



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

Référence /

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Fondamentale et Appliquée

Présenté et soutenu par :
BADLA Fatima Zahra

Le : mercredi 27 juin 2018

Etude de la résistance des bactéries aux antibiotiques : les staphylocoques

Jury :

Mme. HALIMI Chahrazed warda	MAA	Université de Biskra	Président
Dr. GHITI Hassina	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. BOUGUNOUNE Widad	MAB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2017 - 2018

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Bon Dieu tout puissant de m'avoir aidé à réaliser ce travail et qui nous a dirigé tout droit vers le bon chemin et nous a donné la volonté, la santé et la patience pour atteindre nos buts.

Je remercie Dr GHITI Hassina en tant que ma promotrice de thèse pour son soutien, sa disponibilité et sa confiance tout au long de ce travail de recherche

Je remercie Dr khilile pour son accueil à le laboratoire de l'hôpital Dr Saadan et ses conseils, et son aide.

Je tiens également à remercier les membres du jury pour l'évaluation de mon travail.

Enfin je tiens à remercier tous les enseignants et les personnes du département de la Biologie

Dédicace

Je dédie ce mémoire à plusieurs personnes qui me sont très chères que je n'oublierais jamais pour leurs soutiens et leurs encouragements

Tout d'abords, à mes très chères parents BACHIR & WARDA qui sont le secret de ma réussite.

A mes chères grand parents Mouhamed et Sghayr

A mes frères Ismail, Ahmed Ameer

A ma seure Amani

Qui ont toujours eu confiance en moi

A mon chère fiancé Abdassamie Badla qui m'a toujours soutenu dans le bon et mauvais moment

A mes amis Chahra, Maryam, Imen, sousou, Hadil

A mes neveux et nièces

A tout ma chère famille (oncle Med Sadek Badla)

A tout ceux et celles qui mon aider de près comme de loin

Liste des abréviations

- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- ARN** : Acide Ribonucléique
- ATB** : Antibiotique
- β-lactamine** : Béta-lactamine
- BLSE** : Béta-lactamine A Spectre Elargi ou Etendu
- c**: Concentration Critique inferieure
- C** : Concentration Critique supérieure
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- CMB** : Concentration Minimale Bactéricid
- Dr** : Docteur
- ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines
- GISA** : *Staphylococcus aureus* Résistante aux Glycopeptide
- LCR** : Liquide Céphalo-Rachidien
- MI (F/H)** : Médecine interne (Femme/Homme)
- PP (H/F)** : Pneumo-phtisiologie (Femme/Homme)
- R** : Résistance
- S** : Sensibilité
- SARM** : *S.aureus* résistantes à la méthicilline
- S.aureus** : *Staphylococcus aureus*
- SCN** : Staphylocoques a coagulasse Négative
- SCP** : Staphylocoques à coagulasse positive
- TIAC** : toxi-infections alimentaires collectives
- UFC** : Unité Format Colonie
- GN** : Gélose Nutritif
- MH** : Mueller Hinton

Liste des Figures

Numéro de figure	Titre	Page
Figure 1	Etapes des infection à staphylocoque	6
Figure 2	Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017	17
Figure 3	Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017 selon le sexe	18
Figure 4	Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017 selon les tranches d'âge	19
Figure 5	Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017 selon le service	20
Figure 6	Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017 selon l'infection	21
Figure personnelle 7	Aspect des colonies de SCP (<i>S.aureus</i>) sur gélose au sang cuit	22
Figure personnelle 8	Aspect des colonies de SCP (<i>S. aureus</i>) sur milieu Chapman	23
Figure personnelle 9	Coloration de gram des <i>staphylococcus</i>	
Figure 10	Test de coagulas	24

Liste des Tableaux

Numéro du Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Les micro-organismes producteurs des antibiotiques	8
Tableau 2	Les valeurs de la zone d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis les <i>staphylococcus aureus</i>	25
Tableau 3	Les valeurs de la zone d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis les <i>staphylococcus coagulase négative</i>	26

LISTE DES ABREVIATION

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES STAPHYLOCOQUES

1	LES STAPHYLOCOQUES	3
	1.1 Définition des staphylocoques	3
	1.2 Habitat	3
	1.3 Taxonomie des staphylocoques.....	3
	1.4 Caractères bactériologiques	4
	1.4.1. Morphologie microscopique.....	4
	1.4.2. Caractères culturels.....	4
	1.4.3. Caractères biochimique	4
	1.5 Les facteurs des virulences des staphylocoques.....	5
	1.6 Pouvoir pathogène	5
	1.6.1. Mode de transmission.....	5
	1.6.2. Les étapes des infections à staphylocoques.....	6

CHAPITRE II : GENERALITE SUR LES ANTIBIOTIQUES

2	Généralités sur les antibiotiques.....	7
	2.1 Définition des antibiotiques.....	7
	2.2 Classification des antibiotiques.....	7
	2.3 Familles d'antibiotiques.....	7
	2.4. Mode d'action des antibiotiques.....	8
	2.5 Micro-organismes producteurs des antibiotiques.....	8
3	Phénomène de résistance aux antibiotiques.....	9
	3.1 Définition de la résistance.....	9
	3.2 Support génétique de résistance.....	9
	3.3 Résistance naturelle.....	9
	3.4 Résistance acquise.....	9
	3.5 Mécanismes de résistance.....	9

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE

1	Etudes épidémiologiques statistique.....	11
1.1	Recueil des données	11
1.2	Enquête statistique.....	11
1.3	La répartition des souches <i>Staphylocoques</i> coagulase positive (<i>S.aureus</i>) et <i>Staphylocoques</i> coagulase négative du l'Année 2017	11
2	Isolement des souches <i>Staphylocoque à coagulas positive, et négative</i>	11
2.1	Méthodes de prélèvement	11
2.1.1	Pus cutané	11
2.1.2	Urine (ECBU)	12
2.2	Culture sur gélose	12
2.2.1	Pus cutané	12
2.2.2	Urine (ECBU)	12
2.3	Examen microscopique	12
3	Identification des souches <i>S.aureus</i> , Staphylocoque coagulase négative par les tests biochimique	12
3.1	Test de la catalase	12
3.2	Test de coagulase	13
3.3	Test du mannitol	13
4	Sensibilité et profil de résistance des souches de staphylocoques aux antibiotiques	13
4.1	Antibiogramme.....	13
4.1.1	Rôle de l'antibiogramme	13
4.1.2	Les méthodes de diffusion.....	14
4.2	Préparation de l'inoculum	15
4.2.1	Milieu.....	15
4.2.2	Ensemencement	15
4.2.3	Le choix des disques d'antibiotiques	16
4.2.4	Application des disques	16
4.2.5	Incubation.....	16

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

1	L'analyse statistique des données épidémiologiques	17
1.1	La répartition des souches <i>staphylocoques</i> à coagulase positive (<i>S.aureus</i>), <i>Staphylocoques</i> coagulase négative de l'Année 2017	17
1.1.1	Selon la saison	17
1.1.2	Selon le sexe	18
1.2.3	Selon l'âge.....	19
1.2.4	Selon le service.....	20
1.2.5	Selon l'infection.....	21

2	Isolement des souches Staphylocoque à coagulase positive, Staphylocoque coagulase négative	22
2.1	Culture sur gélose	22
2.1.1	Pus cutané	22
2.1.2	Urine (ECBU)	23
2.2	Examen microscopique	23
3	Identification des souches <i>Staphylocoques</i> coagulase positive, <i>Staphylocoques</i> coagulase négative par les tests biochimiques	24
3.1	Test de la catalase	24
3.2	Test de coagulase.....	24
3.3	Test du mannitol	24
4	Sensibilité et profil de résistance des souches de staphylocoques aux antibiotiques	25
4.1	Antibiogramme.....	25
4.1.1	Résistance de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	27
	Conclusion	29

Introduction

Les maladies de l'être humain résultent souvent de la présence de bactéries nuisibles dans l'organisme. La plupart des milliers de souches bactériennes sont bénignes. Les infections bactériennes qui causent les maladies sont, par ailleurs, souvent traitées par antibiotiques. (Maxime et Mathilde, 2012).

Les antibiotiques sont des substances produites par des micro-organismes (comme les bactéries). Le premier antibiotique découvert – en 1929 par Alexander Fleming – est la pénicilline. Sa production pour usage commercial en 1941 a constitué un risque important de la médecine ; ainsi, cet antibiotique a permis de réduire les décès causés par les maladies infectieuses. Les antibiotiques, qu'on peut maintenant produire synthétiquement, sont prescrits de façon courante depuis des dizaines d'années pour le traitement des maladies et des maux causés par les infections bactériennes. (Patrice Courvalin, 2013).

L'évolution des bactéries vers la résistance est inévitable car elle représente un cas particulier de l'évolution générale des bactéries. C'est ce qui s'est produit avec l'émergence de *Staphylococcus aureus* est une bactérie pyogène. Son caractère ubiquitaire, sa virulence et sa remarquable capacité de survie dans un environnement défavorable ou même hostile explique sa grande fréquence en pathologie communautaire et nosocomiale. (Tchougoune Mamadou, 2007). Durant les dix dernières années, *S.aureus* commence à poser un véritable problème pour la santé humaine au niveau mondial, trois raisons expliquent les nouvelles préoccupations dont l'apparition de pandémies à *S.aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) en milieu hospitalier, l'apparition des souches à sensibilité diminuée aux glycopeptides et l'émergence de souches de SARM en médecine communautaire (Benouda et Elhamzaui, 2009)

La majorité des *Staphylococcus* à coagulase négative sont des bactéries opportunistes essentiellement responsables d'infections nosocomiales. Trois facteurs favorisent ces infections : l'immunodépression, la présence de cathéters veineux ou de matériaux prothétiques, la multi résistance des SCN aux antibiotiques.

La résistance aux antibiotiques est aujourd'hui un phénomène planétaire et l'émergence de bactéries multi-résistantes est préoccupante, pas uniquement dans les établissements de soins.

C'est dans ce contexte général que nous avons été amenés à entreprendre ce présent travail qui a été mené au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Dr. Saadane de la wilaya de Biskra, notre étude est subdivisée en deux parties :

- La première partie consiste en une synthèse bibliographique donnant des notions générales sur les *staphylocoques*, les antibiotiques et le phénomène de résistance.

- La deuxième partie est une étude expérimentale représente les objectifs de notre travail qui sont résumés en deux chapitres :
 - ✓ Le chapitre III décrivant le matériel ainsi que les méthodes expérimentales utilisées dans ce travail pour l'identification des souches isolées.

 - ✓ Le chapitre IV décrivant les résultats et discussion comprend une enquête statistique pour étudier le profil de résistance des *S.aureus* et *SCN* aux antibiotiques.

1.1 Définition des staphylocoques

Les staphylocoques sont des coques Gram positifs, mais elles forment des amas de cellules en forme de grappes, plutôt que des chaînettes (Perry et al, 2004). Elles sont asporulées et habituellement non capsulées. La plupart des espèces sont aéro-anaérobies facultatives, résistantes dans le milieu extérieur et peu existantes en culture. (Martinaux, 1997; Nicklin et al., 2000; Benslimani, 2006).

1.2 Habitat

Les staphylocoques sont des bactéries très répandues dans la nature (l'air, le sol, l'eau, etc.) donc ce sont des bactéries ubiquitaires (Baudry et al., 2006 ; Meraham, 2009). Elles peuvent survivre longtemps dans l'environnement.

Ce sont des commensaux extrêmement fréquents de la peau et des cavités naturelles de l'homme et des animaux (Denise, 2008 ; Fiauet, 2009) ; la plupart des espèces rencontrées sont opportunistes, d'autres peuvent être occasionnellement pathogènes. (*Staphylococcus aureus*) (Daurel, et al., 2008).

En milieu hospitalier, un malade peut développer une infection due à *S. aureus*, de sa propre flore. C'est le principal agent des maladies nosocomiales.

On les retrouve aussi dans les aliments (charcuterie, crème glacée...). Si la souche est productrice d'entérotoxine, elle peut être à l'origine d'une toxi-infection alimentaire collective (Martin, 2000).

1.3 Taxonomie des staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococcaceae* (Denis, 2008), selon Pereyre (2011), il comprend 44 espèces. Le développement des techniques moléculaires (hybridation AND/ARN) a permis d'affiner cette classification. D'après l'aptitude à produire une coagulase, on distingue :

- ✓ **Staphylococcus à coagulase positive** : *S. aureus* (nommée à cause de la pigmentation jaune des colonies aureus = doré) (Tortora, 2003 ; Simonnaux, 2007).
- ✓ **Staphylococcus à coagulase négatives (SCN)** : on peut citer *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*

1.4 Caractères bactériologiques

1.4.1. Morphologie microscopique

A l'examen microscopique , *les staphylocoque* se présente sous l'aspect de coque en petits amas (Nauciel et Vilde , 2005), en diplocoques ou en très courtes chainettes de 3 a 5 éléments , mesurant 0,7 a 1,2 , positivement colorées au Gram (Nicklin et al., 2000) .

Sur milieu gélose au sang les *staphylococcus* donnent des colonies généralement opaques, peuvent être blanches ou crémeuses et des fois jaune-orange, les colonies peuvent être entourées ou non par une hémolyse . (Madigean et Martinko , 2007).

1.4.2.Caractères cultureux

-Les *staphylocoques* sont en général aéro-anaérobie facultatif (Batard et al., 2007) et poussent sur milieu ordinaire en aérobiose .

- Selon Aouati (2009), En milieu solide, on trouve fréquemment une zone claire hémolyse (β -hémolyse) autour des colonies.

- La température optimale de croissance est de +30 à +40 °C avec un maximum à 37°C et pH varie entre 4,8 à 9,4 avec un optimum à 7,5.

1.4.3. Caractères biochimique

L'étude des différents caractères biochimiques des souches des *Staphylocoques* permet de définir les profils biochimiques des différentes espèces de *Staphylocoque* grâce à l'utilisation des galeries d'identification rapides et efficace.

- Production d'uréase , - production d'acétoïne , - production de décarboxylases - production de la β -galactosidase, - réduction des Nitrates - Utilisation des hydrates de carbone (Benslimani , 2006)

1.5 Les facteurs des virulences des staphylocoques

Les Staphylocoques possèdent des nombreux facteurs des virulences :

*Facteurs toxiques élaborées par SCN ces Staphylocoques peuvent élaborer des hémolysines de types Delta et parfois une coagulas liée une fibrinolysine , une leuccocidines , une DNASE les facteurs toxiques par *S.aureus*

- Les constituants de la paroi : la micro capsule, protéine A, le récepteur au fibrinogène

- Les enzymes : la coagulasse libre , la fibrinolysine , DNA se , hyaluronidase .

- Les toxines : hemolysines , les leuccocidines , les enterotoxines , les exfoliatrices , TSST(c'est la toxines du syndrome de choc toxique staphylococciques) (Storbel et al., 2003; Batard et al.,2007; Eveillard , 2007 ; Fiquet , 2009 ; Lefrancois, 2011)

1.6 Pouvoir pathogène

1.6.1. Mode de transmission

✓ Direct

-A partir des lésions ouvertes ou d'un simple portage asymptomatiques chez le sujets source.

-Auto inoculation des fosses nasales

-Milieu hospitalier, l'auto infection intervient peu, contrairement à ce qui se passe avec les entérobactéries. La transmission est essentiellement manu portée par le personnel soignant.

✓ Indirect

- Par voie aérienne (sécrétion de la sphère)

- Par les objets souillés ainsi que les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)

- La porte d'entrée est fréquemment cutanée .Une plaie, même minime, une excoriation, le point de pénétration d'un cathéter est des portes d'entrée potentielles,

- Les muqueuses sont plus rarement en cause. (Batard et al., 2007 ; Gargelé , 2007)

1.6.2. Les étapes des infections à staphylocoques

On peut résumer ces étapes dans le schéma suivant :

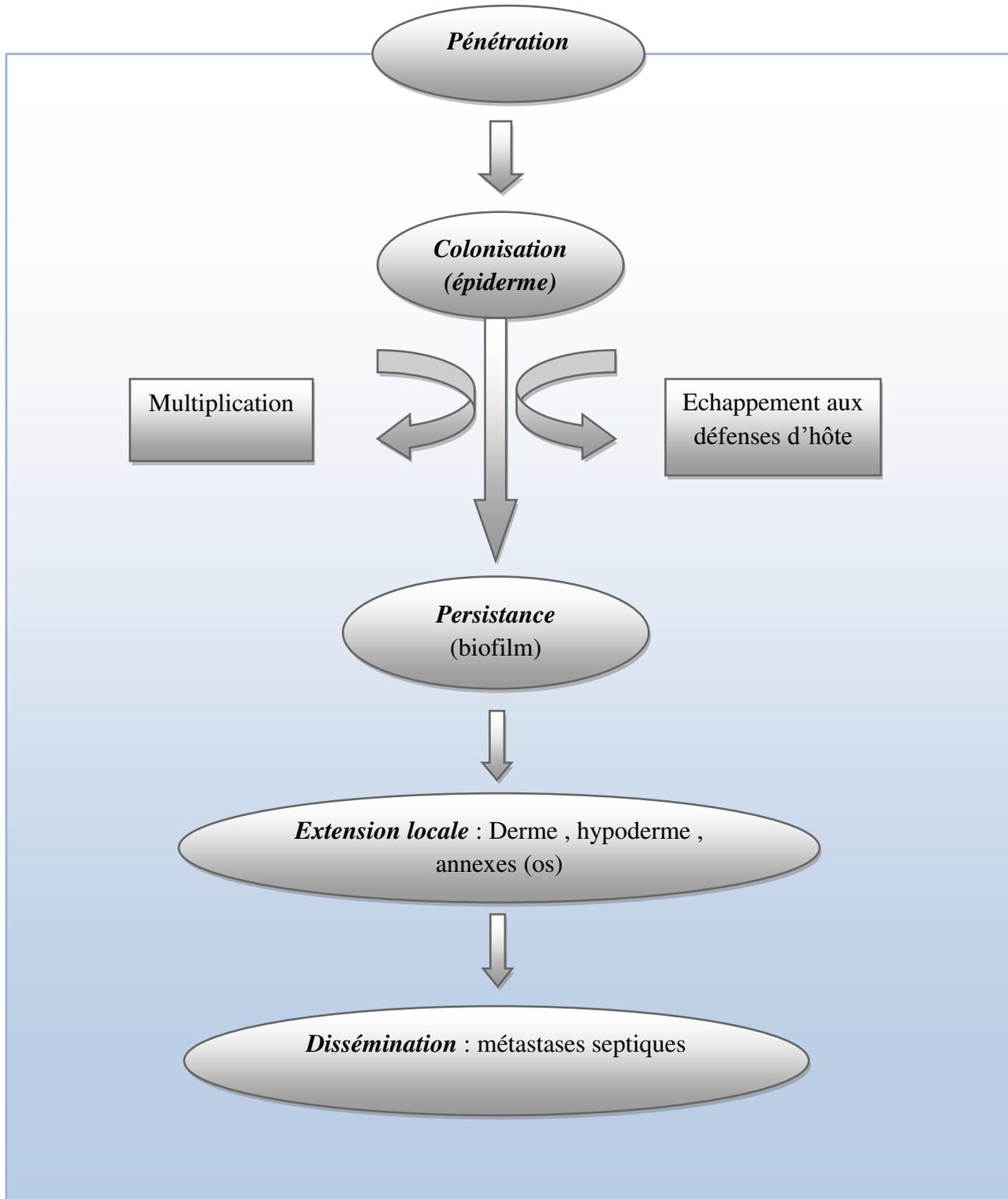


Figure 1 : Etapes des infection à staphylocoque (Batard et *al.*, 2007)

2. Généralités sur les antibiotiques

2.1. Définition des antibiotiques

Les antibiotiques (du grec *anti*, contre et *bio*, la vie), produits d'origine microbienne, synthétique ou semi synthétiques capables de tuer ou inhiber les micro-organismes (Oxoby, 2002 ; Prescott et *al.*, 2010 ; Liazid, 2011). À l'origine, le mot « antibiotique » désigne tout produit microbien qui, même à de très faible concentration, inhibe ou tue certains micro-organismes. On l'emploie maintenant dans un sens plus large qui inclut, en outre, toute substance synthétique ou semi-synthétique dotée de ces propriétés. (Singleton, 2005).

2.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **Origine** : élaboré par un micro-organisme (naturel), ou produit par synthèse (Lammi, 2011).
- **Mode d'action** : action sur la paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques (Figarella et *al.*, 2006)
- **Spectre d'activité** : correspond aux différentes espèces microbiennes susceptibles d'être sensibles à leur action étroite c'est-à-dire quelles ont une efficacité limitée à une variété restreinte de micro-organismes, ou large en attaquant de nombreux types d'agents pathogènes différents. (Bouguessa et *al.*, 2009)
- **En fonction du groupe microbien qu'ils inhibent** : antimicrobien, antifongiques, antiprotozoaire, antiviral (Prescott et *al.*, 2003 ; Prescott et *al.*, 2010)
- **Nature chimique** : la classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (bêta-lactamines, aminosides, tétracyclines...etc.) (Ayachi, 2011)

2.3. Familles d'antibiotiques

Il existe plus de 10 000 molécules d'antibiotiques, mais seulement une centaine, dont une quarte pénicilline, sont efficaces et utilisables. La plupart des antibiotiques sont produits par des procaryotes, des champignons, des végétaux supérieurs, des animaux ou des lichens. (Yala et *al.*, 2001).

2.4. Mode d'action des antibiotiques

Selon (Yala et *al.*, 2001) Les différentes familles d'antibiotiques agissent sur des cibles diverses par des mécanismes d'action différents.

2.5. Micro-organismes producteurs des antibiotiques

Environ 10000 antibiotique ont été caractérisés et moins de 100 sont produit commercialement.

- Les antibiotique les plus utiles sont produit par des actinomycètes qui sont des bactéries filamenteuses de morphologie très variables, elles représentent, une partie importante de la population microbienne de sol ou sont trouvées et plus particulièrement le genre *Streptomyces*. (Perry et *al.*, 2004 ; Zermane ,2008)
- Les bactéries sont responsables d'environ 80% de la production des antibiotiques.
- Les champignons : ils appartiennent aux genres *Cephalosporium spp*, *Penicillium*

Tableau 01 : Les micro-organismes producteurs des antibiotiques (Tortora et *al.*, 2003)

Microorganisme	Antibiotique
Bâtonnets à Gram positif	
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacitracine
<i>Bacillus polymyxa</i>	Polymyxine
Actinomycètes	
<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotéricine
<i>Streptomyces venezulae</i>	Chloramphénicol
<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Chlortétracycline
	Et tétracycline
<i>Streptomyces erythraeus</i>	Erythromycine
<i>Streptomyces fradiae</i>	Néomycine
<i>Streptomyces griseus</i>	Streptomycine
<i>Micromonospora purpurea</i>	Gentamicine
Mycètes	
<i>Cephalosporium spp</i>	Céfaltine
<i>Penicillium griseofulvum</i>	Griséofulvine
<i>Penicillin notatum</i>	Pénicilline

3. Phénomène de résistance aux antibiotiques

3.1. Définition de la résistance

Une bactérie est dite "résistante" lorsqu'elle se développe en présence d'une concentration d'antibiotique, qui habituellement inhibe sa croissance (Brezellec et Baudry, 2006)

3.2. Support génétique de résistance

Les gènes qui codent pour les mécanismes de résistance peuvent faire partie du patrimoine chromosomique des bactéries ou appartenir à une mutation chromosomique ou bien d'un gène extra-chromosomique. (plasmides, transposon, intégrons) (Delery, 1998)

3.3. Résistance naturelle

La résistance naturelle d'une espèce est une caractéristique propre, appartenant à l'ensemble des souches de cette espèce. Quelles qu'en soient les conditions d'isolement.

Elle est toujours transmissible à la descendance. La résistance naturelle détermine les phénotypes « sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques. (Boukerzaza, 2006 et Chainier, 2008).

3.4. Résistance acquise

La résistance acquise survient lorsque quelques souches d'une même espèce normalement sensibles deviennent résistantes. (Schlemmer et al, 2010).

Elle résulte de modification de son patrimoine génétique. Elle peut être acquise de manière endogène par mutation ou de manière exogène par transfert génétique. (Collomb, 2011).

3.5. Mécanismes de résistance

Pour lutter contre l'action des antibiotiques les bactéries ont élaboré plusieurs stratégies certaines ciblent directement les antibiotiques tandis que d'autres sont dirigées contre les mécanismes cellulaires (Guinoiseau, 2010).

- Diminution de la perméabilité : les germes pathogènes deviennent résistants par mutation affectant la structure des porines ou diminuant leur synthèse par lesquelles elles empêchent la pénétration de l'antibiotique (Prescott, 2007; Loucif, 2017)

- Mécanismes d'efflux : certains systèmes de transport sont capables de pomper vers l'extérieur, à travers la membrane cytoplasmique ou l'enveloppe cellulaire, des antibiotiques particuliers avant qu'ils puissent agir. (Singleton.2005).
- Inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes : certaines bactéries peuvent synthétiser des enzymes capables de détruire ou modifier les antibiotiques ce que conduit à l'inactivation ou la dégradation d'une ou plusieurs de ces derniers. Ces enzymes peuvent être encodées dans des gènes chromosomiques ou plasmidiques (Joffin et Leryal.2001)
- Mutation : une mutation peut modifier le site de fixation de l'antibiotique. De sorte que celui-ci ne s'y lie pas. La cellule mutante peut être à l'origine d'une population de cellules résistantes à l'antibiotique en question (Singleton.2005)
- Augmentation de la synthèse du métabolite cible : la production accrue d'un métabolite donné peut vaincre l'inhibition compétitive exercée par un antibiotique (Prescott et al .2010)

Acquisition d'un déterminant de résistance exogène : des gènes spécifiant une résistance à un ou plusieurs antibiotiques peuvent être acquis par transformation, conjugaison, transposition conjugative, ou transduction. Dans certains cas, une "cassette génétique" codant pour la résistance aux antibiotiques s'insère par recombinaison dans une séquence spécifique de l'ADN (intégrons) qu'on trouve dans le plasmide et les transposons.

Matérielles et Méthodes

1. Etudes épidémiologiques statistique :

1.1. Recueil des données :

Les données sont recueillies à partir des registres et par la consultation des systèmes informatiques de laboratoire de microbiologie de l'hôpital Dr SAADANE, provenant des malades de différents services ainsi que les malades externes à l'hôpital ont été inclus dans l'étude et aussi les données d'antibiogrammes, les données de l'année 2017

1.2. Enquête statistique :

Les données sont saisies et analysés sur le logiciel « SPSS ».

1.3. La répartition des souches *Staphylocoques coagulase positive (S.aureus)* et *Staphylocoques coagulase négative* de l'Année 2017 :

- Selon le mois l'année 2017
- Selon la souche
- Selon l'Age
- Selon les services
- Selon le sexe
- Selon le prélèvement

2. Isolement des souches *Staphylocoque à coagulas positive, et négative* :

2.1. Méthodes de prélèvement :

2.1.1. Pus cutané :

On désinfecte au préalable la zone à prélever, A l'aide d'un écouvillon stérile, on prélève quelque goutte de pus cutanée d'un patient malade voire annexe.

2.1.2. Urine (ECBU) :

A l'aide d'un flacon stérile pour éviter toute contamination, le patient prélève une quantité des urines pour l'analyse

2.2. Culture sur gélose :

2.2.1. Pus cutané :

- **Gélose au sang cuit** : pour les facteurs de croissance des souches staphylocoques
 - **Gélose Chapman** : pour l'isolement des *staphylocoques*
- L'incubation a été faite dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures

2.2.2. Urine (ECBU) :

- **Gélose Nutritif** : ensemencement par stries sur GN avec une anse de platine, L'incubation a été faite dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures

2.3. Examen microscopique :

- **L'État frais** : les prélèvements examinés au microscope optique à l'objectif 40 sur lame et lamelle
- **Coloration de gramme** : au microscope optique à l'objectif 100 avec huile d'émersion.

3. Identification des souches *S.aureus*, Staphylocoque coagulase négative par les tests biochimique :

3.1. Test de la catalase :

La catalase c'est le premier test biochimique permettant d'orienter la classification des cocci Gram positif

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, on prélève une colonie isolée que l'on disperse dans une goutte d'eau oxygénée préalablement déposée sur une lame

3.2. Test de coagulase :

C'est un test de différenciation entre *S. aureus* (coagulase positive) et Staphylocoque coagulase négative.

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, on prélève 1 ou 2 colonies que l'on mélange avec quelque goutte du réactif PASTOREX STAPH – PLUS «Bio Rad» (Identification of *staphylococcus aureus*) puis on lecture

3.3. Test du mannitol :

L'utilisation du mannitol est une indication importante pour différencier entre staphylocoque coagulase positive et négative, C'est un test de fermentation du mannitol par *Staphylococcus*.

A l'aide d'un tube à essai contient le mannitol on met 1 ml de suspension bactérienne puis on l'incube dans l'étuve à 37 pendant 24 heures.

4. Sensibilité et profil de résistance des souches de staphylocoques aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques se fait par la méthode de l'antibiogramme.

4.1. Antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans un but épidémiologique ou thérapeutique.

Un antibiogramme permet donc de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne.

Il donnera des indications sur l'efficacité *in vitro* de ces antibiotiques.

4.1.1. Rôle de l'antibiogramme

- Le choix d'une thérapie efficace.
- La surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne.

- L'orientation de l'identification bactérienne grâce aux phénotypes de résistance naturelle.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées :

- Les méthodes de dilutions en milieu liquide et solide

- Les méthodes des diffusions
- Méthode de l'E-test (Tebibel *et al.*, 2011 ; Perry *et al.*, 2004)

Avant de faire un antibiogramme il faut connaître les notions suivantes :

-CMI : Concentration Minimale Inhibitrice : est la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible d'un organisme après 24h d'incubation dans un milieu de croissance spécifique.

Approche la plus utilisée pour évaluer *in vitro* l'activité bactériostatique d'un antibiotique.

-CMB : Concentration minimale bactéricide : est la plus faible concentration d'antibiotique capable de tuer les bactéries après 24 h d'incubation dans un milieu de croissance spécifique en laissant un pourcentage de bactéries survivantes $< 0,01\%$ de l'inoculum de départ. (Joffin et Leyral, 2006).

La mesure de la CMI permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'antibiotique testé. Pour chaque antibiotique on a pu mesurer les concentrations critiques des antibiotiques qui sont établies sur la base des concentrations sériques obtenues après administration d'une posologie « usuelle ».

- **Concentration critique inférieure c :** représente la concentration minimale moyenne habituellement obtenue chez le malade.

- **Concentration critique supérieure C :** représente la concentration maximale moyenne habituellement obtenue chez le malade. (CA-SFM, 2010).

4.1.2. Les méthodes de diffusion

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. (Genné et Siegrit, 2003)

-Milieu standard : gélose de Mueller Hinton

-Inoculum standard : 10⁶ bactéries/ml

-Disques imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablementensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

-Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme.

-Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de croissance. (Senouci et Abdelouahide, 2010).

-A la limite des zones d'inhibition, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI. Chaque zone est mesurée selon divers moyens : règle, compas, pied à coulisse. (Tebibel et al., 2011).

-Les diamètres des zones d'inhibition sont ensuite interprétés en termes de catégories de sensibilité. (Madigan et Martinko, 2007). Classer la bactérie dans l'une des catégories Sensible, Résistant ou Intermédiaire.(A. Benslimani, 2011)

4.2. Préparation de l'inoculum

4.2.1. Milieu :

- Gélose Mueller Hinton (MH) voire annexe, coulée en boîte de pétri sur une épaisseur de 4mm.
- Les géloses sont séchées avant l'emploi.

4.2.2. Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de les décharger au maximum, 1 ou 2 colonies de staphylocoque avec 1 ml d'eau physiologie puis on mélange.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte 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.

Enfin, les boîtes ont été déposées sur la paillasse pendant 10 minutes de sorte que la surface de la gélose soit complètement sèche lors de l'application des disques.

4.2.3. Le choix des disques d'antibiotiques :

Le choix se fait Selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire)

4.2.4. Application des disques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 06 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre, les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.
- Tester la liste des antibiotiques selon la bactérie isolée.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince stérile pour s'assurer de son application. (Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé).

4.2.5. Incubation :

L'incubation a été faite dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Résultat et discussion :

1. L'analyse statistique des données épidémiologiques :

1.1. La répartition des souches *staphylocoques* à coagulase positive (*S.aureus*), *Staphylocoques* coagulase négative de l'Année 2017 :

Au total de 189 souches de staphylocoques isolées à partir des différent types de prélèvement et des différent services: 55.56% souches ont été identifiées comme *staphylocoques* à coagulase positive (*S.aureus*), alors que 44.44% des souches représentent les *staphylocoques* à coagulase négative.

1.1.1. Selon la saison :

Les pourcentages des staphylocoques varient d'une saison à l'autre. En hiver 5,11% sont des SCN alors que 14,77% sont SCP, en printemps 11,93% c'est des SCN et 11,36% SCP, au cours de l'été 13,07% SCN, et 13,63%, et durant l'automne les SCN représentent 11,93% et 18,18% pour les SCP.

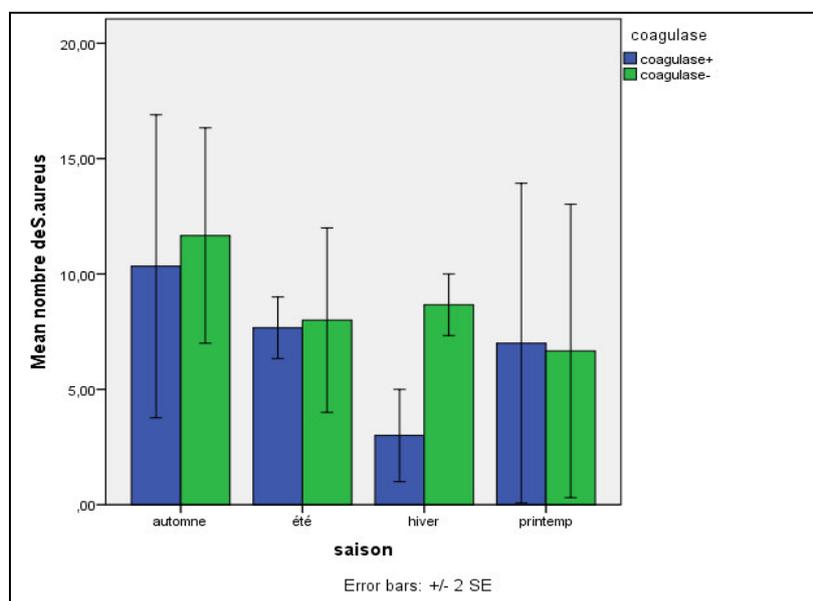


Figure 2 : Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017

On note un taux supérieur des SCN et SCP dans la saison de l'automne, on remarque aussi le taux le plus bas des SCP à l'hiver (5,11%) mais la répartition des SCN est plus élevée (14,77%),

Malheureusement nous n'avons pas trouvé de références récentes pouvant confirmer ou infirmer ces résultats.

1.1.2. Selon le sexe :

La répartition des staphylocoques en fonction du sexe montre 55,31% chez les femmes et 50,27% chez les hommes, la fréquence des SCN est de 26,81%, 20,11 % chez les femmes et les hommes respectivement, alors que SCP est de 28,49 et 30,16 chez les femmes et les hommes respectivement.

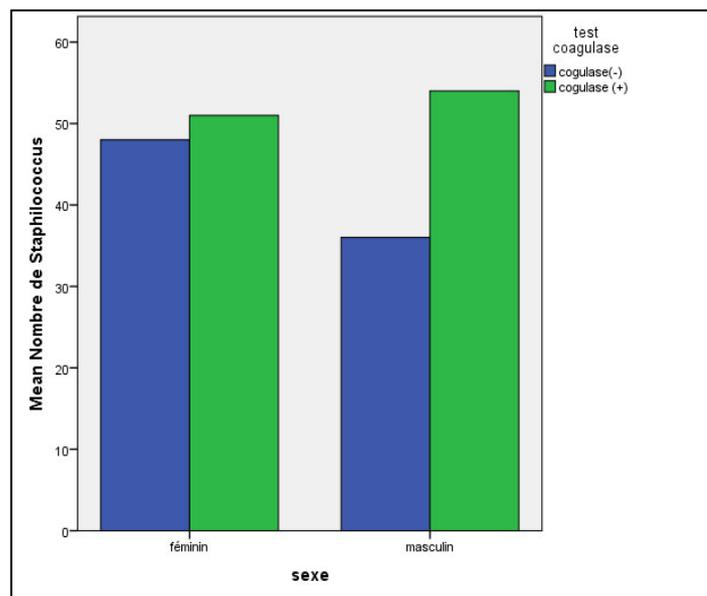


Figure3 : Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017 selon le sexe

De nombreux auteurs ont reporté la prédominance des SCN chez les femmes ainsi, Antri et al, (2009), a décrit au cours d'une étude réalisée au CHU Mustapha –Bacha durant la période Avril 2006 à décembre, une prédominance de SCP (*S.aureus*) chez les hommes (58%) par rapport aux femmes (42%). Alors que Bartlett (2009) a montré les SCN comme des

constituants essentiels de la flore vaginale anaérobie facultative, ils sont présents chez 50 à 90% des femmes à un nombre élevé.

1.1.3. Selon l'âge

La répartition des staphylocoques en fonction de l'âge est :

- 1ans -15ans : 7.4% SCN ; 8.4% SCP
- 16ans-20ans : 3.17% SCN ; 7.93% SCP
- 21ans-40ans :11.11% SCN ; 14.28% SCP
- 41ans-90ans :21.16% SCN ; 25.92% SCP

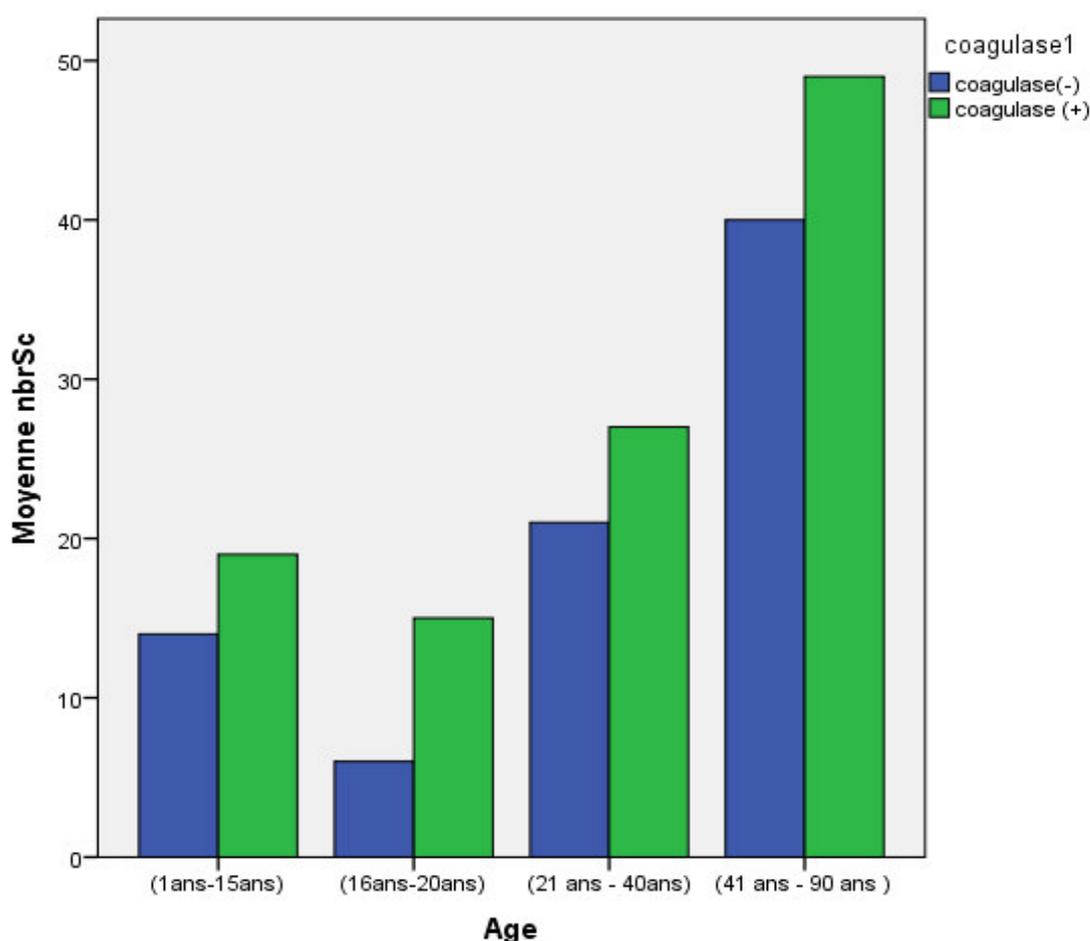


Figure4 : Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017 selon les tranches d'âge

Nous avons remarqué le taux le plus élevé des souches SCN et SCP sont les personnes âgées (41ans-90ans), les personnes âgées sont les plus sensibles et les plus vulnérables aux infections. Cette vulnérabilité est multifactoriel, l'âge avancé agissait en réduisant les défenses de l'hôte et augmentait également la durée des interventions. (AFISSA H, 2014.).

1.1.4. Selon le service

La répartition des staphylocoques en fonction du service varie d'un service à l'autre, la fréquence des SCN est 10.05% et des SCP est 9.52% chez les malades du service femmes, alors que chez les malades du service hommes les SCN est 6.34% et les SCP est de 11.11%. Chez les malades de la pédiatrie la fréquence des SCN et SCP est 3.17%, mais au niveau du service pneumo-phtisiologie homme (pph) les SCN est 2.64% et des SCP est 1.05%, mais chez le service pneumo-phtisiologie femme (ppf) les SCN et les SCP est 0%, aussi pour les services d'oncologie et cardiologie. Au niveau du service de la réanimation médical nous avons recensé 2.11% SCN et 0.52% SCP, chez les malade externe la fréquence des SCN est de 19.57% et des SCP est de 30.15%.

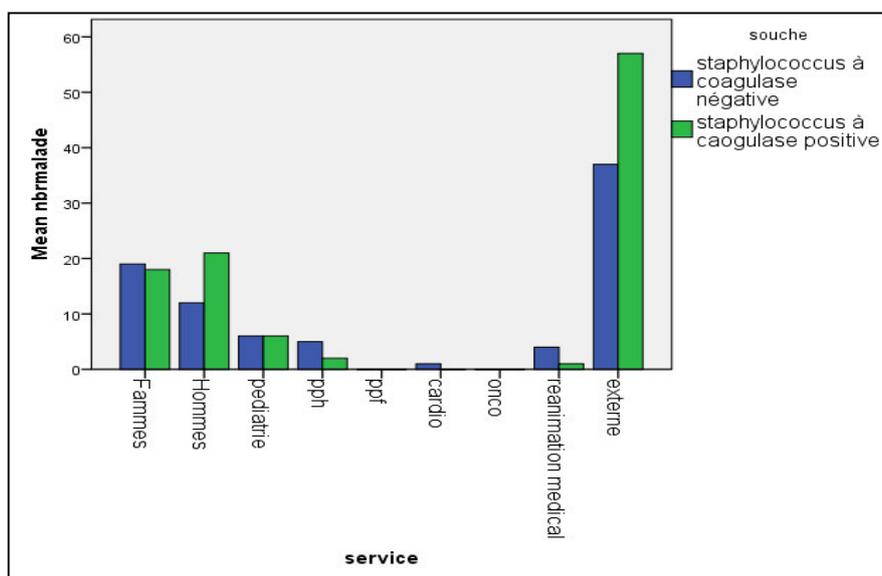


Figure5 : Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l'année 2017 selon le service

Certain auteurs ont montré (Fomba, 2006.) que le service le plus contenant des SCN est : la médecine interne (31%). selon (DOUYON, 1998.) (33.3%) des SCN proviennent des services de chirurgie, (24.4%) de médecine interne (24,4 %) et (11.5%) de la néphrologie.

Dans d'autres travaux réalisés par Azizi. (2013) le taux le plus élevé des *S.aureus* est trouvé chez les externes (81%), alors que dans une autre étude dans menée par Aouati. (2009) sur la répartition des *S.aureus*, les taux les plus élevés des infections sont rencontrés au niveau des urgences médicales et des services chirurgicaux avec des proportions (22,1%), et

seulement (14,7%) en pédiatrie. Notons également est un taux de (18,8%) prélevé chez les patients en consultation externe.

1.1.5. Selon l’infection

En fonction de l’infection (prélèvement) la répartition des staphylocoques est :

- L’ECBU : 16,40% SCN ; 11,64% SCP
- La Gorge : 0% SCN ; 1,58% SCP.
- Hémoculture : 18,51% SCN ; 6,87% SCP,
- le pus cutanée : 2,64% SCN ; SCP 28,04%.
- les spermocultures la même fréquence 0,52% pour les deux SCN et SCP,
- le crachat : SCN 0% ; 0,52%SCP chez les deux prélèvements.
- LCR : 2,11% SCN ; 1,05%SCP
- le reste des prélèvements (autres) : 4,23%SCN ; 4,76%SCP

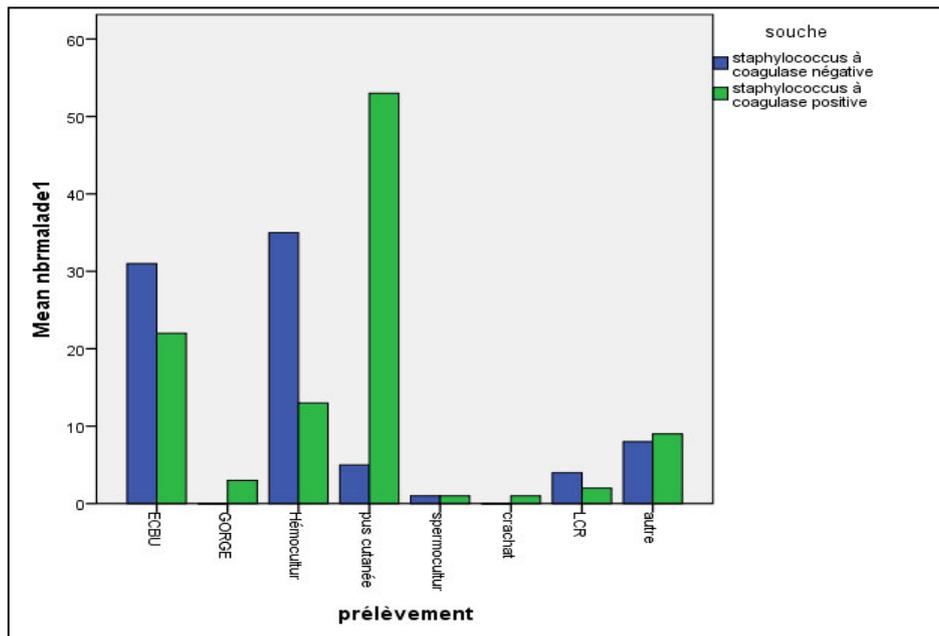


Figure 6 : Histogramme des moyennes des staphylocoques dénombrés au cours de l’année 2017 selon l’infection

Nous avons remarqué que le taux le plus élevé des souches *SCP* est au niveau des prélèvements issus du pus cutanée le taux le plus bas au niveau du crachat alors que le taux le

plus élevé des SCN était au niveau des hémoculture et ECBU , les prélèvements issus du crachat et de la gorge présent les taux les plus bas des SCN (0%).

Selon Fomba. (2006), a trouvé que la principale source des SCN est ECBU et l'hémoculture avec un pourcentage de (55,4%) et (22,9%) respectivement. Des résultats similaires ont été obtenus par Aouati. (2009), pour le LCR représentait (1,6%) des SCP et (68%) sont issue de pus au niveau de l'étude de Azizi. (2013)

2. Isolement des souches Staphylocoque à coagulase positive, Staphylocoque coagulase négative :

2.1. Culture sur gélose

2.1.1. Pus cutané

- **Gélose au sang cuit** : on observe des colonies opaques, régulièrement rondes, lisses, plus ou moins bombées avec un diamètre variant de 1,5 à 2 mm. La plus part des souches produisent un pigment doré non diffusable



Figure personnelle 7 : Aspect des colonies de SCP (*S.aureus*) sur gélose au sang cuit

- **Gélose Chapman :** *S.aureus* donne des colonies jaunes dorées avec un virage du milieu vers le jaune orangé, ce qui signifie une fermentation du mannitol par la bactérie

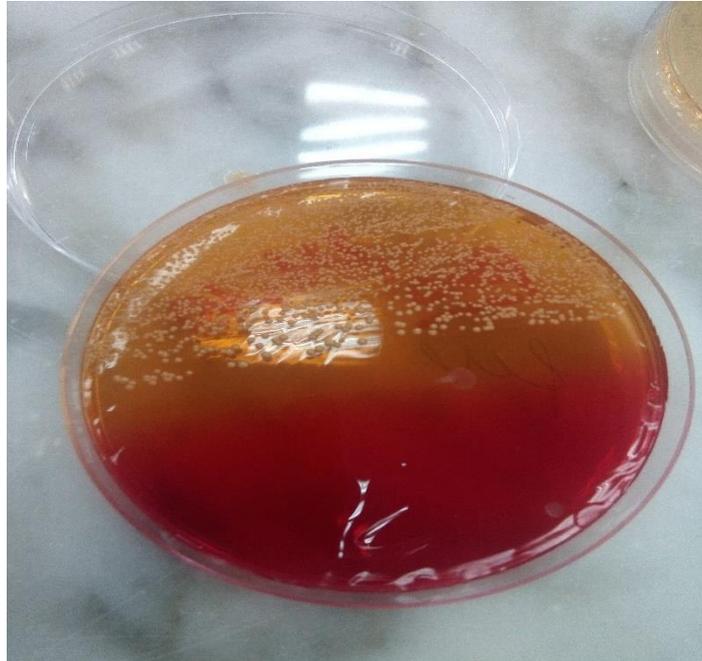


Figure personnelle 8 : Aspect des colonies de SCP (*S. aureus*) sur milieu Chapman

2.1.2. Urine(ECBU)

- **Gélose Nutritif :** donnent des colonies blanchâtres d'où le nom de staphylocoque blanc.

2.2. Examen microscopique :

- **L'État frais :** sont des cocci immobiles
- **Coloration de Gram :** des cocci à Gram positif (de 0,5 à 1 μm de diamètre) groupé souvent en amas

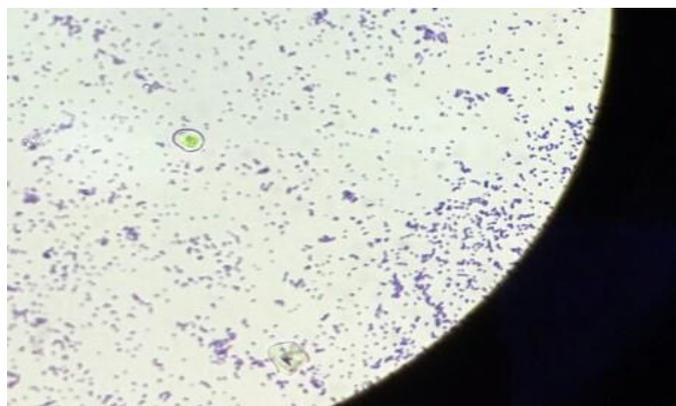


Figure personnelle 9 : coloration de gram des *staphylococcus*

3. Identification des souches *Staphylocoques* coagulase positive, *Staphylocoques* coagulase négative par les tests biochimiques :

3.1. Test de la catalase : les souches de *Staphylococcus* produisent une catalase. Toutes les souches produisent une catalase mais pas d'oxydase. (Le Minorand Veron ,1990).

3.2. Test de coagulase : après le contact de la souche des *staphylococcus* avec les particules de latex recouvertes de fibrinogène, une agglutination apparaît en quelques secondes pour les staphylocoques coagulase positive, mais les SCN ne produit de coagulase, ce qui caractérise mieux l'espèce *S. aureus*, c'est la production d'une staphylocoagulase (Fauchere et Avril, 2002).

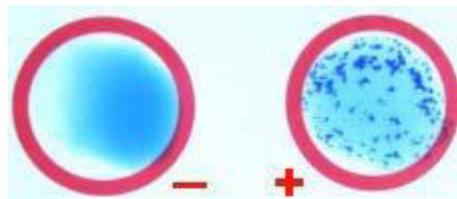


Figure 10 : test de coagulase

3.3. Test du mannitol : un virage de couleur du milieu vers le jaune orangé, ce qui signifie une fermentation du mannitol par la bactérie staphylocoque coagulase positive

Mais les staphylocoques coagulase négative n'y a pas de virage de couleur, ce qui signifie SCN ne fermentent pas le mannitol on met quelque gouttes de nitrate test pour voir la réduction des nitrates (voir annexe), présence d'une surface rouge.

S. aureus possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques (Couture, 1990).

Notre résultat de l'étude d'identification biochimique montre que :

- les souches présentes dans le prélèvement d'urine sont des *staphylocoques* coagulase négative (*staphylococcus* blanc)
- Les souches présentes dans le prélèvement du pus sont des staphylocoques coagulase positive (*staphylococcus aureus*)

4. Sensibilité et profil de résistance des souches de staphylocoques aux antibiotiques

4.1. Antibiogramme :

Le tableau suivant représente les valeurs de la zone d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis les *staphylococcus aureus*

Tableau 2: les valeurs de la zone d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis les *staphylococcus aureus*

Antibiotiques Testés	Abréviation	Charge du disque	Diamètre de zone d'inhibition (mm)	Réponse
Bétalactamine :				
Pénicilline	P	10µg	≤ 6 mm	R
Oxacilline	OX	1 µg	19mm	I
Aminosides :				
Gentamicine	GN	10µg	19mm	I
Kanamycine	K	30µg	6mm	S
Amikacine	AK	30µg	12mm	I
Macrolides :				
Erythromycines	E	15µg	≤ 6 mm	R
Glycopéptides :				
Vancomycine	Va	30µg	16mm	I
Autres				
Chloramhénicol	C	30µg	28mm	S
Fosfomycine	FF	200µg	17mm	I
Co-trimoxazole	COT	25µg	32mm	S
Rifampicine	Rif	30µg	34mm	S
Teicoplanine	TEI	30µg	15mm	I

Le tableau suivant représente les valeurs de la zone d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis *staphylococcus* coagulase négative

Tableau 3 : les valeurs de la zone d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis les *staphylococcus* coagulase négative

Antibiotiques Testés	Abréviation	Charge du disque	Diamètre de zone d'inhibition (mm)	Réponse
<i>Bétalactamine :</i>				
Pénicilline	P	10µg	≤ 6 mm	R
Oxacilline	OX	1µg	≤ 6 mm	R
<i>Aminosides :</i>				
Gentamicine	GN	10µg	7 mm	R
Kanamycine	K	30µg	≤ 6 mm	R
Amikacine	AN	30µg	24 mm	S
<i>Macrolides :</i>				
Erythromycines	E	15µg	11 mm	I
<i>Glycopéptides :</i>				
Vancomycine	Va	30µg	20mm	I
<i>Autres</i>				
Chloramhénicol	C	30µg	32 mm	S
Fosfomycine	FF	200µg	18 mm	S
Co-trimoxazole	COT	25µg	20 mm	I
Rifampicine	Rif	30µg	≤6 mm	R
Teicoplanine	TEI	30µg	12 mm	I

4.1.1. Résistance de *S.aureus* aux antibiotiques

➤ Résistance de *S.aureus* aux bêta-lactamines

Ce sont des antibiotiques dont la structure de base est le cycle bêta-lactame et trois groupes sont individualisés dans cette classe. Les pénicillines et les céphalosporines

Mécanisme d'action : Les bêta-lactamines agissent par inhibition de la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne.

➤ Résistance à la méthicilline

Dans la fin des années 1950 des nouveaux bêta-lactamines semi-synthétiques ont été développés et sont devenus disponibles. Ils sont stables à l'action des pénicillinases. Le Groupe comprend la méthicilline, l'oxacilline, nafcilline, flucloxacilline et dicloxacilline, méthicilline étant le prototype (Fisher et al, 2005 ; Guignard et al, 2005).

➤ Résistance de *S.aureus* aux glycopeptides

La vancomycine et la teicoplanine sont des antibiotiques utilisés dans le traitement des infections à coques à Gram positif, essentiellement les staphylocoques en cas de multi résistance aux antibiotiques et d'intolérance aux β -lactamines. Ces antibiotiques constituent le traitement de choix dans les infections à SARM (Levine, 2006).

➤ Résistance à la vancomycine

une souche de *S. aureus* est dite sensible à la vancomycine si sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est ≤ 4 mg/L. Une souche de *S. aureus* de sensibilité intermédiaire à la vancomycine (GISA ou VISA pour *Glycopeptide ou Vancomycin Intermediate-sensitive Staphylococcus aureus*) se définit par une CMI comprise entre 8 et 16 mg/L. Les souches résistantes à la vancomycine (VRSA pour *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus*) ont une CMI > 32 mg/L (Tiwari, 2009 ; Ng et al, 2011).

➤ Résistance de *S.aureus* aux aminosides

Les staphylocoques sont normalement sensibles à tous les aminosides (kanamycine, amikacine, tobramycine, gentamicine), antibiotiques bactéricides, concentration dépendante.

Les aminosides sont surtout utilisés en association avec les β -lactamines ou les glycopeptides (Bismuth et Leclercq, 2000).

➤ **Résistance de *S.aureus* aux macrolides**

Les macrolides ont une activité bactériostatique sur les staphylocoques, seules les streptogramines, association de deux composés agissant en synergie, ont une activité bactéricide temps dépendante (Bismuth et Leclercq, 2000).

En l'espace de l'année (2017) ; nous avons isolé 189 souches de staphylocoque dont 105 souches de *S. aureus* 84 souches de SCN. Ces souches obtenues à partir de différents produits pathologiques des malades de différents services de l'hôpital Dr.Saadane de Biskra. La fréquence de ces deux germes varie selon différents paramètres tels que : le sexe, le service, l'âge des patients, et le type de prélèvements.

Les *Staphylocoques* ont provoqué des infections diverses : urinaires, vaginales, bactériémies ou septicémies, méningites etc... tandis que les infections urinaires et Hémoculture sont beaucoup plus provoquées par les SCN. Les SCP est la cause principale des infections cutanées, ces infections touchent beaucoup plus les personnes âgées, les femmes sont les plus touchées par les SCN.

L'antibiogramme réalisé a montré que les SCN sont plus sensibles aux Chloramphénicol, la Fosfomycine, Amikacine . Alors que la pénicilline G, l'érythromycine, la kanamycine, l'oxacilline ont peu d'intérêt dans le traitement des infections à SCN à cause de leurs résistances à ces derniers. Les antibiotiques les plus actifs sur les SCP sont : La Fosfomycine, la Gentamycine, Rifampicine et la Co-trimoxazole.

Nos résultats montrent que les SCP possèdent une grande résistance à La pénicilline G, la kanamycine, et Erythromycines.

Les infections à *Staphylococcus aureus* sont la deuxième cause d'infections nosocomiales. Ainsi, pour limiter l'émergence des souches résistantes, le traitement d'une infection staphylococcique doit nécessairement se baser sur les résultats d'une étude de sensibilité.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris de formuler les recommandations suivantes :

Aux prescripteurs

- ✓ Éviter de prescrire systématiquement les antibiotiques.
- ✓ Demander généralement un antibiogramme avant toute antibiothérapie.
- ✓ Adapter la prescription aux résultats de l'antibiogramme.

Aux techniciens de laboratoire

- ✓ Stériliser correctement les matériels de travail.
- ✓ Entretien correctement l'appareillage.

A la direction de l'hôpital :

- ✓ Approvisionner régulièrement le laboratoire en réactifs et consommables de qualité.
- ✓ Équiper le laboratoire en matériels nécessaires
- ✓ Organiser de manière régulière la formation et le recyclage des techniciens de laboratoire.
- ✓ Assurer régulièrement une hygiène des lieux de travail.

1. AFISSA H.2014. Etude de l'antibiorésistance des souches de Staphylocoques isolées à partir des dispositifs médicaux à l'hôpital de Mohamed Boudiaf Ouargla. Mémoire master académique, Université KASDI MERBAH, OUARGLA, 67p
2. ANTRI K., ROUZIC N., BOUBEKRI I., DAUWALDER O. 2009. Forte prévalence des infections communautaires et nosocomiales à Staphylococcus aureus résistance à la méticilline et portant le gène de la leucocidine de Pantone-Valentine dans l'algéroise. Pathol bio (Paris), 1-6p.
3. AOUATI H. 2009. Isolement des souches de staphylococcus aureus résistantes à la méticilline : Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotique. Diplôme de Magister, Université Mentouri. Constantine, 123p
4. AYACHI H. 2011. Analyse de l'interaction ribonucléase-kanamycine par modélisation moléculaire. Thèse de doctorat d'état, Université Abou Baker Belkaid de Tlemcen, 97p.
5. BARTLETT J.G., OUTERDONK A.B., DRUDE E., GOLSTEIN G., ANDERKA M., ALPERT S., MC CORMACK W.M. 1977. Quantitative bacteriology of the vaginal flora. J.infect. Dis : 136,271-277.
6. BATARDE E., EL KOURI D., POTEL G. 2007. infection a staphylocoques : aspects clinique et Bactériologiques .Elsevier Masson SAS, PARIS ,8p
7. BELABBÈS H., ELMDAGHNI N., HACHIMI K., MARIH L., ZEROUALI K et BENBACHIR M. 2001. Résistance aux antibiotiques de Staphylococcus aureus isolé des infections communautaires et hospitalières à Casablanca. Med Mal Infect, 8-25p.
8. BENCIMANI A. 2006. endocardite infectieuses : étiologiques et approche épidémiologique de cas enregistrés en 3 ans à Alger, 302p.
9. Bismuth R., Leclercq R. 2000. Staphylococcus aureus et antibiotiques, in Précis de Bactériologie clinique. Ed ESKA, 611-616.
10. BOUGUESSA N-R., BELOUNI R., BENSLIMANI A., SEGHIER M. 2010. Manuel de microbiologie à l'usage des étudiants en 3^{ème} année de médecine, 2^{ème} édition, office des publications universitaires, 277p.
11. BOUKRZAZA S. 2006. étude génétique et moléculaire du phénotype de résistance du salmonella enterica sérotype Senftenberge .université Mentouri Constantine, 115p

12. BREZELLE C et BOUDRI C. 2006. Microbiologie immunitaire 2^{ème} édition, Groupe liaison SA, 55P
13. CHOMART M. 2010. Lecteur interprétative de l'antibiogramme, Quebec, 62p.
14. COLLOMB A. 2011. Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* de deux lignées de souris, université de Toulouse, 67p.
15. Couture B. 1990. Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris, 15-32p.
16. DAUREL C., LECLERQ R. 2008. L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*, 81p.
17. DELERY L. 1998. Antibiorésistance Bactérienne dans l'eau : Problématique de la transmission de l'animal à l'homme, 70p.
18. DELLARRAS C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. La voisier, 447-448.
19. DENIESE A., 2008. Impact de l'interaction entre les cellules épithéliales bronchiques et *Staphylococcus aureus* sur le chimiotactisme des lymphocytes T dans la mucoviscidose, 185p.
20. DOUYON AA. 1998. Sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques à l'hôpital du Point G. Thèse Pharm, Bamako.
21. EVEILLARD M. 2007. politique de dépistage de *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquence de cette politique pour l'indicateur de surveillance et de transmission, Université d Angres, 159p.
22. Fauchere JL and Avril JL (2002). Bactériologie générale et médicale. ellipses, Paris. 213-217p.
23. FIGARELLA J., LEYRAL G., MICHEL T. 2006. Microbiologie général et appliqué, 104-108p.
24. FIQUET A. 2009. Les staphylocoques dorés. Université Victor Segalen Bordeaux2, 23p.
25. Fisher JF. Meroueh SO and Mobashery S. 2005. Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. Chem. Rev.105 : 395- 424.
26. FOMBA M. 2006. Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des Acinobacter et des *Staphylococcus* à coagulase négative à l'hôpital du point du G. thèse de doctorat d'état, université de Bamako, 95p.

27. FRENEY J., RENAULD F., LECLERQ R., RIEGLE P. 2007. Précis de bactériologie clinique, 2^{ème} édition, E.S.K.A, 1764p.
28. GERGELE L. 2007. *staphylococcus aureuse* producteur de leucocidine d'Anton Valentine, Lyon, 17p.
29. Guignard BJ., Entenza M and Moreillon P. 2005. Bêta-lactames against methicillin résistant *Staphylococcus aureus*. Curr. Opin. Pharmacol. 5:479-489.
30. GUINOISEAU E. 2010. Molécule antibactérienne issue d'huiles essentielles : Séparation, identification et mode d'action. Université de Crose-Pasquale Paoli, 148p.
31. JOFFIN J-N., LEYRAL G. 2001. Microbiologie technique 1 dictionnaire des techniques. 3^{ème} édition, C.R.D.P d'aquitaine, 312p.
32. LAMMI S. 2011. Recherche de substance à activités actinomicrobiennes produit par des souches bactériennes et levuriennes isolés des sols sahariens. Université Mentouri Constantine, 11p.
33. LEFRANCOIS R. 2010. Aspect actuel des staphylococcus ,20p
34. Levine DP. 2006. Vancomycin: a history. Clin. Infect. Dis. 42: 5-12.
35. LIAZID A. 2011. Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif non fermentantes au niveau de C.H.U de Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, 95p.
36. LOUCIF K. 2010. Recherche de substance antibactérienne à partir d'une collection de souche d'actinomycète. Caractérisation préliminaire de molécule bioactive. Université Mentouri Constantine, 139p.
37. MADIGAN M., MARTINKO J. 2007. Brock biologie des microorganismes. 11^{ème} édition, pearson éducation, Paris, 874p.
38. Mainardi JL., Goldstein FW. Gutmann L. 1996. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses. 10 : 8 .
39. MARIE D. 2009. Les antibiotiques.
40. MARTIN J. 2000. Staphylocoques à coagulase positif, 1p.
41. MARTINEAU F. 1997. Développement de tests de diagnostic basés sur l'ADN pour l'identification de staphylococcus aureus et staphylococcus épidermidis associés aux infections chez l'humain, université Laval, 120p.

42. MERAH M. 2009. Contribution à l'étude qualitative de quelques groupes de bactéries isolées de bloc opératoire de l'établissement public Mohamed Boudiaf de Ouargla : profil et sensibilité aux antibiotiques, 37p.
43. Minor L et Veron M. 1990. Bactériologie Médicale «*Staphylococcus* et *Micrococcus*» J.Fleurette, 2^{ème} édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773-794.
44. NAUCIEL C-J et VILDE L. 2005. Bactériologie médicale. 2^{ème} édition, masson, Paris, 257p.
45. Ng ST., Lim CY., Tan CS., Abd Karim A., Haron A., Ahmad N and Murugaiyah V. 2011. Emergence of vancomycine-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA). Web med Central Inf. Dis. 2: 2787.
46. NICKLIN J., GRAEME-COOK K., PAGET T., KILLINGTON R. 2000. L'essentiel en microbiologie, 29p.
47. OXOBY M. 2002. Etude sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones, université Bordeaux 1, 238p.
48. PERRY J-J., STALEY J-T., LORRY S. 2004. Microbiologie, cours et questions de révision, Dunod, Paris, 479-480.
49. PERYERE S. 2011. Staphylocoques aureus pouvoir pathogène, caractéristiques bactériologiques et résistance, université Bordeaux Segalen, 33p.
50. Poole K. 2004. Uninhibited antibiotic target discovery via chemical genetics. Nat Biotechnol. 22(12):1528-1529.
51. PRESCOT L-M., HARLEY J-P., KLEIN D-A. 2007. Microbiologie. 2^{ème} édition, de boeck, Paris, 1137
52. PRESCOT L-M., HARLEY J-P., KLEIN D-A. 2010. Microbiologie. 2^{ème} édition, de boeck, Paris, 1137.
53. SAURD C. 2005. Consommation des antibiotiques dans les hopitaux suisses : investigation d'un système de surveillance, 114p
54. SIMONNEAU B. 2007. l'aide à domicile et les staphylocoques, 14p
55. SINGLETON P. 2005. bactériologie, 6^{ème} édition, dunod, paris, 542p
56. STROBEL M, MARTINEZ B-A., 2003- Infection et sepsus à staphylocoque, 39p
57. Tiwari B. 2009. Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* may occur faster than expected. Int. J. Life Sci. 3: 6-13.
58. TORTORA G-J., FUNKE B-R. CASE C-L. 2003-Introduction à la microbiologie. Ed .E.R.P.I, 945p.

59. TULKENS P., BAMBEKE F. 2008. Pharmacologie et pharmaceutiques anti-infectieuses, de Boeck, 2012p.
60. YALA D., MERAD A.S., MOHAMED D., OUARKARICH M-M. 2001. Classification et mode action des antibiotiques .Médecine Magreb. (91):1-8p
61. ZERMANE F.2008. Etude des caractéristiques culturelles des actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose des substances et des composés organiques de synthèse, 126p.

Tableau 01 : composition de milieu de culture Chapman (Tchougoune Mamadou, 2007)

Composants	Quantité
Peptone	10 g
Extrait de viande	1 g
NACL	75 g
Mannitol	10 g
Rouge de phénol	0,025 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Tableau 02 : composition de milieu de culture Mueller Hinton (Tchougoune Mamadou, 2007)

Composants	Quantité
Infusion de viande de bœuf	300 g
Hydrolysate de caséine	17 g
Amidon	1,5 g
Agar	10 g
Calcium	60 mg
Magnésium	20 mg
Epaisseur de la gélose : 4 mm	
pH : 7,4	

Tableau 03 : Répartition des souches de *Staphylococcus* selon le mois

Le mois	SCN	SCP (<i>S.aureus</i>)
Janvier	2	8
Février	5	10
Mars	1	1
Avril	7	7
Mai	13	12
Juin	7	6
Juillet	9	12
Aout	7	6
Septembre	15	7
Octobre	12	14
Novembre	4	14
Décembre	2	8

Tableau 04 : Répartition des souches de *Staphylococcus* selon la souche

La souche	Fréquence
SCN	84
SCP (<i>S.aureus</i>)	105

Tableau 05 : Répartition des souches de *Staphylococcus* selon l'Age

Age	SCN	SCP (<i>S.aureus</i>)
1ans-15ans	07	09
16ans-20ans	03	08
21ans-40ans	11	17
41ans-90ans	07	13

Tableau 06 : Répartition des souches de *Staphylococcus* selon le service

Services	SCN	SCP (<i>S.aureus</i>)
Femme	19	18
Homme	12	21
Pédiatrie	6	6
Pneumo physio homme	5	2
Pneumo physio femme	0	0
Cardio	1	0
Onco	0	0
Réanimation médicale	4	1
Malade externe	37	57

Tableau 07 : Répartition des souches de *Staphylococcus* selon le sexe

Sexe	SCN	SCP (<i>S.aureus</i>)
Féminine	48	51
Masculin	36	54

Tableau 08 : Répartition des souches de *Staphylococcus* selon le prélèvement

Prélèvement	SCN	SCP (<i>S.aureus</i>)
ECBU	31	22
GORGE	0	03
Hémoculture	35	13
Pus cutanée	5	53
Spermoculture	1	1
Crachat	0	1
Prélèvement vaginal	0	1
LCR	4	2
Autre prélèvement	8	9



Figure 01 : Lésion cutané (pus)



Figure 02 : Gélose Muller Hinton

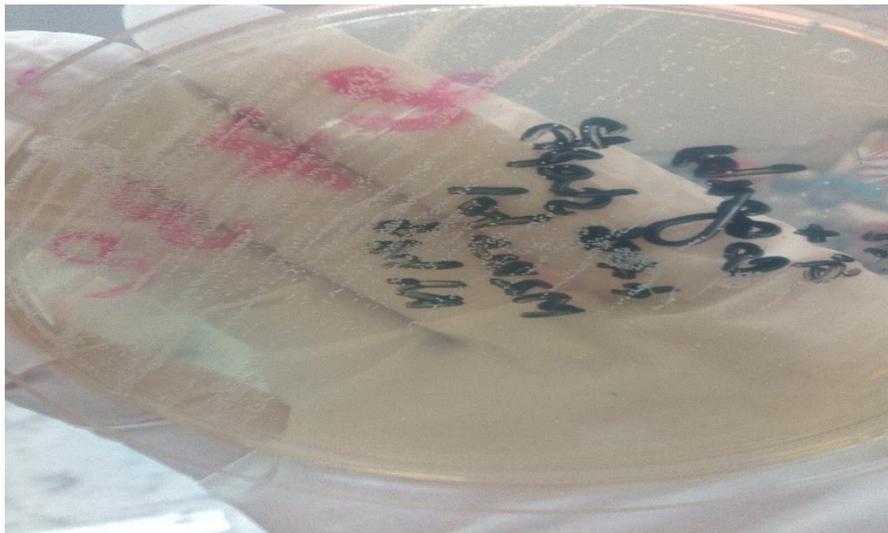


Figure 03 : aspect des colonies de SCN



Figure 04 : Coagulase positive

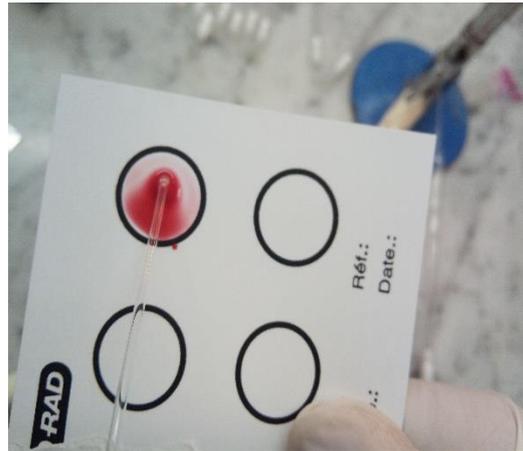


figure05 : Coagulase négative



Figure06: test Mannitol négative (SCN)



Figure 07: test Mannitol positive (SCP)

Résumé :

L'étude a été effectuée à l'hôpital Dr SAADANE pendant l'année 2017. Afin d'évaluer la résistance des souches de *Staphylococcus SCP* et *SCN* aux antibiotiques.

La sensibilité des souches est déterminée par l'antibiogramme.

Lors de notre enquête ; nous avons compté 189 souches de Staphylocoques, y compris 105 souches d'espèce *Staphylococcus aureus* et 84 souches d'espèce *SCN*.

Les *SCP* sont très répandues dans le service de Médecine interne des hommes, nous obtenons les premiers principalement à partir du prélèvement de pus cutanée (28.04%). Alors que les secondes sont obtenues principalement d'ECBU (11.64%).

Les *SCN* sont très répandues dans le service femmes (10.05%).

L'étude a montré une résistance aux antibiotiques pour les deux espèces :

SCP : pénicilline, Erythromycines, kanamycine (100%).

SCN : Pénicilline, l'oxacilline, kanamycine, Rifampicine (100%).

La propagation des souches de Staphylocoques résistantes aux antibiotiques est devenue un obstacle inquiétant pour les patients ainsi que le personnel médical rendant la thérapie limitée ; Donc il doit prendre en compte les conditions nécessaires à l'utilisation des antibiotiques et le respect des mesures d'hygiène et de prévention.

Mots-clés : *Staphylococcus* à coagulase positive, *Staphylococcus* à coagulase négative, antibiotiques, résistance aux antibiotiques, la sensibilité aux antibiotiques, antibiogramme.

Summary:

Our study was conducted at the Dr. SAADANE hospital during the year 2017. To assess the resistance of *Staphylococcus SCP* and *SCN* to antibiotics.

Sensitivity of the strains was determined using the antibiogramme. During our investigation, we counted 189 strains of *staphylococci*, including 105 strains of *Staphylococcus aureus* and 84 strains of species *SCN*.

SCP are widespread in the internal medicine department of men, and we get mostly first bacteria from pus (28.04). And we get mainly of the second bacteria from ECBU (11.64 %). *SCN* are very prevalent in the service women (10.05%).

The study shows antibiotic resistance for both species:

S.aureus: penicillin, Erythromycines, kanamycin (100%).

SCN: penicillin, oxacillin, kanamycin , Rifampicine (100%).

The spread of strains of staphylococci resistant to antibiotics has become an obstacle disturbing patients and medical staff making limited therapy; so it must take into account the conditions for the use of antibiotics and compliance with hygiene and prevention measures.

Keywords: coagulas-positive *Staphylococcus*, coagulase-negative *Staphylococcus*, antibiotics, antibiotic resistance, antibiotic sensitivity, susceptibility testing.

ملخص:

قمت بأجراء دراستنا في مستشفى الدكتور سعدان، سنة 2017 بهدف تقييم مقاومة سلالات المكورات العنقودية للمضادات الحيوية *SCP*، *SCN* يتم تحديد حساسية السلالات باستعمال اختبار الحساسية.

أحصينا سلالات المكورات العنقودية فوجدنا 189 سلالة منها 105 من نوع *S.aureus* و 84 من نوع *SCN* تنتشر بشدة في قسم الرجال وتتحصل عليها بنسبة كبيرة من الصديد (القيح) (28.04%). بينما في المرتبة الثانية نجده في ECBU اما *SCN* تنتشر أكثر في قسم النساء (10.05%)

وتبين الدراسة مقاومة للمضادات الحيوية لكلا النوعين:

SCP : بنسلين، ايريتروميسين، كاناميسين (100%).

SCN: بنسلين، اوكساسيلين، كاناميسين ريفاميسين (100%)

انتشار سلالات المكورات العنقودية المقاومة للمضادات الحيوية بات هاجسا يؤرق المرضى والجهاز الطبي لذلك يجب مراعاة الشروط الضرورية لاستعمال المضادات الحيوية والالتزام بتدابير النظافة والوقاية.

كلمات البحث: *SCP* ، *SCN* ، المضادات الحيوية، مقاومة للمضادات الحيوية، حساسية للمضادات الحيوية، اختبار الحساسية.