusion method on Mueller Hinton agar according to the standards of the EUCAST 2017.

The multiresistance character of the SARM was confirmed, and these strains showed high rates of resistance to rifampin (66,7%), fusidic acid (65,4%), erythromycin (51,3%), tetracyclin (48,7%), tobramycin (47,4%), clindamycin (25,6%) and ciprofloxacin (29,5%) however, they expressed low resistance levels to Trimethoprim Sulfamethoxazol (24,4%). A number of two isolates were revealed resistant to vancomycin with a rate of 2,6 % and CMI > 2µg.

The HA-MRSA was more dominate and more resistant than the CA-MRSA and the LA-MRSA.

**Key words:** methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, families of antibiotics, HA-MRSA, CA-MRSA, LA-SARM.