



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohammed El Bachir El Ibrahim B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques.

Spécialité : Microbiologie Appliquée.

Intitulé :

Prévalence et antibiorésistance des bactéries appartenant au genre *Staphylococcus* identifiées dans les milieux hospitaliers de la wilaya de Bordj Bou Arreridj à l'est de l'Algérie

Présenté par :

M^{elle} BEZTOUT LILIA & M^{elle} BOUAOUINA DOUNIA

& M^{elle} BOUZIANE AMINA.

Soutenu le 24 / 06/ 2023, Devant le Jury :

Président :	Mme. CHENOUF Nadia Safia	MC B	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	M. SEDRATI Tahar	MC B	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	M. MERIBAI Abdelmalek	MC B	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2022/2023

Remerciement

Au terme de ce travail, on tient à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail.

J'ai l'honneur et le plaisir de présenter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Notre encadrant Mr SEDRATI TAHAR pour son aide accordée pour notre travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à Madame CHENOUF NADIA SAFIA et Monsieur MERIBAI Abdelmalek d'avoir accepté d'évaluer notre travail en tant que jury de cette soutenance.

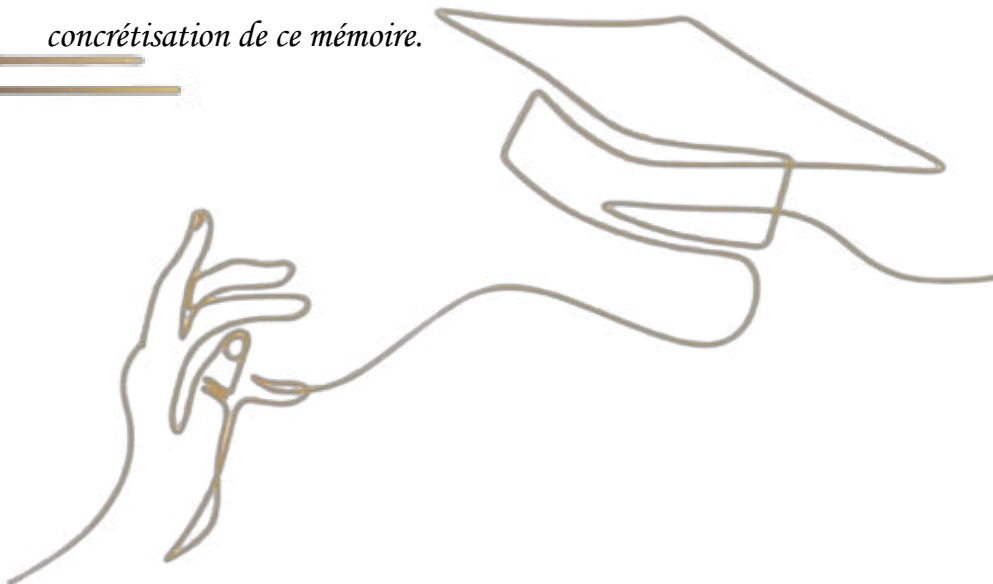
Nous remercions également nos professeurs pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont procuré et de nous avoir guidé au cours des années passées à l'Université.

Merci aux ingénieurs des laboratoires de microbiologie appliquée, pour leur aide et leur disponibilité tout au long de notre travail pratique.

Nous tenons également à remercier le personnel de l'hôpital BOUZIDI de nous avoir accueillis dans leur laboratoire et pour la confiance et l'aide qu'ils nous ont accordé.

Nos profond remerciement au Dr RAFIK BEGHOURA D'avoir mis à notre disposition son laboratoire pour ça patience et son aide tout au long du travail effectué.

Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.



Dédicace

Je remercie tout d'abord dieu qui a illuminé mon chemin et m'a accordé la force et la persévérance nécessaires pour accomplir ce travail.

Je souhaite dédier ce mémoire à toutes les personnes qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de ce parcours académique.

À mes chers parents, votre présence bienveillante est une bénédiction dans ma vie. Votre amour inconditionnel, vous avez sacrifié tant de choses pour me permettre d'atteindre mes objectifs, et je ne pourrai jamais vous remercier assez. Votre confiance en moi m'a donné la force de persévérer, même lorsque les défis semblaient insurmontables. Je suis fière de vous avoir comme parents et honorée d'être votre enfant.

À mes sœurs adorées Imen, Asma, Aya, Noor El Houda, Tasnim, vous avez partagé mes rires, séché mes larmes et célébré mes succès avec une joie sincère vous êtes mes confidentes et mes soutiens inconditionnels. À mon petit frère Ayoub, tu es mon rayon de soleil, ma source d'inspiration.

À mes grands-parents, qui ont toujours été là pour moi, m'ont transmis leur sagesse et m'ont inculqué des valeurs précieuses.

À ma tante Nadia mes oncles Nabil et Djaafar dont la présence et les encouragements ont été d'un soutien inestimable tout au long de mon parcours académique et dans la vie

À mes copines Djomana et Djilia vous êtes bien plus que de simples complices de vie, vous êtes mes amies les plus chères. Vos encouragements, votre soutien indéfectible et votre présence constante m'ont donné la force de continuer à avancer.

À ma sœur d'une autre mère Feriel pour votre précieuse amitié et votre amour inconditionnel, pour votre soutien et encouragements inspirants ont rendu ce parcours plus doux.

À mon trinôme Dounia et Amina, qui ont partagé avec moi des moments précieux d'apprentissage, de rire et de soutien. Ce mémoire est le fruit de nos efforts collectifs et je suis reconnaissant envers chacune de vous.

*Avec tout mon amour et ma reconnaissance, **Beztout Lilia***



Dédicace

*Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail. Je tiens c'est avec immense plaisir que je dédie à
A ma tendre mère pour ton amour ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

A mon très cher père qui a semé en moi le respect et l'amour de la science grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité tu es le meilleur papa qui a toujours fait de ton mieux avec nous.

Je vous aime beaucoup.

A mes sœurs Lila, Fayza, Rima et Sabrina merci pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions. Merci pour tout votre amour et votre confiance et pour votre énorme support pendant la rédaction de mon projet.

A mes nièces Dania, Darine, Khadija et Meriem Lorsque vous êtes entrés dans nos vies, vous avez rendus tout lumineux et beau. Je vous aime mes amours.

Et mes beaux-frères Faouz, Farid, Toufik et Abedel latif, j'ai de la chance de vous avoir. Je dédie ce travail à la mémoire de ma grande mère que dieu garde son âme dans sa vaste paradis.

Je suis très reconnaissant envers mes chères Feriel et Djomana pour leur soutien et leurs encouragements inestimables tout au long de ce projet

Sans oublier mes meilleures amies Amina et Lilia je les remercie pour leur soutien moral, leur patience et leur compréhension tout au long de ce projet.

Bouaouina Dounia



Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soit les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimé mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect qu'il n'a jamais cessé de m'encourager, de prier et sacrifié pour moi mon cher père.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse mon adorable mère.

A mon chère frère Abderrahim, et ma chère sœur Sara, qui n'ont pas cessé de m'encourager, conseiller et soutenir tout au long de mes études. Que dieu les protège et leur offre le bonheur, la joie et la réussite.

A mes chères Feriel et Djomana, je les remercié du plus profond de mon cœur pour leur soutien et encouragement tout au long de ce travail.

Sans oublier mes chères trinômes Dounia et Lilia pour leur bienveillance, amour, patience, compréhension et leur soutien moral tout au long de ce projet.

Bouziane Amina.

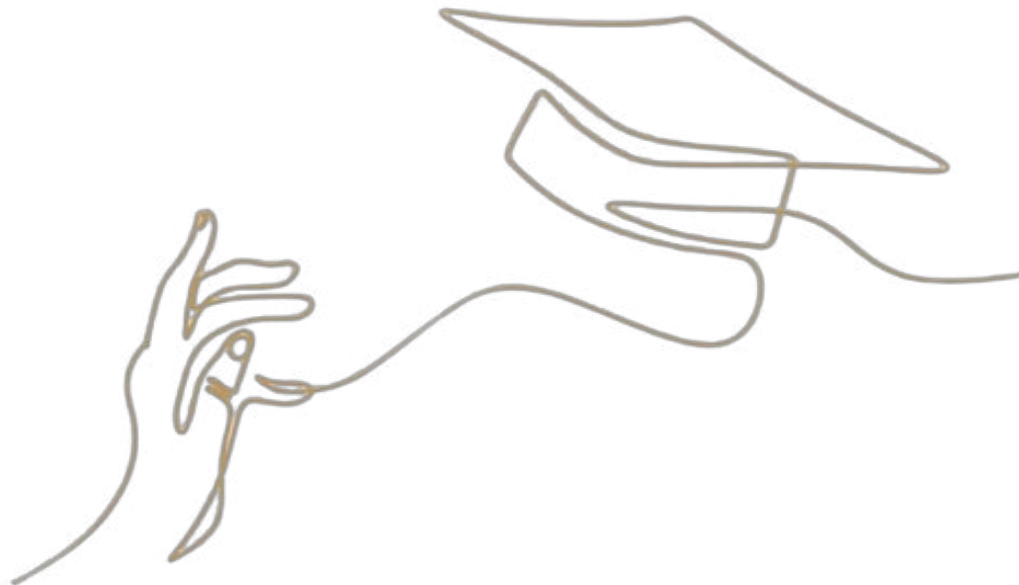




Table des matières

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste d'abréviation	
Introduction.....	1
Chapitre I : Matériel et Méthodes	
I.1.Objectif	5
I.2.Lieux et période de l'étude.....	5
I.3. Matériel.....	5
I.4. Méthodes.....	5
I.4.1. Stratégie d'échantillonnage.....	5
I.4.1.1.Nature des échantillons.....	5
I.4.1.2.Transport des échantillons.....	6
I.5.Prélèvement.....	6
I.6.Analyses bactériologiques.....	7
I.6.1.Enrichissement des souches.....	7
I.6.2. Isolement.....	8
I.6.2.1. Mode opératoire.....	8
I.6.3. Purification.....	9
I.6.4. Identification.....	9
I.6.4.1. Etude macroscopique.....	9
I.6.4.2.Etude Microscopique.....	9
I.6.4.2.1.Coloration de Gram.....	9
I.7.Tests biochimiques.....	10
I.7.1.Test de catalase.....	10
I.7.2.Test de l'oxydase.....	11
I.7.3.Test de coagulase.....	12
I.7.4.Test hémolyse.....	12
I.8.Identification du type respiratoire.....	13
I.9.Conservation des souches.....	14

I.10. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	14
I.10.1. Liste des antibiotiques utilisés.....	14
I.10.2. Principe.....	15
I.10.3. Milieu.....	15
I.10.4. Réalisation de l'antibiogramme.....	15
I.10.4.1. Préparation de l'inoculum.....	15
I.10.4.2. Ensemencement.....	15
I.10.4.3. Application des disques d'antibiotiques.....	15
I.10.4.4. Incubation.....	16
I.10.4.5. Lecture interprétative.....	16
I.10.4.6. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à l'oxaciline ou à la méthicilline.....	17
Chapitre II : Résultats et Discussion	
II.1. Résultats.....	18
II.1.1. Résultats d'analyses bactériologiques.....	18
II.1.1.1. Résultat d'enrichissement.....	18
II.1.1.2. Résultat d'isolement.....	18
II.1.1.3. Fréquence d'isolement.....	19
II.1.1.4. Résultat de purification.....	19
II.1.1.5. Résultats d'identification.....	20
II.1.1.5.1. Résultat de l'étude macroscopique.....	20
II.1.1.5.2. Résultat de l'étude microscopique.....	20
II.1.1.5.2.1. Coloration de Gram.....	20
II.1.2. Résultats des tests biochimiques.....	21
II.1.2.1. Résultat de test catalase.....	21
II.1.2.2. Résultat de test oxydase.....	21
II.1.2.3. Résultat de test coagulase.....	22
II.1.2.4. Résultat de test hémolyse.....	23
II.1.3. Résultats d'identification du type respiratoire.....	24
II.1.4. Résultat de test de sensibilité aux antibiotiques.....	24
II.1.4.1. Pourcentage de La résistance des <i>S.aureus</i> selon les familles d'antibiotiques.....	27
II.1.4.2. La résistance des <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative selon les familles d'antibiotiques.....	27

II.1.4.3. Fréquence des <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticiline ou à l'oxaciline	29
II.1.5.Facteurs de risque.	30
II.1.5.1.Répartition des Staphylocoques selon le sexe	30
II.1.5.2.Répartition des <i>S.aureus</i> selon le sexe	31
II.1.5.3.Répartition des Staphylocoques selon l'âge	31
II.1.5.4.Répartition des <i>S.aureus</i> selon l'âge	32
II.1.5.5.Répartition des Staphylocoques selon le site de prélèvement	32
II.1.5.6. Répartition des <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticiline ou à l'oxaciline selon le site de prélèvement	33
II.2. Discussion	34
II.2.1.La résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques	34
II.2.1.1.La résistance des <i>S.aureus</i> à la famille de β -lactamine	34
II.2.1.2. La résistance des <i>S.aureus</i> aux Macrolides	35
II.2.1.3. La résistance des <i>S.aureus</i> aux Aminosides	36
II.2.1.4. La résistance des <i>S.aureus</i> aux Lincosamides	36
II.2.1.5. La résistance des <i>S.aureus</i> aux Glycopeptides	36
II.2.1.5. La résistance des <i>S.aureus</i> aux autres antibiotiques	36
II.2.2.1. Fréquence des SARM	37
II.2.2.2. Fréquence des SARM liée aux sites de prélèvement	38
II.2.3. Répartition des <i>S.aureus</i> selon l'âge	38
II.2.4. Répartition des <i>S.aureus</i> selon le sexe	39
Conclusion et Perspectives	40

Listes des références bibliographiques

Annexe

Résumé

الملخص

Abstract



Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I : Différents types d'échantillonnage.....	6
Tableau II : Les antibiotiques testés contre le genre <i>Staphylococcus</i>	14
Tableau III : Répartition de la fréquence d'isolement.....	19
Tableau IV : Répartition du pourcentage des résultats du test de coagulase.....	22
Tableau V : Pourcentages de résistance des <i>S.aureus</i>	25
Tableau VI : Pourcentages de résistance des <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative.....	26
Tableau VII : Pourcentages de résistance des <i>S.aureus</i> selon les familles d'antibiotiques.....	27
Tableau VIII : Pourcentages de résistance des <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative selon les familles d'antibiotiques.....	28
Tableau IX : Répartition du pourcentage des résultats de <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline ou à l'oxacilline.....	29



Liste des figures

Liste des figures

Figure1: Photographie représentative de quelques échantillons utilisés lors de cette étude.....	7
Figure 2: Enrichissement des échantillons.....	8
Figure3: Schéma représentatif de la technique d'ensemencement employer sur le milieu Chapman.....	9
Figure4: Schéma explicatif de la technique de réalisation de la coloration de Gram.....	10
Figure5: Schéma explicatif de la technique de réalisation du test de catalase.....	11
Figure 6: Schéma explicatif de la technique de réalisation du test de l'oxydase.....	11
Figure7 : Schéma explicatif de la technique de réalisation du test de coagulase.....	12
Figure8: Schéma explicatif de la technique de réalisation du test hémolyse.....	13
Figure9: Schéma explicatif de la technique employer pour l'identification du type respiratoires.....	13
Figure10 : Schéma explicatif de la réalisation l'antibiogramme	16
Figure11: Schéma représentatif de l'interprétation des résultats de l'antibiogramme.....	16
Figure12: Photographie représentative des prélèvements après enrichissement.....	18
Figure13: Photographie représentative des colonies du genre <i>Staphylococcus</i> sur milieu Chapman.....	18
Figure14 : Représentation graphique de la fréquence d'isolement.....	19
Figure15: Photographie représentative des souches staphylocoques sur Gélose nutritive.....	19
Figure16: Photographie présentant des colonies du genre <i>Staphylococcus</i> sur milieu Chapman.....	20
Figure17: Observation de <i>S.aureus</i> sous microscope optique (grossissement x100).....	21

Figure18: Photographie représentative de test catalase chez le genre <i>Staphylococcus</i>	21
Figure19: Photographie représentative de test oxydase chez le genre <i>Staphylococcus</i>	21
Figure20: Photographie représentative de test coagulase chez <i>Staphylococcus</i>	22
Figure21: Représentation graphique du pourcentage des résultats du test de coagulase.....	23
Figure22: Photographie présentant le changement de couleur de la gélose au sang frais autour des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Figure23: Photographie représentative de type respiratoire chez le genre <i>Staphylococcus</i>	24
Figure24: Photographie représentative d'antibiogramme sur milieu Muller-Hinton.....	24
Figure25: Représentation graphique du pourcentage de résistance des <i>S.aureus</i> et des <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative aux différents antibiotiques.....	26
Figure26: Pourcentage de résistance des <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative selon les familles d'antibiotiques.....	29
Figure27: Représentation graphique de la fréquence des <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline ou à l'oxacilline	30
Figure28 : Pourcentage de la répartition des staphylocoques selon le sexe.....	30
Figure29 : Pourcentage de la répartition de <i>S.aureus</i> selon le sexe.....	31
Figure30 : Pourcentage de la répartition des staphylocoques selon l'âge.....	31
Figure31 : Pourcentage de la répartition de <i>S.aureus</i> selon l'âge.....	32
Figure 32: Représentation graphique du pourcentage de la répartition de staphylocoques selon le site de prélèvement.....	33
Figure 33 : Pourcentage de la répartition des <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline ou à l'oxacilline selon le site de prélèvement.....	33



Liste d'abréviation

Liste d'abréviation

~ : Environ.

® : Signe commercial.

µm : Micromètre.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATM : Aztreonam.

CHL : Chloramphénicole.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMN : Clindamycine.

CTX : Céfotaxime.

Erm : Erythromycin ribosome methylation.

ERY : Erythromycine.

EUCAST : Comité européen des tests de sensibilité aux antimicrobiens.

FC : Acide fusidique.

G- : Gram négatif.

G+ : Gram positif.

GMN : Gentamycine.

GN : Gélose nutritive.

H : Heure.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

MC Farland : Mac Farland.

Mcg : Microgramme.

MH : Mueller-Hinton.

ml : Millilitre.

Mm : Millimètre.

Msr : Macrolide efflux pump.

NaCl : Chlorure de sodium.

NET : Nétilmycine.

OFX : Ofloxacine.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

OXC : Oxacilin.

PBP2a : Pénicillin-binding protein 2a.

PEN : Pénicilline G.

pH : Potentiel hydrogène.

RP : Pristinamycine.

S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*.

S. haemolyticus : *Staphylococcus haemolyticus*.

S. saprophyticus : *Staphylococcus saprophyticus*.

S.aureus : *Staphylococcus aureus*.

SARM : *S.aureus* résistante à la méticilline.

SASM : *S.aureus* sensible à la méticilline.

SCN : *Staphylococcus aureus* a coagulase négative.

SCP : *Staphylococcus aureus* a coagulase positive.

SP : Spiramycine.

TE : Tétracycline.

VA : Vancomycine.

VF : Viande foie.

VISA : *Staphylococcus aureus* intermédiaire à la vancomycine.

VRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine.

VSSA : *Staphylococcus aureus* sensible à la vancomycine.

α : Alpha.

β : Beta.

μL : Microlitre.



Introduction

Introduction

Les staphylocoques, les streptocoques et les pneumocoques font parties d'un groupe d'agents pathogènes opportunistes, dénommés *cocci pyogènes* (Alioua, 2015). Le staphylocoque peut engendrer de nombreuses infections. *Staphylococcus aureus* est l'un des principaux pathogènes des infections nosocomiales et communautaires. Il a été premièrement découvert en 1880 à Aberdeen, en Écosse, par le chirurgien Alexander Ogston de patients atteints d'ulcères (Guo et al., 2020). *S.aureus* appartient au genre *Staphylococcus*, de la famille des Staphylococcaceae. Il s'agit de cocci à Gram positif regroupé en amas (grappe de raisin) d'environ 1 micromètre de diamètre, aérobic facultatif et mésophile (une croissance optimale à 37°C). Elle possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma), ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques, et une catalase. La bactérie est capable de s'adapter à de forte concentration en sel (halotolérante), asporulé, immobile et non flagellé. Lors de l'infection, *S.aureus* est capable de produire une capsule polysaccharidique afin d'échapper de la phagocytose (Ivain et Cossart, 2017).

S.aureus est une bactérie commensale qui habite les zones humides de la peau et de la muqueuse, principalement dans les narines antérieures de l'homme (Gebremeskel et al., 2022). Elle colonise de manière persistante environ 20 % de la population humaine, tandis que 20 % sont considérés comme des non-porteurs. Les 60 % restants de la population sont classés comme des porteurs intermittents (Laux et al., 2019).

Le staphylocoque doré est l'agent pathogène le plus courant à l'origine d'un nombre significatif d'infections invasives graves dans le monde chaque année (Cheung et al., 2021). Les infections à *S.aureus* sont réparties en infections superficielles, infections à médiation toxique et infections invasives. *S.aureus* entraîné des lésions superficielles allant des boutons plus doux et des furoncles à une infection majeure comme les orgelets et les abcès. Après la pénétration de la barrière cutanée, *S.aureus* est susceptible d'induire des infections musculaires et squelettiques, notamment l'ostéomyélite (infection de l'os) et l'arthrite septique. Ces dernières peuvent conduire à des infections sévères tels que, la bactériémie, l'endocardite et la septicémie (Hemmadi et Biswas, 2021). Les souches contenant des toxines spécifiques peuvent être liées à des états pathologiques particulières y compris le syndrome du choc toxique, l'intoxication alimentaire, le syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée et la pneumonie nécrosante (Alioua, 2015).

Staphylococcus aureus est un pathogène redoutable qui a développé divers mécanismes de résistance aux antibiotiques, incluant :

- Résistance par mutation : une altération dans la gyrase de l'ADN cible ou une diminution des protéines des membranes externes par des mutations génétiques

transforme le *S.aureus* en pharmacorésistants. Par exemple : le principe de la résistance à la clindamycine et à l'érythromycine est induit par un changement de la méthylase de l'ARN ribosomique.

- Acquisition de gène de résistance : la résistance acquise est un mécanisme de résistance plasmidique, à cause des processus tels que la transduction, la transformation et l'insertion de gènes pharmacorésistants une surexpression de β -lactamase peut se produire, entraînant ainsi une résistance bactérienne. Dans le cas spécifique du SARM, le mécanisme de résistance est principalement attribué à la présence de plasmides, qui permettent la transmission de gènes pharmacorésistants entre *S.aureus* et d'autres bactéries. Par exemple le SARM peut acquérir des plasmides résistants aux médicaments provenant d'*Enterococcus*, ce qui contribue à accroître et renforcer sa résistance.
- Résistance médiée par le biofilm : le biofilm bactérien est une structure extracellulaire complexe qui se forme lorsque des populations microbiennes s'attachent à une surface de substrat. A l'intérieur de ces biofilms, les microorganismes sont entourés d'une matrice de polymère extracellulaire hautement hydratée, produite par eux-mêmes. Cette matrice joue un rôle crucial en offrant une protection et en permettant aux bactéries de s'adapter à leur environnement. Cette résistance assure l'empêchement des réponses immunitaires de l'hôte et de survivre à l'action destructrice des antibiotiques.
- Cellules persistantes en résistance aux antibiotiques : les cellules persistantes désignent un sous-ensemble restreint de cellules au sein d'une population microbienne qui présentent une homogénéité génétique mais une hétérogénéité phénotypique. Ces cellules se caractérisent par une croissance lente voire dormante, ainsi que leur capacité à survivre à des concentrations élevées d'antibiotiques. Les premières études ont suggérés que contrairement à la résistance aux antibiotiques, la persistance bactérienne est un état physiologique temporaire des bactéries qui leur permet de résister au stress induit par les antibiotiques sans modifications de leur génotype (**Guo et al., 2020**).

Au cours de la dernière décennie, l'utilisation des antibiotiques a été excessive et incontrôlée à la fois en médecine humaine et vétérinaire. En conséquence, la pression de sélection exercée sur les micro-organismes, qu'ils soient commensaux ou pathogènes, a conduit à une augmentation de la prolifération des bactéries résistantes aux antibiotiques usuels (**Ouidri, 2018**), notamment à toutes les pénicillines existantes et autres β -lactamines, ainsi que l'émergence de souches de *S.aureus* résistantes à la méticilline (SARM) (**Alioua,**

2015). Le SARM comprend : (le SARM-C) acquis en milieu communautaire exigé en dehors du système de santé, et (le SARM-H) acquis en milieu hospitalier par les patients (**Laux et al., 2019**), qui suscitent une préoccupation majeure, en particulier dans les unités à haut risque telles que les salles chirurgicales qui traitent des patients extrêmement vulnérable à la colonisation et, par conséquent, à l'infection (**Rebiahi et al., 2011**).

Actuellement la vancomycine est couramment employé dans le traitement des infections attribués au SARM (**Cong et al., 2020**), qui est considérée comme un traitement stratégique (**Bitrus et al., 2018**).

Récemment, il a été observé une sensibilité réduite à la vancomycine chez ces bactéries, qui sont classées en trois catégories par l'Institut des Normes Cliniques et de Laboratoire : *S.aureus* sensible à la vancomycine (VSSA), *S.aureus* intermédiaire à la vancomycine (VISA) et *S.aureus* résistant à la vancomycine (VRSA) (**Cong et al., 2020**). Selon l'OMS, les souches *S.aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) et au vancomycine sont considéré comme une menace mondiale pour la santé humaine ou un phénomène mondial préoccupant qui plaçait les médecins dans une impasse thérapeutique (**Helen et Ashlesha, 2019**).

Il a été constaté que le mécanisme principal de la résistance à la vancomycine consiste en une liaison spécifique de la vancomycine aux petits peptides du précurseur de peptidoglycane présents dans la paroi cellulaire bactérienne, avec une extrémité en D-alanyl-D-alanine. Cette liaison inhibe l'allongement et la liaison des peptidoglycanes de la paroi cellulaire bactérienne, ce qui entraîne une suppression de la paroi cellulaire et provoquant la mort bactérienne. Cependant, il y a une préoccupation croissante dans le milieu médical concernant l'augmentation quotidienne de la résistance de *Staphylococcus aureus* à la vancomycine (**Guo et al., 2020**).

De plus, l'apparition de bactéries résistantes a entraîné une utilisation souvent anarchique et/ou abusive des antibiotiques de dernier recours, tels que la vancomycine pour traiter les infections causées par des bactéries à Gram positif. Cette utilisation inappropriée a engendré l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques de dernier recours.

C'est dans ce contexte, et au vu de la rareté d'informations concernant la prévalence des bactéries du genre *Staphylococcus* résistantes au vancomycine dans les milieux hospitaliers en Algérie en général, et particulièrement dans la région de Bordj Bou Arreridj , nous nous sommes intéressés à déterminer les objectifs suivants :

I- L'isolement et l'identification de bactéries du genre *Staphylococcus* dans les milieux hospitaliers de la ville de Bordj Bou Arreridj.

II- Etudier quelques facteurs de risque susceptibles de favoriser l'apparition des infections en milieux hospitaliers associées aux bactéries du genre *Staphylococcus*.

III- Evaluer la sensibilité aux antibiotiques *in vitro* de ces germes isolés à partir de prélèvements en milieux hospitaliers la ville de Bordj Bou Arreridj.



Matériel et Méthodes

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1. Objectif

- L'objectif de cette étude est d'isoler et d'identifier les bactéries appartenant au genre *Staphylococcus* présentes dans les milieux hospitaliers de la ville de Bordj Bou Arreridj.
- Etudier certains facteurs de risque qui pourraient favoriser l'apparition d'infections nosocomiales associées aux bactéries du genre *Staphylococcus* dans les environnements hospitaliers.
- Evaluer *in vitro* la sensibilité aux antibiotiques de ces souches bactériennes isolées à partir d'échantillons prélevés dans les milieux hospitaliers de la ville de Bordj Bou Arreridj.

I.2. Lieux et période de l'étude

Cette étude a été réalisée conjointement dans les laboratoires suivants :

- Laboratoire de Microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers de l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimy, Bordj Bou Arreridj.
- Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Bouzidi Lakhdar, Bordj Bou Arreridj.
- Laboratoire du Vétérinaire R. Beghoura, Bordj Bou Arreridj.

L'étude s'est réalisée sur deux mois : de 26 Février 2023 au 07 Mai 2023.

I.3. Matériel

Tous les appareils, matériaux, colorants et milieux de cultures ainsi que leur composition utilisés lors de cette étude sont indiqués dans l'Annexe.

I.4. Méthodes

I.4.1. Stratégie d'échantillonnage

I.4.1.1. Nature des échantillons

Au cours de cette étude, 43 échantillons ont été soumis à la recherche et à l'identification du genre *Staphylococcus*, répartis entre hôpital BENABID Ahmed, hôpital BOUZIDI Lakhdar et la Maternité dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj. Nous avons prélevé un assortiment d'échantillons dans le but d'augmenter nos chances de détecter la présence prédominante de *Staphylococcus* dans les établissements hospitaliers.

Les informations recueillies pour chaque patient incluant leur sexe, leur âge, la date du prélèvement, le type d'échantillon et la maladie sont indiquées dans l'Annexe (fiche de renseignements).

La collecte des échantillons a été effectuée par le personnel médical, et tous les échantillons sont répertoriés dans le tableau ci-dessous (**Tableau I**)

Tableau I : Différents types d'échantillonnage.

Type de prélèvement	Nombre	Lieux
Cathéter	5	Hôpital BENABID
	1	Hôpital BOUZIDI
Cathéter à double lumière	1	Hôpital BOUZIDI
Tube trachéal	2	Hôpital BOUZIDI
	1	Hôpital BENABID
Sonde vésicale	3	Hôpital BOUZIDI
Matériel et instruments maternité	12	Maternité
Prothèse	1	Hôpital BOUZIDI
Urine	1	Hôpital BOUZIDI
Pus	2	Hôpital BOUZIDI
Liquide pleural	5	Hôpital BOUZIDI
Liquide péritonéal	1	Hôpital BOUZIDI
Pleurésie purulente	1	Hôpital BOUZIDI
Kyste pré-nasal	1	Hôpital BOUZIDI
Prélèvement nasal	2	Laboratoire privé
Contenu vésiculaire	1	Hôpital BOUZIDI
Hémoculture	2	Hôpital BOUZIDI
Prélèvement distal protégé	1	Hôpital BOUZIDI

I.4.1.2. Transport des échantillons

Une fois les échantillons sont prélevés avec des mesures stériles par le personnel médical, ils sont placés dans une glacière à une température comprise entre 4 et 6°C afin d'éviter toute destruction de l'échantillon ou modification de sa teneur initiale en germes (**Larpen et al., 1990**).

I.5. Prélèvement

- Les cathéters et tous types de sonde : le prélèvement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile humidifié (imbibé) dans l'eau physiologique stérile. Ce dernier est

appliqué sur le point à contrôler en effectuant des mouvements de rotation pendant 10 secondes.

- Le Pus et les échantillons liquides arrivent dans des seringues stériles. Le prélèvement consiste à recueillir une petite quantité.
- L'urine et l'hémoculture sont récupérées dans des flacons stériles. Le prélèvement est effectué à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.

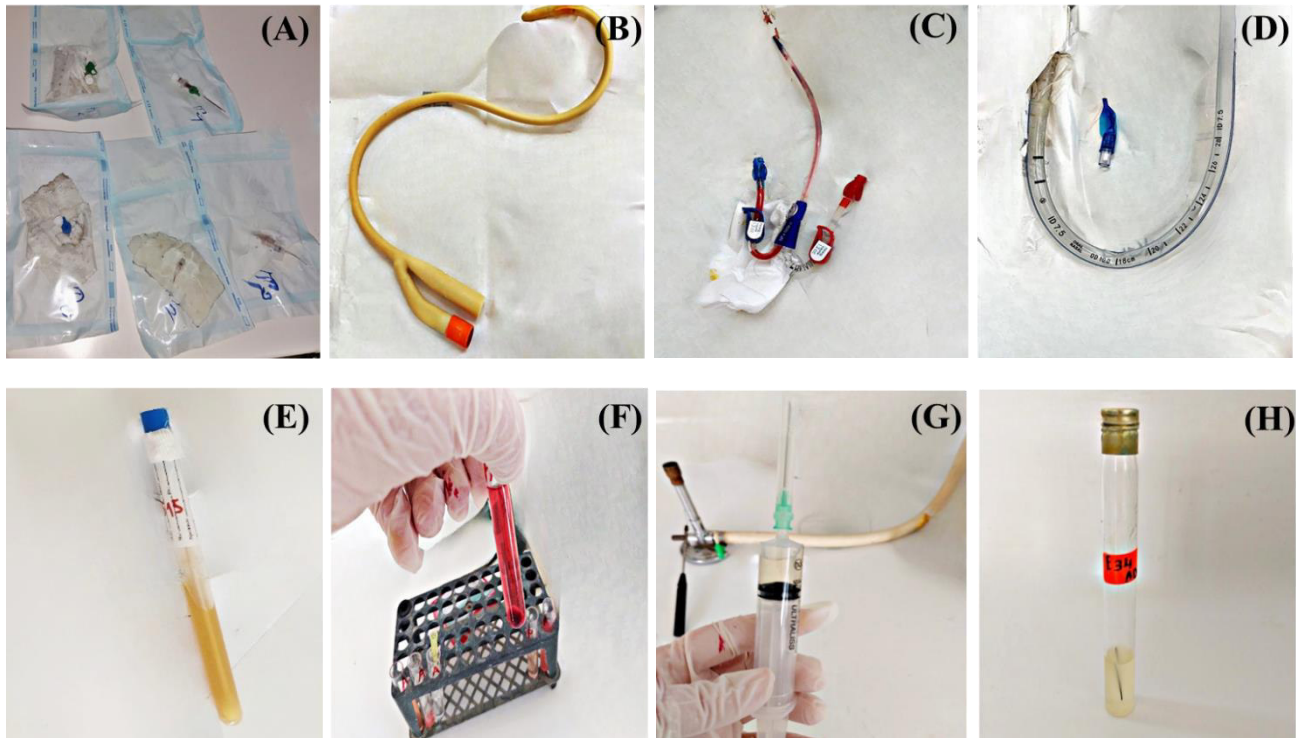


Figure 1 : Photographie représentative de quelques échantillons utilisés lors de cette étude. (Photographie personnelle). (A) : Cathéter ; (B) : Sonde vésicale ; (C) : Cathéter à double lumière (D) : Tube trachéal ; (E) : Urine ; (F) : Kyste pré-nasal ; (G) : Pus ; (H) : Prélèvement distal protégé.

I.6. Analyses bactériologiques

I.6.1. Enrichissement des souches

Pour l'enrichissement d'un échantillon, une petite quantité de l'échantillon est introduite dans 5ml du bouillon nutritif (**Pronadisa®**). (**Figure 2**). L'incubation à une température de 37°C pendant 24 heures permet une multiplication des microorganismes, même s'ils sont initialement présents en faible nombre dans l'échantillon. Cela favorise ainsi la croissance des microorganismes et facilite leur détection et leur identification ultérieures. (**Marchal et al., 1973**).



Figure 2 : Enrichissement des échantillons (Photographie personnelle).

I.6.2. Isolement

La technique d'isolement a été réalisée en utilisant la gélose Chapman (**Biolife®**), un milieu de culture contenant une concentration élevée de NaCl (7,5%). Cette concentration élevée de sel favorise principalement la croissance des espèces bactériennes du genre *Staphylococcus*, tout en inhibant la croissance des autres bactéries présentes. La gélose Chapman est également utilisée pour évaluer la capacité de la souche bactérienne isolée à fermenter le mannitol, une source de carbone présent dans le milieu. Pour détecter cette fermentation, un indicateur de pH appelé rouge de phénol est ajouté au milieu. Lorsque la souche bactérienne utilise le mannitol et produit de l'acide, le milieu change de couleur, passant du rouge au jaune. Cela fournit une indication visuelle de la capacité de la souche bactérienne à fermenter le mannitol (**Guiraid, 2003**).

I.6.2.1. Mode opératoire

À partir des tubes positifs à l'enrichissement, une pipette Pasteur stérile est utilisée pour prélever une à deux gouttes, qui sont ensuite déposées et étalées sur la surface de la gélose Chapman. L'ensemencement est réalisé en effectuant trois séries de stries serrées sur la gélose d'une manière délicate pour éviter d'endommager la surface de la gélose (**Figure 3**).

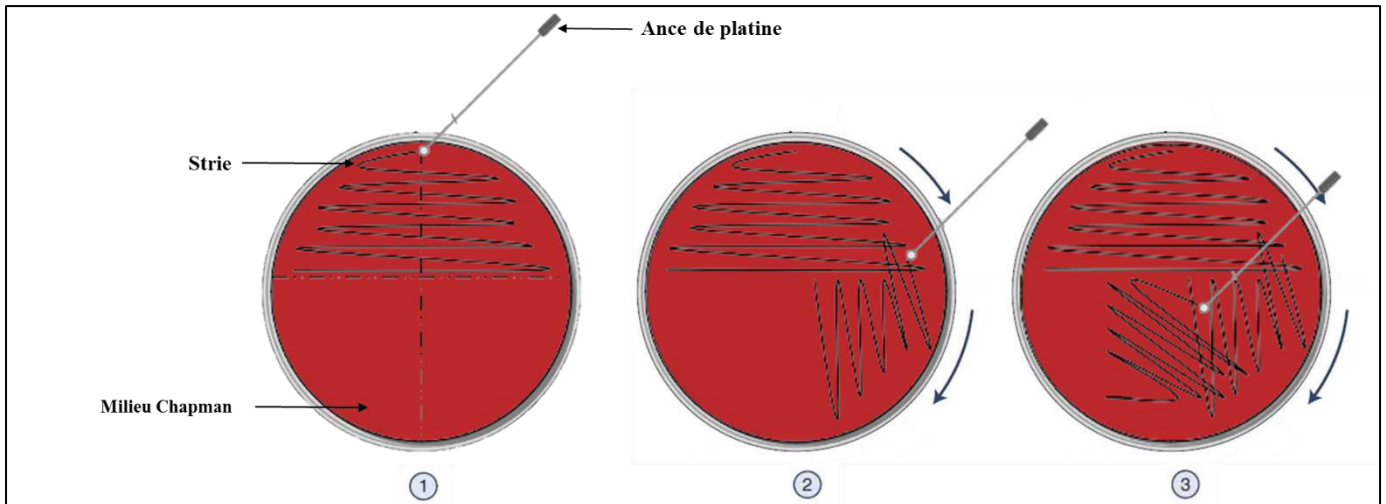


Figure 3 : schéma représentatif de la technique d'ensemencement employé sur le milieu Chapman.

I.6.3. Purification

La purification se fait par repiquage sur gélose nutritive (**BIOKAR®**) afin d'obtenir un isolat pure qui sera utilisé pour d'autres tests tels que la coloration de Gram, l'identification biochimique, l'antibiogramme...etc.

I.6.4. Identification

I.6.4.1. Etude macroscopique

Cette étude est basé sur l'observation visuelle des colonies à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire. Elle permet de décrire plusieurs caractéristiques des colonies, telles que leur taille, leur apparence, leur couleur, leur consistance, leur contour, leur opacité et leur forme.

I.6.4.2. Etude Microscopique

I.6.4.2.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram est une coloration classique en microbiologie. Elle permet de différencier les bactéries en deux types : les bactéries à Gram négatif (G-) et les bactéries à Gram positif (G+). Ces deux types de bactéries se distinguent par la composition de leur paroi, notamment l'épaisseur du peptidoglycane, et la présence ou l'absence d'une membrane externe (**Larpent et al., 1990**).

- Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de Gentiane.
- Par la suite il est rincé rapidement à l'eau distillée.
- Traité pendant une minute par une solution de Lugol.
- Rincé de nouveau rapidement à l'eau distillée.

- Le frottis coloré passe à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95 %. Il s'agit de l'étape critique : la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 2 à 3 secondes seulement (dans notre étude pendant 45 secondes) jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis.
- Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau distillée.
- À ce stade, les cellules Gram- seront incolores, les cellules Gram+ sont violettes. Ensuite, le frottis est soumis à une contre coloration de 30 secondes avec le Fushine pour colorer les cellules Gram- présentes en rose.
- Après le rinçage, on laisse le frottis sécher devant le bec bunsen et on l'examine à l'objectif (grossissement X 100) en ajoutant quelques gouttes d'huile à immersion (Singleton, 1999).

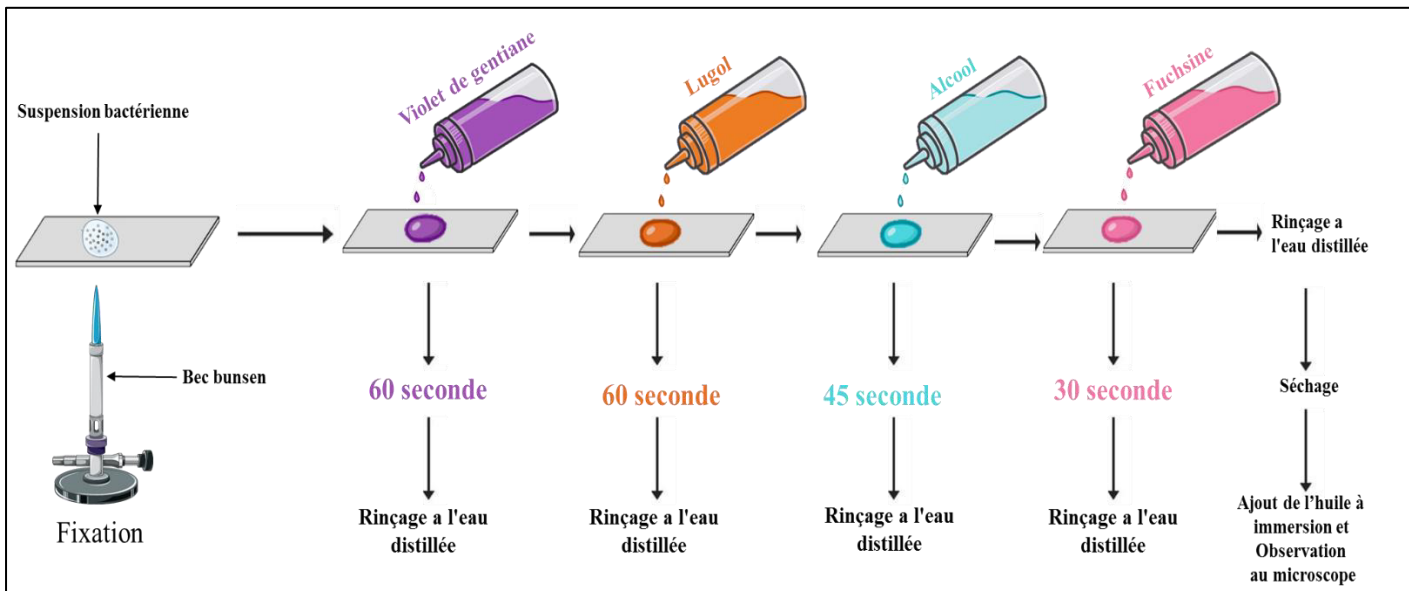


Figure 4 : Schéma explicatif de la technique de réalisation de la coloration de Gram.

I.7. Tests biochimiques

I.7.1. Test de catalase

La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif (Camille.D, 2007). Le test a été appliqué sur toutes les colonies apparues après purification.

La présence de la catalase est déterminée en dissociant à l'aide d'une pipette pasteur une quantité suffisante de la culture sur une lame contenant une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (L.B.O. Pharma®). La présence d'une catalase se manifeste rapidement par la formation de bulles d'oxygène en quelques secondes (Gerhardt et al., 1994) (Figure 5).

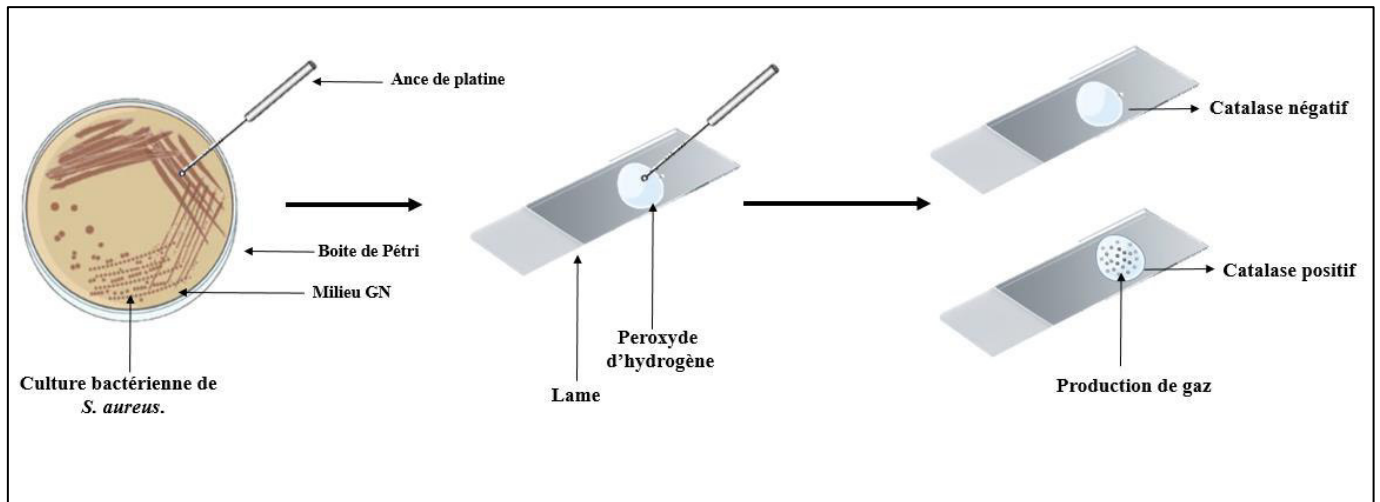


Figure 5 : Schéma explicatif de la technique de réalisation du test de catalase.

I.7.2. Test de l'oxydase

Le test d'oxydase est basé sur la production de l'enzyme indophénol-oxydase par les organismes possédant le cytochrome C. Cette enzyme, en présence d'oxygène atmosphérique, provoque l'oxydation d'un colorant redox (dihydrochlorure de Tetra méthyle para phénylène diamine) pour former un composé violet (**Kohler et al., 2009**).

A partir d'une culture purifiée sur gélose nutritive, une colonie est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur (**Aslanzadeh, 2006**), puis mise en contact avec un disque d'oxydase (**HIMEDIA®**) préalablement additionné d'une goutte d'eau physiologique. Si l'enzyme oxydase est présente chez la bactérie, cela se manifeste par un changement de couleur en violet (**Figure 6**).

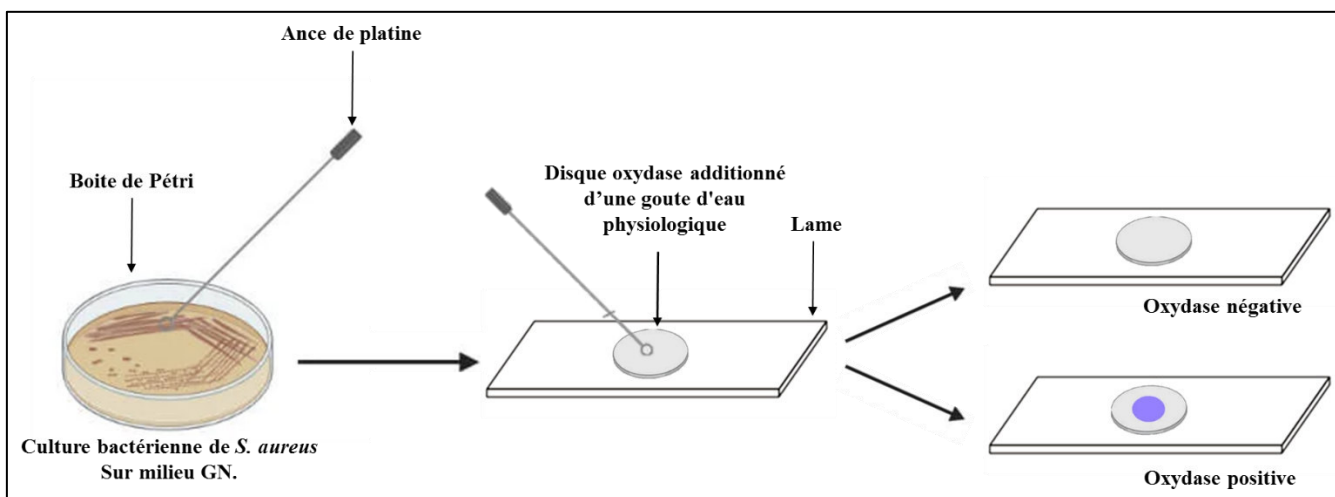


Figure 6 : Schéma explicatif de la technique de réalisation du test de l'oxydase.

I.7.3. Test de coagulase

Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur. Dans un tube à hémolyse, on mélange :

- 0,5 ml de plasma de lapin reconstitué à partir d'un lyophilisat commercialisé par différents laboratoires (dans notre étude on a utilisé le plasma humain).
- Une suspension dense d'une culture de 18 heures de la souche bactérienne à étudier.
- Le mélange est placé à l'étuve à 37 °C et incubé pendant 24 heures.

Les souches de *S.aureus* provoquent la coagulation du plasma, le plus souvent lors des trois premières heures (> 1/2 h < 24 h). La prise en masse est généralement totale mais parfois légère et plus tardive, et la réaction doit être considérée comme positive si le phénomène intervient avant 24 heure. Le mélange est observé d'heure en heure car le coagulum peut être suivi d'une redissolution du caillot provoquée par la fibrinolyse. (“Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles,” 2007).

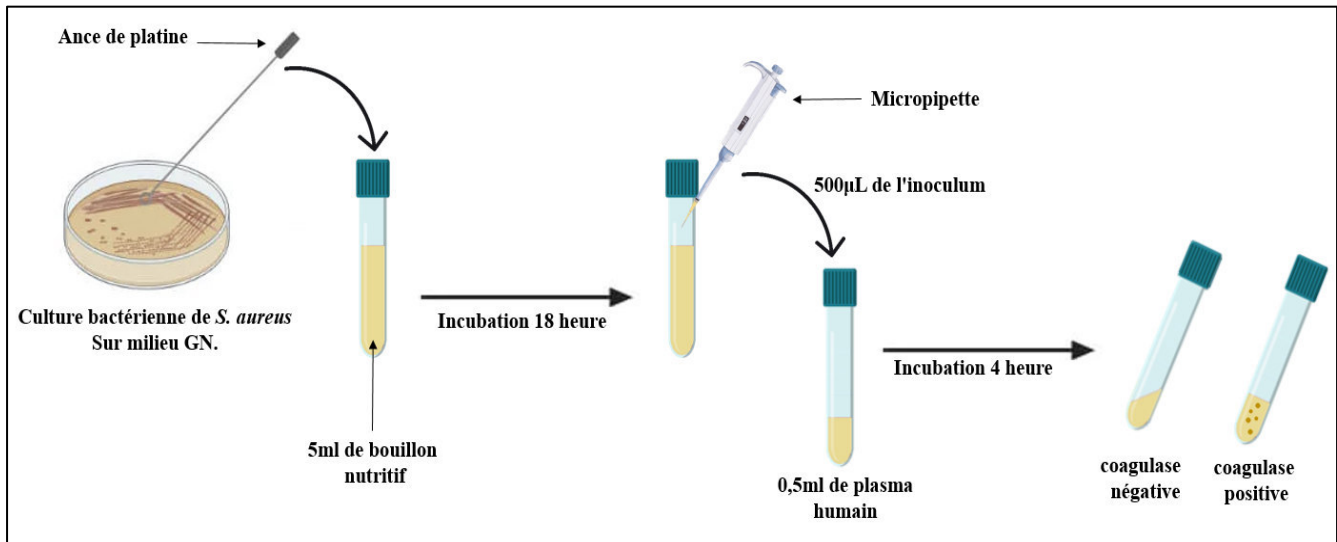


Figure 7 : Schéma explicatif de la technique de réalisation du test de coagulase.

I.7.4. Test hémolyse

La gélose au sang frais, en général sang de mouton ou de cheval, sont obtenues en ajoutant à la gélose nutritive (BIOKAR®) du sang frais dans des proportions de 5 à 10 % en volume, (dans notre étude on a utilisé du sang humain). Cette gélose favorise la croissance des bactéries exigeantes grâce à la présence de facteurs de croissance contenus dans le sang. L'ensemencement est réalisé par épuisement en effectuant deux séries de stries serrées (“Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles,” 2007).

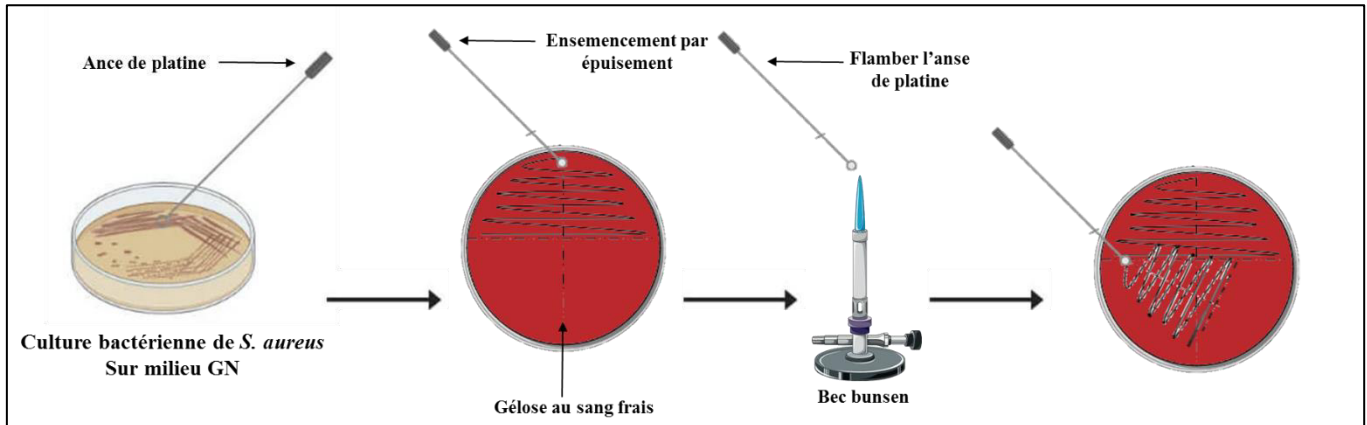


Figure 8 : Schéma explicatif de la technique de réalisation du test hémolyse.

I.8. Identification du type respiratoire

L'ensemencement est effectué sur une gélose viande-foie (VF) (**Pronadisa®**) à l'aide d'une pipette Pasteur stérile pour déposer la suspension bactérienne en effectuant des mouvements en spirale de bas en Haut.

Après 24 heures d'incubation à 37 °C, on examine le niveau du tube où une croissance bactérienne est visible. La bactérie est soit anaérobie strict, aérobie stricte ou aéro-anaérobie facultative (**"Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles," 2007**) (Figure 9).

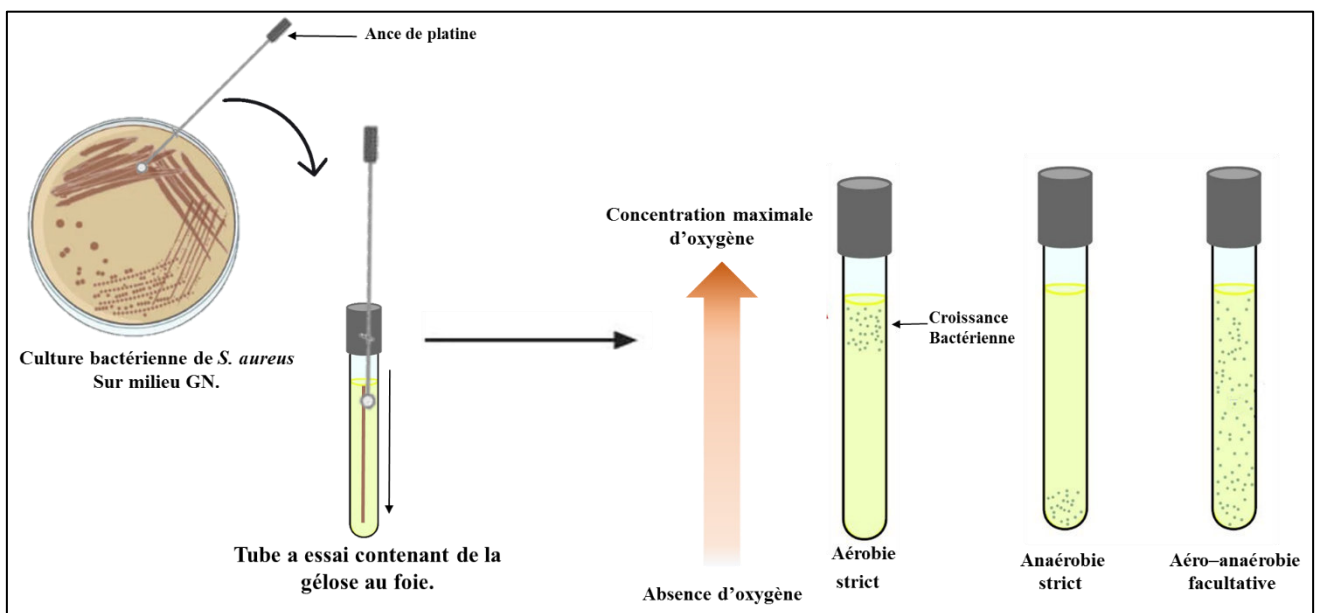


Figure 9 : Schéma explicatif de la technique employée pour l'identification du type respiratoires.

I.9. Conservation des souches

Les souches sont conservées dans des tubes contenant de la gélose nutritive à une température de 4°C. L'ensemencement est effectué par piqure centrale à l'aide d'une pipette Pasteur, suivi d'une incubation de 24 heures à une température de 37°C.

I.10. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

I.10.1. Liste des antibiotiques utilisés

La sensibilité des différentes souches de *Staphylococcus* a été déterminée vis-à-vis de 14 molécules d'antibiotiques (**Bio-Rad®**) (**Voir Tableau II**), connues pour leur activité sur ces bactéries, appartenant à différentes familles : Acide Fusidique (10 mcg), Aztreonam (30 mcg), Céfotaxime (30 mcg), Chloramphénicole (30 mcg), Clindamycine (2 mcg), Erythromycine (15 mcg), Gentamycine (10 mcg), Nétilmycine (30 mcg), Ofloxacine (5 mcg), Oxaciline (1 mcg), Pénicilline (6 mcg), Pristinamycine (15 mcg), Spiramycine (100 mcg), Tétracycline (30 mcg), Vancomycine (30 mcg).

Tableau II : Les antibiotiques testés contre le genre *Staphylococcus*.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge du disque
β-Lactamine	Pénicilline G	PEN	6 mcg
	Oxaciline	OXC	1 mcg
	Céfotaxime/ Aztreonam	CTX ATM	30 mcg 30 mcg
Macrolide	Erythromycine	ERY	15 mcg
	Spiramycine	SP	100 mcg
	Pristinamycine	RP	15 mcg
Aminoglycosides	Gentamycine	GMN	10 mcg
	Nétilmycine	NET	30 mcg
Phénicolé	Chloramphénicolé	CHL	30 mcg
Quinolone	Ofloxacine	OFX	5 mcg
Acide fusidique	Acide fusidique	FC	10 mcg
Cycline	Tétracycline	TE	30 mcg
Lincosamide	Clindamycine	CMN	2 mcg
Glycopeptide	Vancomycine	VA	30 mcg

I.10.2. Principe

Il s'agit d'un test *in vitro* de sensibilité d'une bactérie à un ou plusieurs antibiotiques, réalisé par la technique de diffusion sur milieu gélosé (Soussy, 2011). La méthode de diffusion des disques sur gélose Muller-Hinton est utilisée pour tester les souches de *Staphylococcus* isolées en les exposants à un panel de molécules d'antibiotiques conformément aux recommandations d'EUCAST 2021 (Committee et al., 2015).

I.10.3. Milieu

Nous avons utilisé la gélose Muller-Hinton (BIOKAR®) dont l'épaisseur est ~4mm, L'ensemencement doit être réalisé dans les 30 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

I.10.4. Réalisation de l'antibiogramme

I.10.4.1. Préparation de l'inoculum

- En utilisant une pipette pasteur, nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques provenant d'une culture pure et jeune de 18 à 24 heures.

- Ensuite, nous avons transféré les colonies isolées dans 5 ml d'eau physiologique stérile.
- Enfin, la suspension bactérienne a été homogénéisée jusqu'à ce que son opacité atteigne un niveau équivalent à 0,5 sur l'échelle de McFarland. (Meziani, 2012).

I.10.4.2. Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum préparé.
- Essorer l'écouvillon en le pressant fermement contre la paroi interne du tube tout en le tournant, de manière à éliminer le maximum de liquide.
- Frotter de manière rigoureuse la totalité de la gélose en effectuant des stries serrées de haut en bas.
- Répéter cette opération deux fois en effectuant une rotation de 60° de la boîte à chaque fois. On assure également de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon par la périphérie de la gélose (Courvaline et al., 2012).

I.10.4.3. Application des disques d'antibiotiques

- Placer les disques sur la gélose en utilisant une pince flambée, en exerçant une légère pression sur chaque disque afin d'assurer un contact uniforme avec le milieu.
- Ensuite, les boîtes sont laissées à température ambiante sur la paillasse pendant 30 minutes afin de permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose (Courvaline et al., 2012).

I.10.4.4. Incubation

Les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C, au plus tard 15 minutes après avoir été inoculées. (Courvaline et al., 2012).

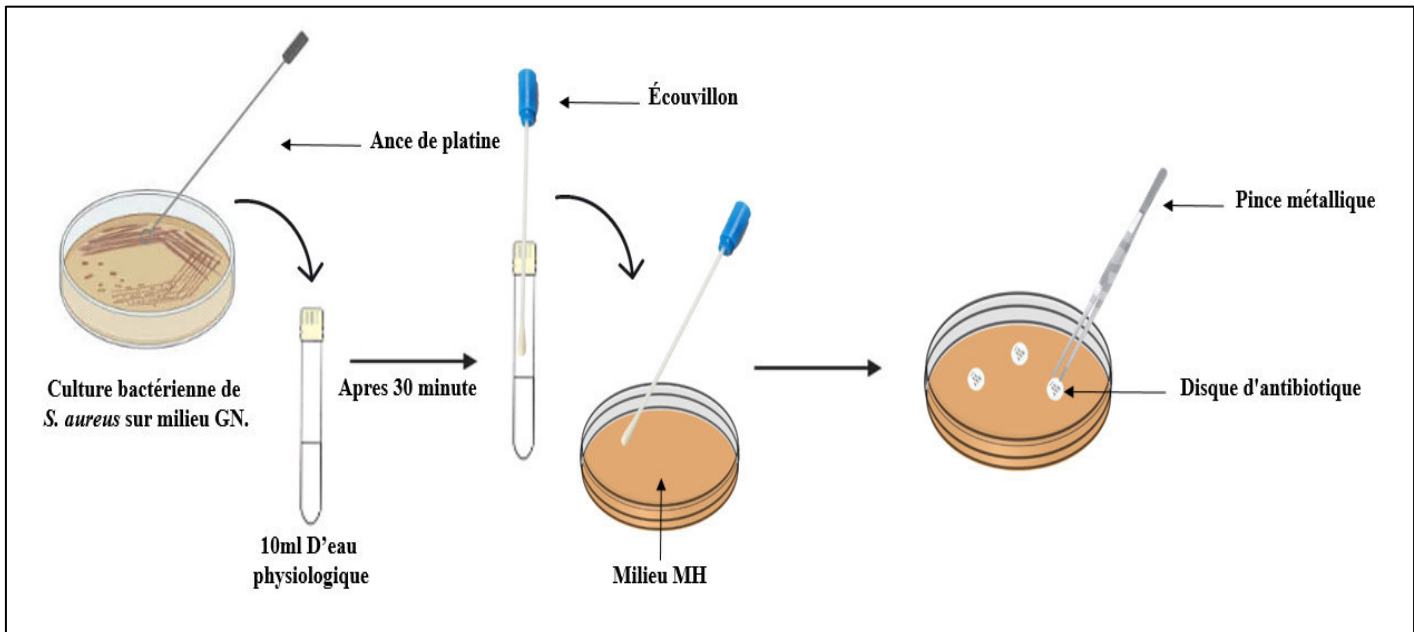


Figure 10 : Schéma explicatif de la réalisation de l'antibiogramme.

I.10.4.5. Lecture interprétative

Les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés, puis ils sont comparés aux diamètres critiques conformément aux normes d'EUCAST 2021. Il est cependant important de noter que lors de cette évaluation, une souche peut être classée comme sensible, intermédiaire ou résistante aux antibiotiques. (Courvaline et al., 2012) (Figure 11).

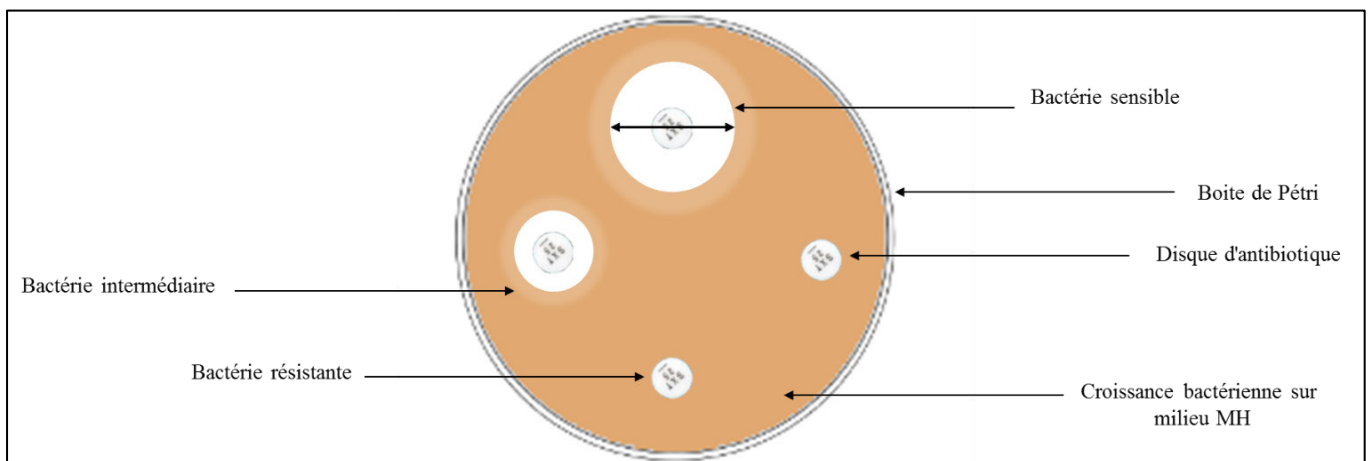


Figure 11 : Schéma représentatif de l'interprétation des résultats de l'antibiogramme.

I.10.4.6. Recherche des *Staphylococcus aureus* résistantes à l'oxacilline ou à la méthicilline

Dans notre étude une concentration d'oxacilline de 1 microgramme a été utilisée, conformément aux recommandations de l'EUCAST 2021. Un diamètre inférieur à 18 indique

une résistance, un diamètre compris entre 18 et 24 est considéré comme intermédiaire, tandis qu'un diamètre supérieur à 24 est considéré comme sensible.



Résultats et Discussion

Chapitre II : Résultats et Discussion

II.1. Résultats

II.1.1. Résultats d'analyses bactériologiques

II.1.1.1. Résultat d'enrichissement

Après 24 heures d'incubation à une température de 37°C, nous avons constaté une augmentation de la population bactérienne qui se manifeste par une turbidité dans les tubes. (Figure 12).

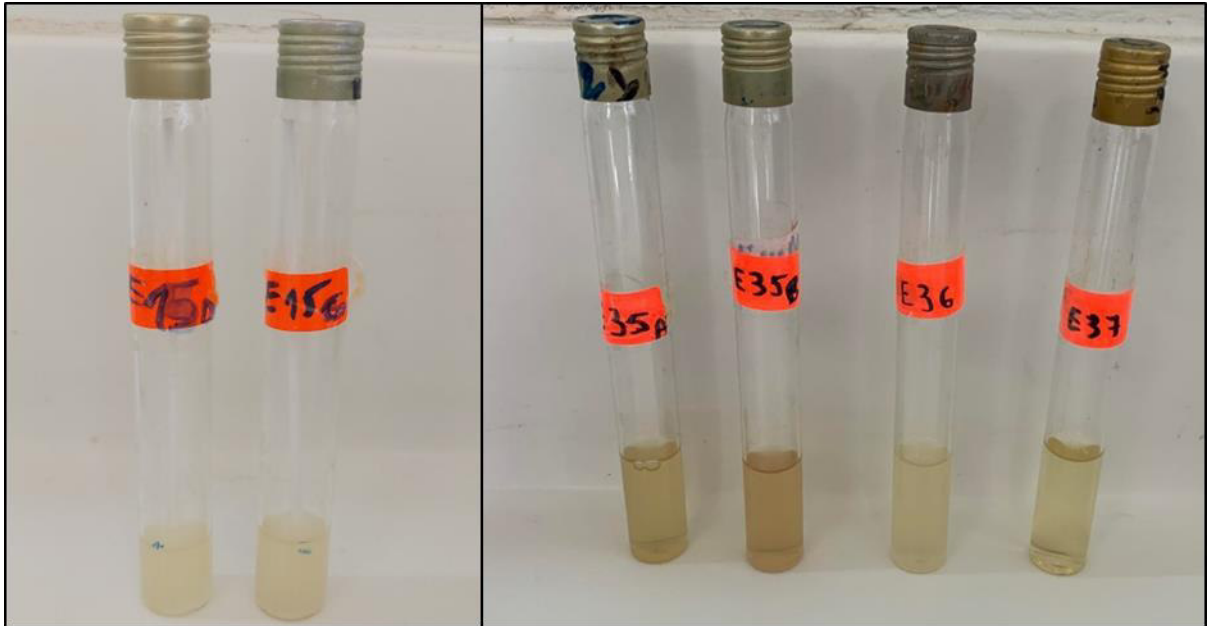


Figure 12 : Photographie représentative des prélèvements après enrichissement (Photographie personnel).

II.1.1.2. Résultat d'isolement

Après 24 à 48 heures d'incubation, une croissance bactérienne est observée sur le milieu Chapman. On remarque des colonies de couleur blanchâtre dans certaines, tandis que d'autres présentent une coloration jaune en raison de la fermentation du mannitol présent dans le milieu (Figure 13).

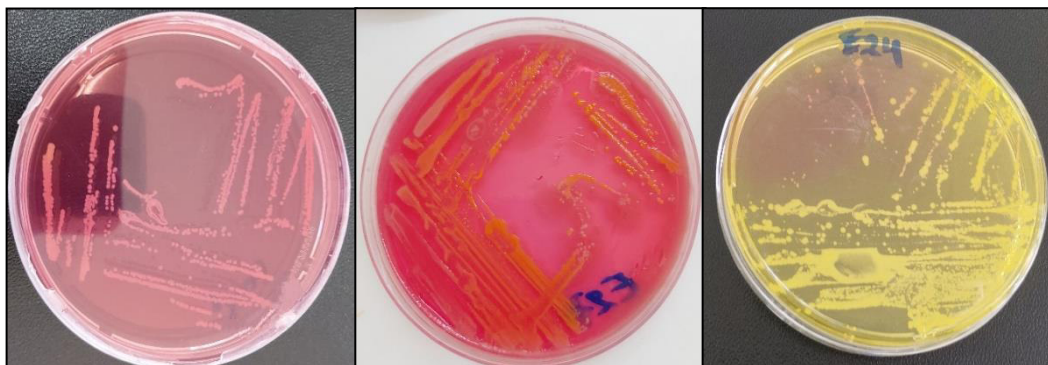


Figure 13 : Photographie représentative des colonies du genre *Staphylococcus* sur milieu Chapman (Photographie personnel).

II.1.1.3. Fréquence d'isolement

A partir de 43 échantillons, 16 souches de staphylocoques ont été isolées en culture pure, soit un taux 37 % des cas (**Figure 14**).

Tableau III : Répartition de la fréquence d'isolement.

Souches	Nombre	Pourcentage
Staphylocoques	16	37%
Souches non identifiés	27	63%

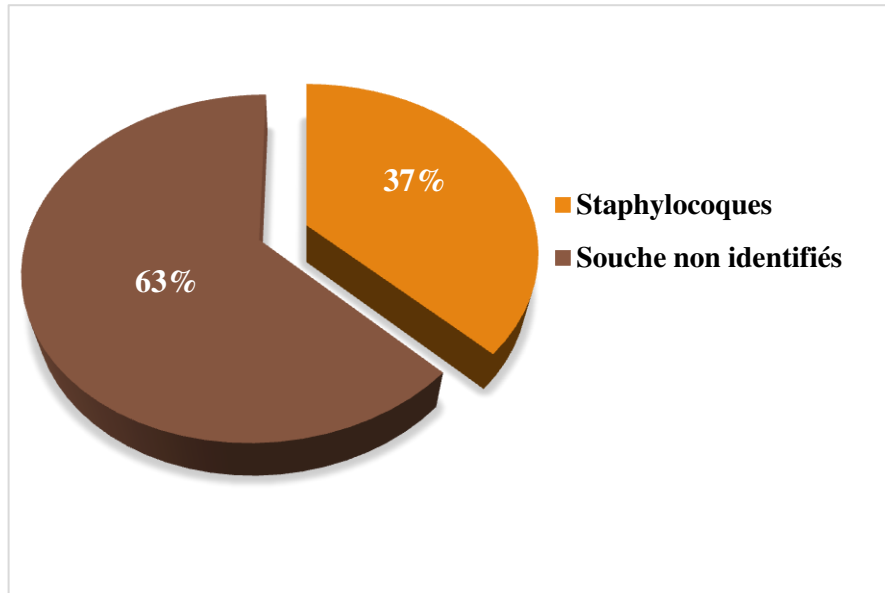


Figure 14 : Représentation graphique de la fréquence d'isolement.

II.1.1.4. Résultat de purification

La purification des souches du genre *Staphylococcus* sur Gélose nutritive est une étape primordiale lors de notre étude, c'est résultats sont observer sur boîte de pétri comme indiquer dans la (**Figure 15**) par une croissance bactérienne caractériser par une couleur jaunâtre.

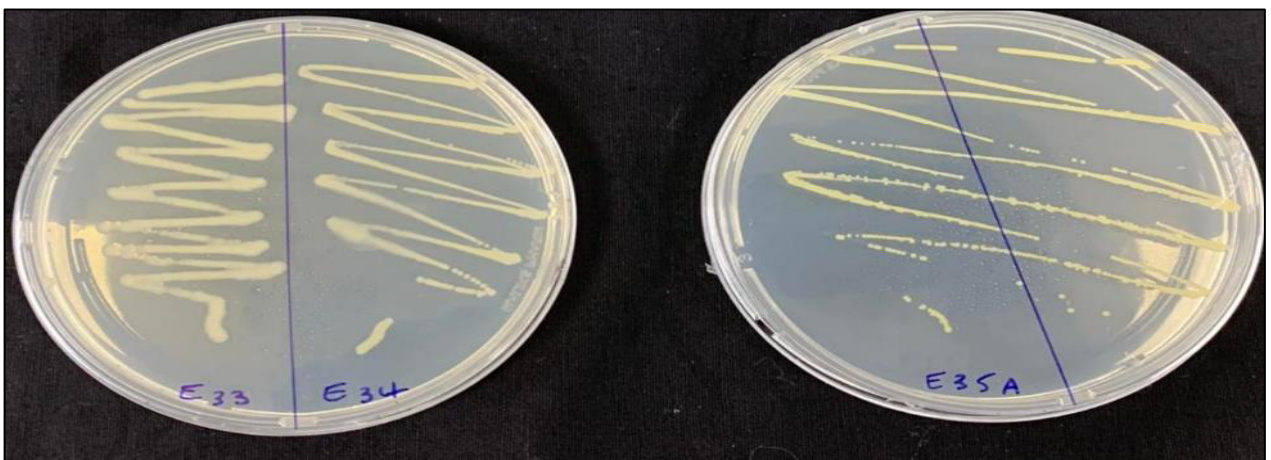


Figure 15 : Photographie représentative des souches staphylocoques sur Gélose nutritive (Photographie personnel).

Les caractéristiques biochimiques de ces souches sont étudiées grâce à la purification et leurs résultats sont cités dans les titres ci dessous.

II.1.1.5. Résultats d'identification

II.1.1.5.1. Résultat de l'étude macroscopique

Les colonies du genre *Staphylococcus* apparaissent sous forme de grandes colonies d'environ 1 µm de diamètre sur Gélose nutritive en aérobiose. Elles sont rondes, régulières, bombées, lisses, brillantes et pigmentées en jaune clair. Cependant, sur le milieu sélectif Chapman, les colonies de *Staphylococcus aureus* sont de couleur jaune doré, crémeuses, bombées, avec un diamètre de 1 à 2 µm. Les bords sont réguliers et la surface est lisse et brillante (**Figure 16**).

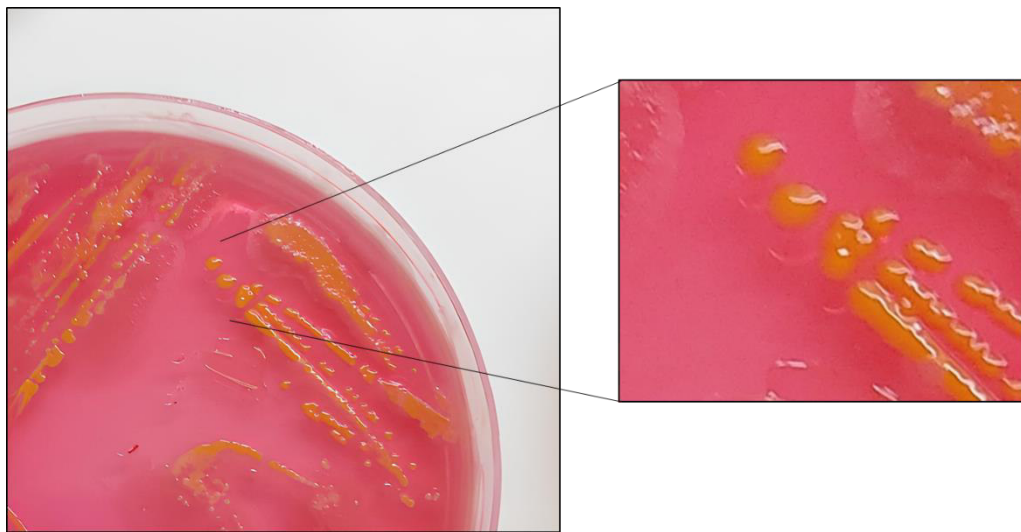


Figure 16 : Photographie présentant des colonies du genre *Staphylococcus* sur milieu Chapman (Photographie personnel).

II.1.1.5.2. Résultat de l'étude microscopique

II.1.1.5.2.1. Coloration de Gram

Lors de l'observation microscopique après coloration de Gram, on peut observer la présence de cocci à Gram positif. Ces cocci se présentent sous forme de diplocoques (en paires) et en grappes de raisin, donnent une coloration violette (**Figure 17**).

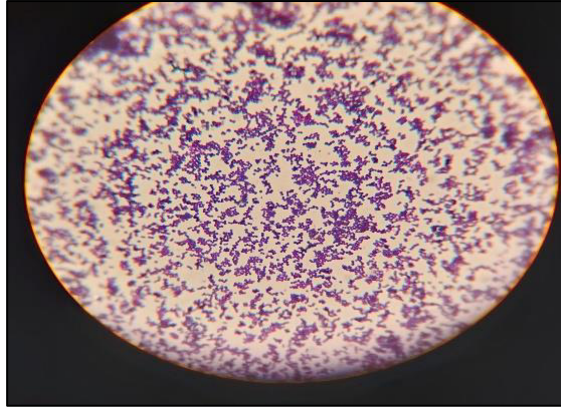


Figure 17 : Observation de *S.aureus* sous microscope optique (grossissement x100)
(Photographie personnel).

II.1.2. Résultats des tests biochimiques

II.1.2.1. Résultat de test catalase

16 souches de Staphylocoques ont été soumises au test de la catalase, où la réaction se traduit par la formation de bulles de gaz (oxygène). Ainsi, toutes les souches isolées ont montré une réaction positive à la catalase, ce qui correspond à un taux de 100% (**Figure 18**).

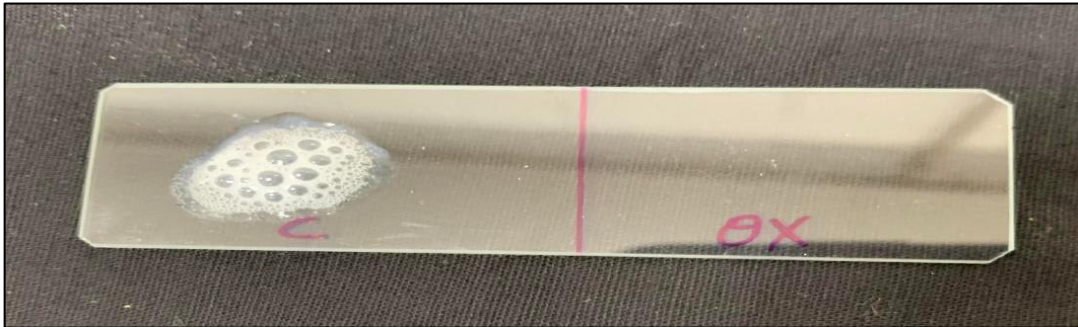


Figure 18 : Photographie représentative de test catalase chez le genre *Staphylococcus*
(Photographie personnel).

II.1.2.2. Résultat de test oxydase

16 souches de Staphylocoques ont été soumises au test d'oxydase, cette réaction se traduit par l'oxydation d'un colorant redox (Dihydrochlorure de tetra méthyle para phénylène diamine) pour former un composé violet. Ainsi, toutes les souches isolées ont montré une oxydase négative (**Figure 19**).



Figure 19 : Photographie représentative de test oxydase chez le genre *Staphylococcus*
(Photographie personnel).

II.1.2.3. Résultat de test coagulase

La production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus* provoque une coagulation du plasma humain qui se traduit par la formation d'un caillot de coagulation (coagulase positive) (Figure 20).

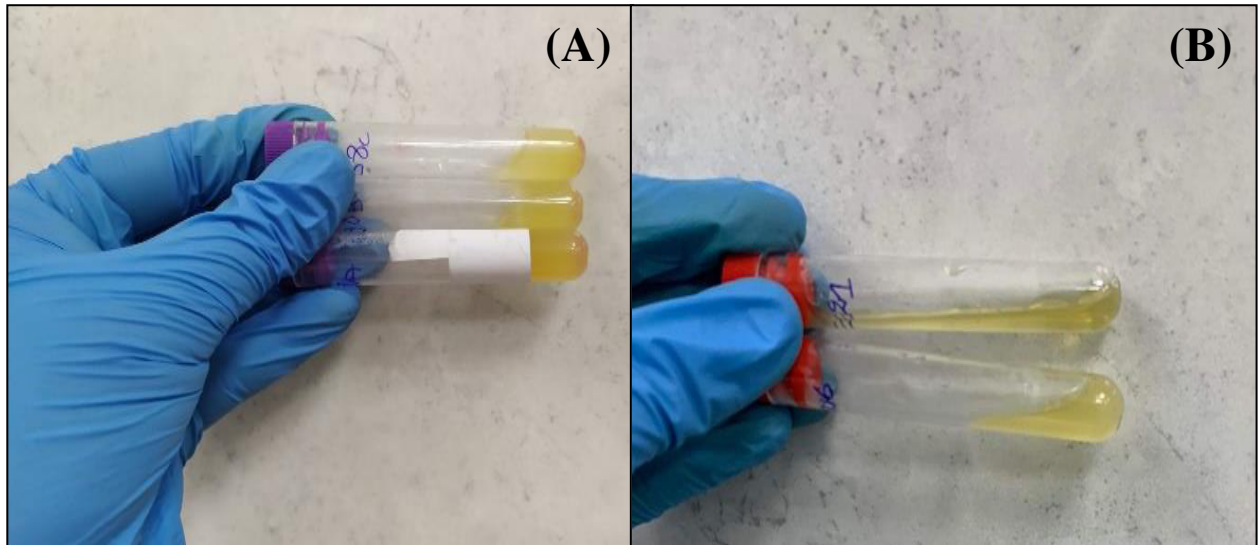
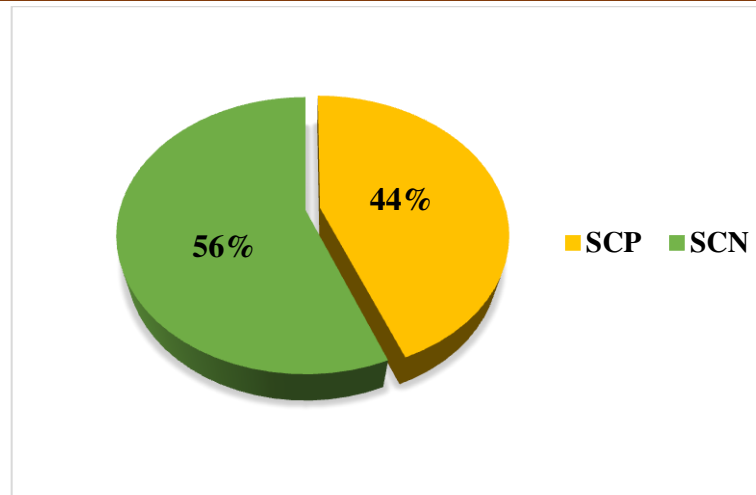


Figure 20 : Photographie représentative de test coagulase chez *Staphylococcus* (Photographie personnel). (A) : *S.aureus* ; (B) : *Staphylococcus.sp.*

Ainsi, dans notre étude, le test coagulase a révélé que sur les 16 souches de staphylocoques isolées en culture pure, 7 souches étaient des Staphylocoques coagulase positive (44 %), tandis que 9 souches étaient des Staphylocoques coagulase négative (56 %). Ces résultats sont représentés dans la **Figure 21** sous forme d'un histogramme.

Tableau IV : Répartition du pourcentage des résultats du test de coagulase.

Type coagulase	Nombre	Pourcentage
SCP	7	44%
SCN	9	56%



SCP : *Staphylococcus aureus* à coagulase positive.

SCN : *Staphylococcus aureus* à coagulase négative.

Figure 21 : Représentation graphique du pourcentage des résultats du test de coagulase.

Au vu des résultats du test coagulase, nous concluons que *Staphylococcus aureus* représente 44% des souches de staphylocoques testées.

II.1.2.4. Résultat de test hémolyse

Résultat obtenue après incubation de 72 heures à 37 °C, démontrant l'aspect du milieu autour des colonies. Cet aspect est le résultat de deux phénomènes (**Figure 22**) :

- L'hémolyse α est caractérisée par une dégradation incomplète de l'hémoglobine, ce qui entraînant une hémolyse partielle. La zone d'hémolyse autour de la colonie présente une coloration verdâtre et n'est pas complètement transparente. Zone d'hémolyse est étroite et a des contours flous.

- En revanche, l'hémolyse β se caractérise à une digestion complète de l'hémoglobine, conduisant à une hémolyse totale. Le milieu autour de la colonie est transparent et prend la couleur de la base nutritive (jaune clair). La zone d'hémolyse associée à l'hémolyse β est large et présente des contours nets.



Figure 22 : Photographie présentant le changement de couleur de la gélose au sang frais autour des colonies de *Staphylococcus aureus* (Photographie personnel).

II.1.3. Résultat d'identification du type respiratoire

Après incubation de 48 heures à 37°C, les 16 souches de staphylocoques isolées ont présenté une croissance sur toute la hauteur du tube. Cela indique que ces bactéries sont capables de se développer aussi bien en présence qu'en absence d'oxygène (aéro-anaérobie facultatives) (Figure 23).



Figure 23 : Photographie représentative de type respiratoire chez le genre *Staphylococcus* (Photographie personnel).

II.1.4. Résultat de test de sensibilité aux antibiotiques

Après incubation de 24 heures à 37 °C, les résultats apparaissent comme suit (Figure 24) :

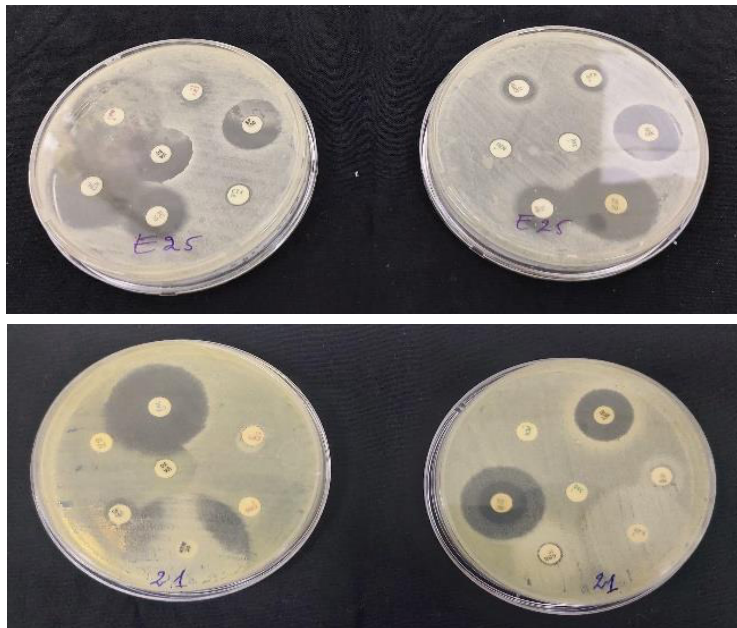


Figure 24 : Photographie représentative d'antibiogramme sur milieu Muller-Hinton (Photographie personnel).

Nous avons testé la sensibilité de 16 souches de staphylocoques, comprenant 7 souches de *Staphylococcus aureus* et 9 souches de *Staphylococcus* à coagulase négative, vis-à-vis de 14 antibiotiques provenant de différentes familles. Les résultats obtenus sont basés sur les recommandations de l'EUCAST 2021.

Les profils de résistance spécifiques de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus* à coagulase négative sont présentés par les **Tableaux V** et **VI** et illustrés par la **Figure 25**.

Tableau V : Pourcentages de résistance des *S.aureus*.

Antibiotiques	Nombre de souches résistantes	Pourcentages
Céfotaxime	5	71 %
Acide Fusidique	2	29 %
Clindamycine	3	43 %
Chloramphénicol	1	14 %
Spiramycine	4	57 %
Vancomycine	5	71 %
Erythromycine	5	71 %
Pénicilline G	7	100 %
Ofloxacin	3	43 %
Nétilmycine	6	86 %
Oxacilline	6	86 %
Gentamycine	4	57 %
Tétracycline	4	57 %
Pristinamycine	5	71 %

Il ressort du **Tableau V** que toutes les souches *S.aureus* testées étaient résistantes à la Pénicilline G, et au Spiramycine (100 %).

Elles présentent également une résistance élevée à plusieurs antibiotiques, notamment la Nétilmycine, l'Oxacilline, l'Érythromycine, la Vancomycine, le Pristinamycine et la Céfotaxime, avec des taux de résistance dépassant les 70 %.

Une résistance est également observée pour la Tétracycline (57 %), la Gentamycine (57 %), la Spiramycine (57 %) et la Clindamycine (43 %).

Par ailleurs, des niveaux de résistance faibles sont constatés pour l'Acide Fusidique (29 %), et le Chloramphénicol (14 %).

Tableau VI : Pourcentages de résistance des *Staphylococcus* à coagulase négative.

Antibiotiques	Nombre de souches résistantes	Pourcentage
Céfotaxime	7	78 %
Acide Fusidique	8	89 %
Clindamycine	8	89 %
Chloramphénicol	1	11 %
Spiramycine	9	100 %
Vancomycine	6	67 %
Erythromycine	8	89 %
Pénicilline G	9	100 %
Ofloxacin	6	67 %
Nétilmycine	7	78 %
Oxacilline	8	89 %
Gentamycine	5	56 %
Tétracycline	5	56 %
Pristinamycine	8	89 %

D'après les résultats obtenus dans le **Tableau VI**, toutes les souches de *Staphylococcus* à coagulase négative ont montré une résistance de 100 % à la Pénicilline G et à la Spiramycine.

De plus, une résistance élevée a été observée vis-à-vis des autres antibiotiques, à savoir l'Acide Fusidique, la Clindamycine, l'Érythromycine, l'Oxacilline et la Pristinamycine avec un taux de (89 %), la Céfotaxime (78 %), la Vancomycine (67 %), l'Ofloxacin (67 %), la Gentamycine (56 %) et la Tétracycline (56 %).

En revanche, une bonne sensibilité au Chloramphénicol est observée, avec un taux de 11%.

Ces résultats sont regroupés dans la **Figure 25**.

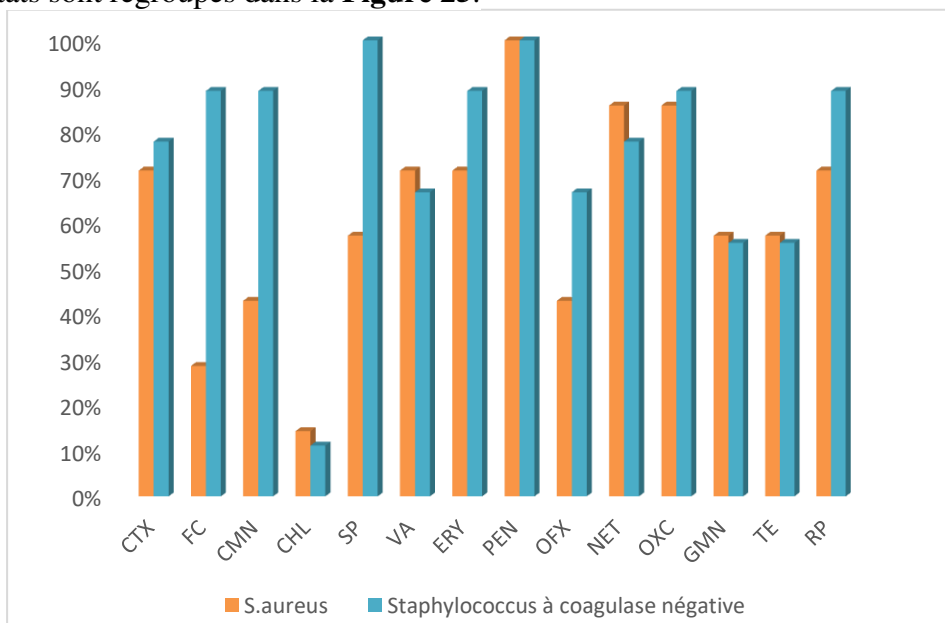


Figure 25 : Représentation graphique du pourcentage de résistance des *S.aureus* et des *Staphylococcus* à coagulase négative aux différents antibiotiques.

II.1.4.1. Pourcentage de La résistance des *S.aureus* selon les familles d'antibiotiques

Les résultats sur la fréquence de résistance des *S.aureus* selon les familles d'antibiotiques sont indiqués dans le **Tableau VII**.

Tableau VII : Pourcentages de résistance des *S.aureus* selon les familles d'antibiotiques.

Familles	Antibiotique	Pourcentage
β-Lactamine	Pénicilline G	86 %
	Oxaciline	
	Céfotaxime/ Aztreonam	
Macrolide	Erythromycine	67 %
	Spiramycine	
	Pristinamycine	
Aminoglycosides	Gentamycine	71 %
	Nétilmycine	
Phénicole	Chloramphénicole	14 %
Quinolone	Ofloxacine	43 %
Acide fusidique	Acide fusidique	29 %
Cycline	Tétracycline	57 %
Lincosamide	Clindamycine	43 %
Glycopeptide	Vancomycine	71 %

Selon les résultats enregistrés dans le **Tableau VII**, nous avons observé une forte inhibition des *S.aureus* par les familles d'antibiotiques suivantes :

Les β-Lactamines, les Macrolides, les Aminoglycosides et les Glycopeptides, avec des taux respectifs de 86 %, 67 %, 71 % et 71 %.

En revanche, les Cyclines, les Quinolones et les Lincosamides ont montré une inhibition moyenne, avec des taux de 57 % et 43 % respectivement.

Par ailleurs, L'Acide Fusidique et les Phénicoles ont présenté une inhibition faible, voire très faible, avec des taux de 29 % et 14 % respectivement.

II.1.4.2. La résistance des *Staphylococcus* à coagulase négative selon les familles d'antibiotiques

Les résultats sur la fréquence de résistance des *Staphylococcus* à coagulase négative selon les familles d'antibiotiques sont indiqués dans le **Tableau VIII**.

Tableau VIII : Pourcentages de résistance des *Staphylococcus* à coagulase négative selon les familles d'antibiotiques.

Familles	Antibiotique	Pourcentage
β-Lactamine	Pénicilline G	89 %
	Oxaciline	
	Céfotaxime/ Aztreonam	
Macrolide	Erythromycine	93 %
	Spiramycine	
	Pristinamycine	
Aminoglycosides	Gentamycine	67 %
	Nétilmycine	
Phénicole	Chloramphénicole	11 %
Quinolone	Ofloxacine	67 %
Acide fusidique	Acide fusidique	89 %
Cycline	Tétracycline	56 %
Lincosamide	Clindamycine	89 %
Glycopeptide	Vancomycine	67 %

Vu les résultats obtenu, l'effet des familles d'antibiotiques utilisées dans l'antibiogramme des *Staphylococcus* à coagulase négative isolés montre que les β-Lactamines, les Macrolides, les Aminoglycosides, les Quinolones, l'Acide Fusidique, les Lincosamides et les Glycopeptides sont les antibiotiques les moins efficaces sur les *Staphylococcus* à coagulase négative. En effet, ils ont bien montré une inefficacité de plus de 67 % face à ces germes de bactéries.

Nous remarquons aussi que toutes les espèces des *Staphylococcus* à coagulase négative testées montrent une résistance non négligeable à l'action des Cyclines avec un niveau d'inefficacité qui dépasse les 56 %.

En revanche, Les Phénicoles, quant à elles, sont les antibiotiques les plus actifs sur les *Staphylococcus* à coagulase négative, avec un taux d'efficacité de plus de 89 %.

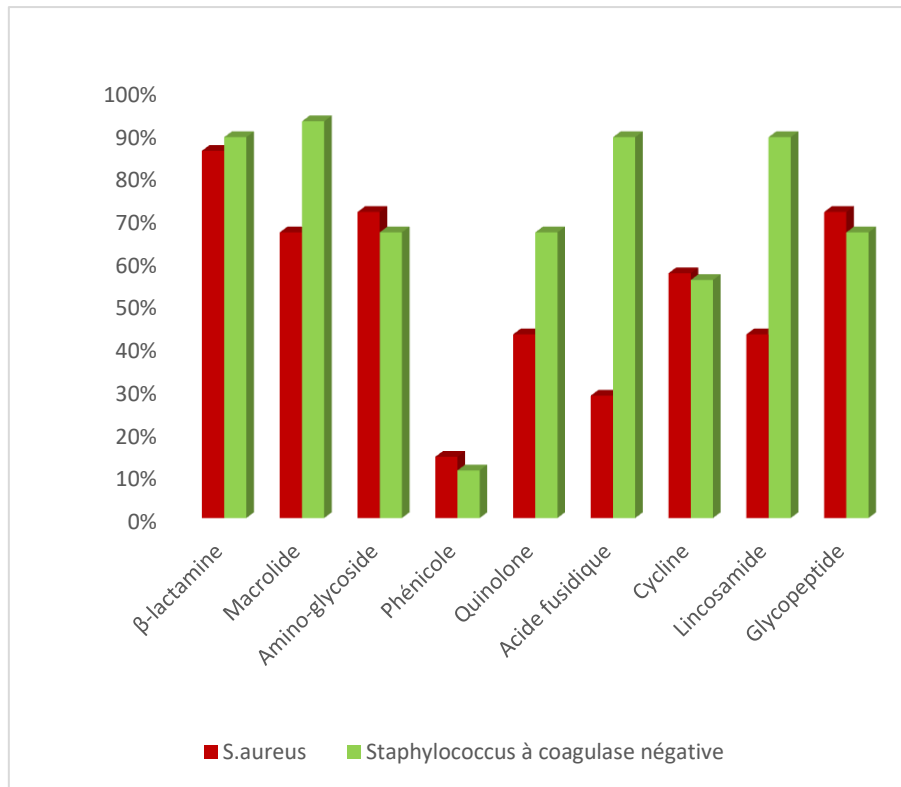


Figure 26 : Pourcentage de résistance des *Staphylococcus à coagulase négative* selon les familles d'antibiotiques.

II.1.4.3. Fréquence des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline ou à l'oxacilline

Parmi les 7 souches de *Staphylococcus aureus* étudiées, 6 souches se sont révélées résistantes à la méticilline (ou à l'oxacilline), ce qui représente une fréquence de résistance de 86 %. Ces résultats sont indiqués dans le **Tableau IX** et illustrés par la **Figure 27**.

Tableau IX : Répartition du pourcentage des résultats de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline ou à l'oxacilline.

<i>S.aureus</i>	Nombre	Pourcentage
<i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline ou à l'oxacilline	6	86 %
<i>Staphylococcus aureus</i> sensibles à la méticilline ou à l'oxacilline	1	14 %

Ces résultats suggèrent que la majorité des souches *Staphylococcus aureus* étudiées sont résistantes à la méticilline ou à l'oxacilline, tandis qu'une seule souche est sensible à la méticilline ou à l'oxacilline.

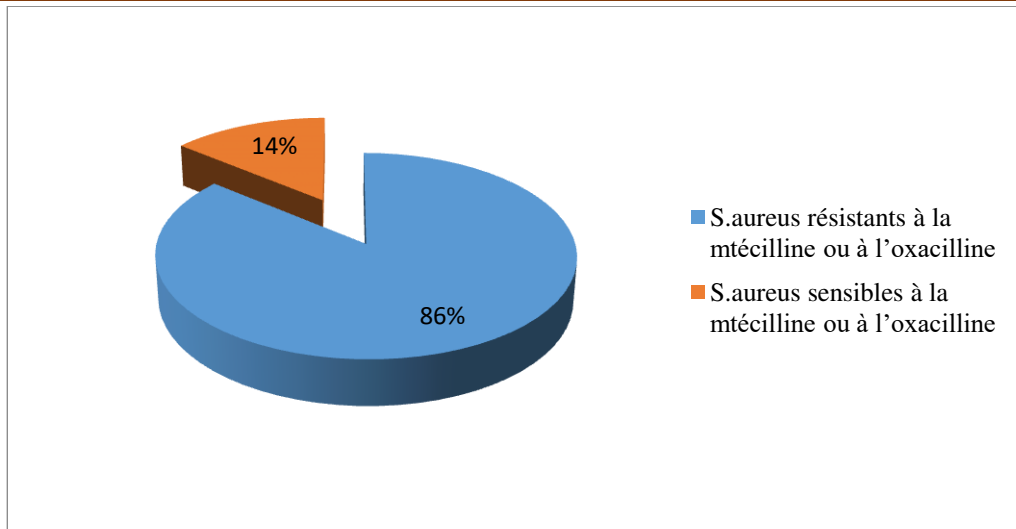


Figure 27 : Représentation graphique de la fréquence des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline ou à l'oxacilline.

II.1.5. Facteurs de risque

II.1.5.1. Répartition des Staphylocoques selon le sexe

Nous avons constaté une prédominance des isolats de Staphylocoques chez les individus de sexe masculin, avec une proportion de 77 %, tandis que chez les individus de sexe féminin, la proportion était de 23 %.

La répartition de ces données est représentée dans la **Figure 28**.

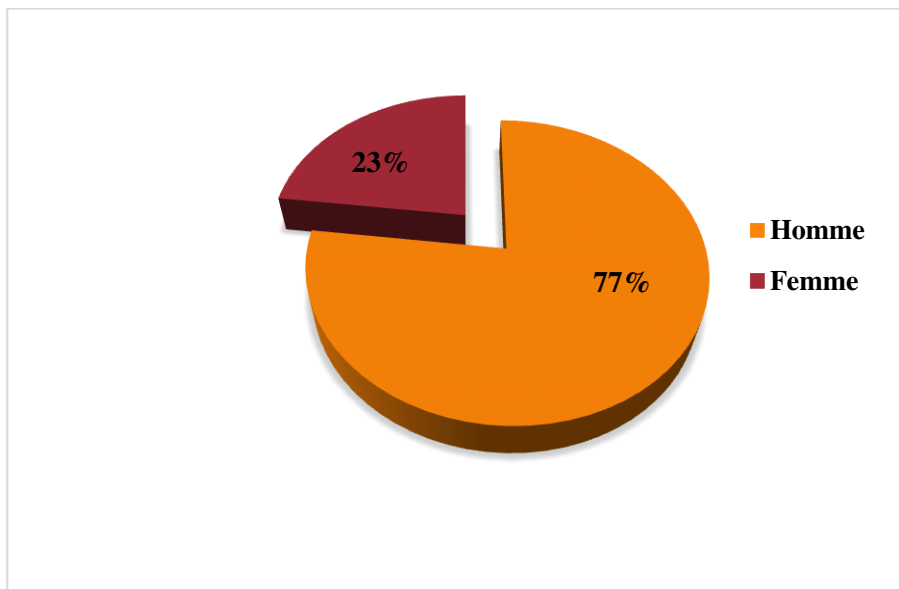


Figure 28 : Pourcentage de la répartition des staphylocoques selon le sexe.

II.1.5.2. Répartition des *S.aureus* selon le sexe

Nous avons constaté une prédominance des isolats de *Staphylococcus aureus* chez les individus de sexe masculin, avec une proportion de 80 %, tandis que chez les individus de sexe féminin, la proportion était de 20 %.

La répartition de ces données est représentée dans la **Figure 29**.

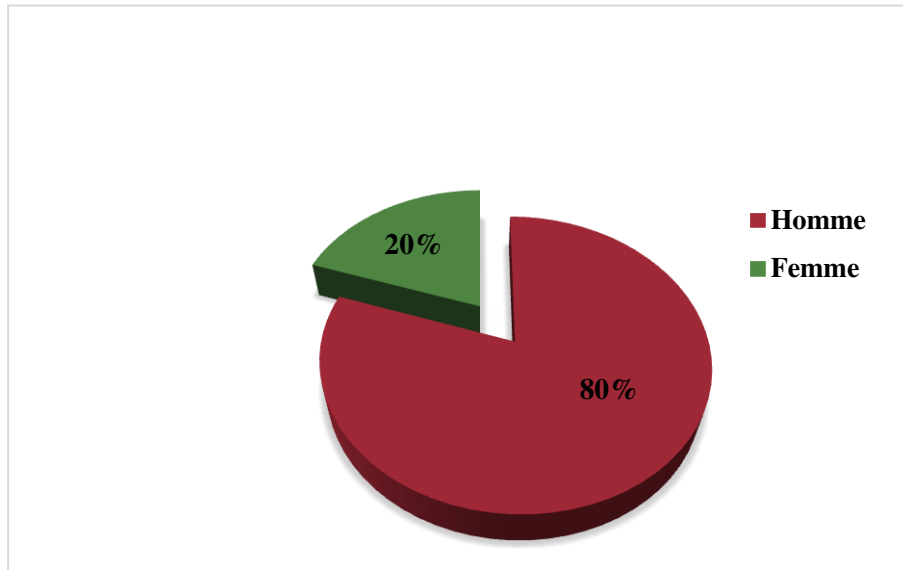


Figure 29 : Pourcentage de la répartition de *S.aureus* selon le sexe.

II.1.5.3. Répartition des Staphylocoques selon l'âge

Parmi les 13 souches de staphylocoques isolées chez des patients, 4 ont été identifiées chez des patients âgés de 45 à 65 ans, 6 souches ont été isolées chez des patients âgés de 25 à 45 ans, et 3 souches ont été isolées chez des patients de plus de 65 ans.

L'histogramme présenté dans la **Figure 30** représente la répartition des souches de staphylocoques en fonction de l'âge des patients inclus dans l'échantillon.

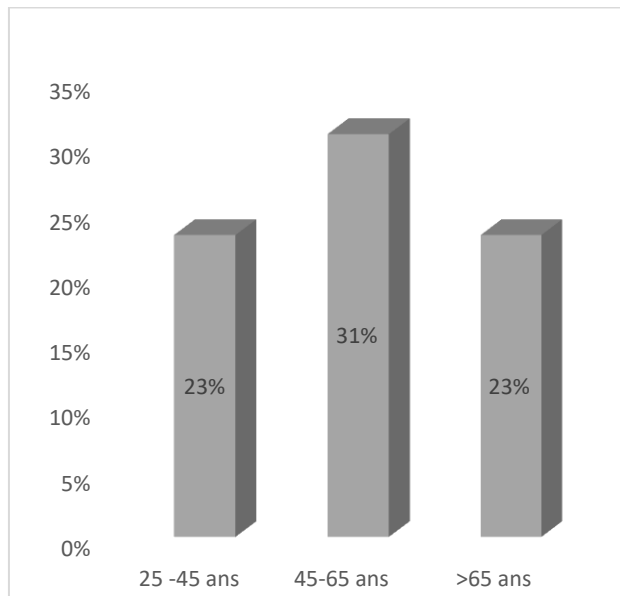


Figure 30 : Pourcentage de la répartition des staphylocoques selon l'âge.

On constate que les personnes âgées de 25 à 45 ans et celles de plus de 65 ans sont moins touchées par ce type de pathogène, représentant seulement 23 % de l'échantillon.

II.1.5.4. Répartition des *S.aureus* selon l'âge

Parmi les 7 souches de *S.aureus* isolées, 3 sont isolés de la tranche d'âge 45 à 65 ans et 2 souches sont isolés dans la tranche d'âge >65 ans.

L'histogramme (**Figure 31**) nous décrit la répartition des *S.aureus* selon l'âge des patients d'où l'échantillon a été prélevé.

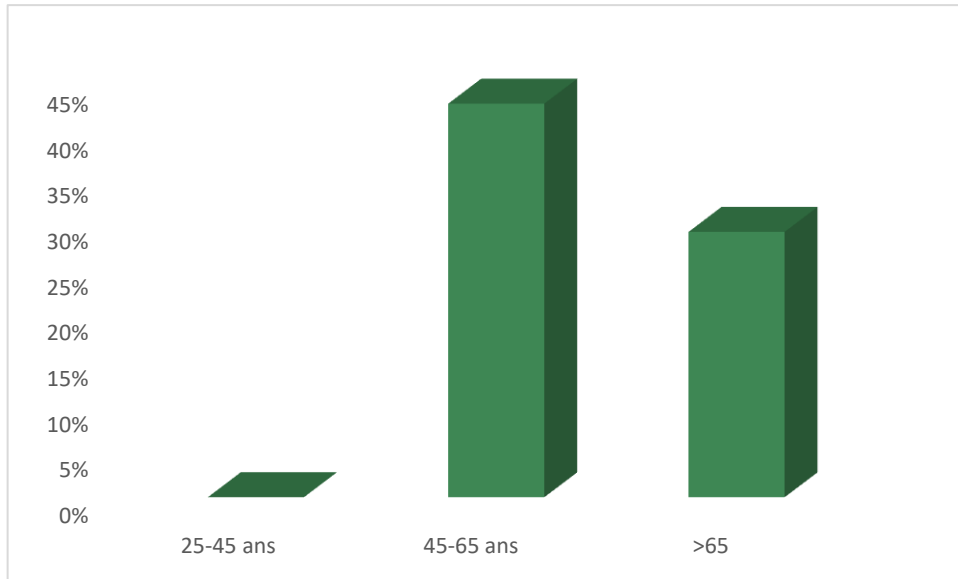


Figure 31 : Pourcentage de la répartition de *S.aureus* selon l'âge.

L'histogramme met en évidence une prédominance de la contamination par *Staphylococcus aureus* dans la tranche d'âge comprise entre 45 et 65 ans, avec un pourcentage de 43 %. Cependant, les personnes âgées de plus de 65 ans sont moins touchées par ce type de pathogène, avec un pourcentage de 29 %.

Il est à noter que la tranche d'âge de 25 à 45 ans ne présente aucune contamination, avec un taux de 0 %.

II.1.5.5. Répartition des Staphylocoques selon le site de prélèvement

La Répartition des Staphylocoques selon le site de prélèvement est représentée dans la **Figure 32**.

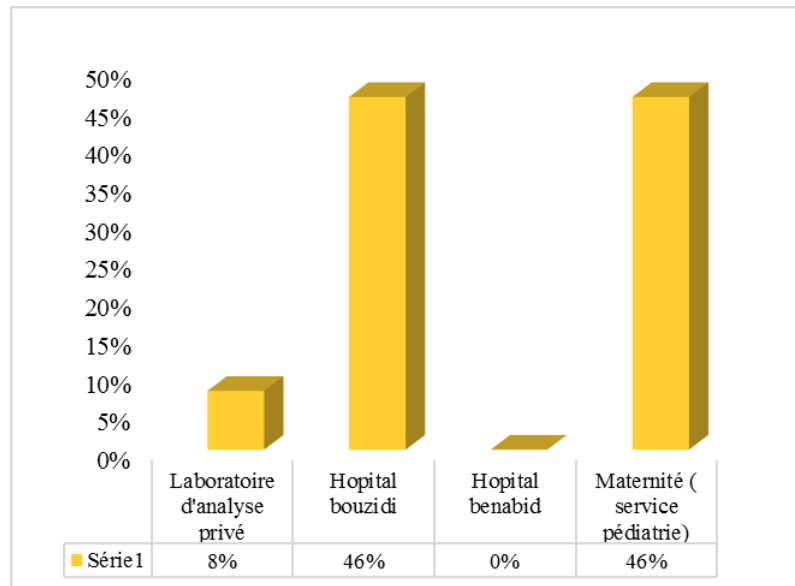


Figure 32 : Représentation graphique du pourcentage de la répartition de staphylocoques selon le site de prélèvement.

Le graphique met en évidence que l'hôpital BOUZIDI et la maternité présentent le taux d'infection le plus élevé de Staphylocoque, atteignant 46 %. En revanche, le laboratoire privé affiche un taux d'infection relativement faible de 8 %, tandis que l'hôpital BENABID ne présente aucun cas d'infection, avec un taux de 0 %.

II.1.5.6. Répartition des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline ou à l'oxacilline selon le site de prélèvement

Parmi les 6 souches isolées de *S.aureus* résistantes à la méticilline ou à l'oxacilline, toutes proviennent de l'hôpital Bouzidi qui présente le taux d'infection le plus élevé de SARM, atteignant 83 % et la maternité avec un pourcentage de 17 %. En revanche, le laboratoire privé, l'hôpital BENABID ne présente aucun cas d'infection par *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline ou à l'oxacilline, affichant ainsi un taux de 0%.

La répartition de ces données est représentée dans la **Figure 33**.

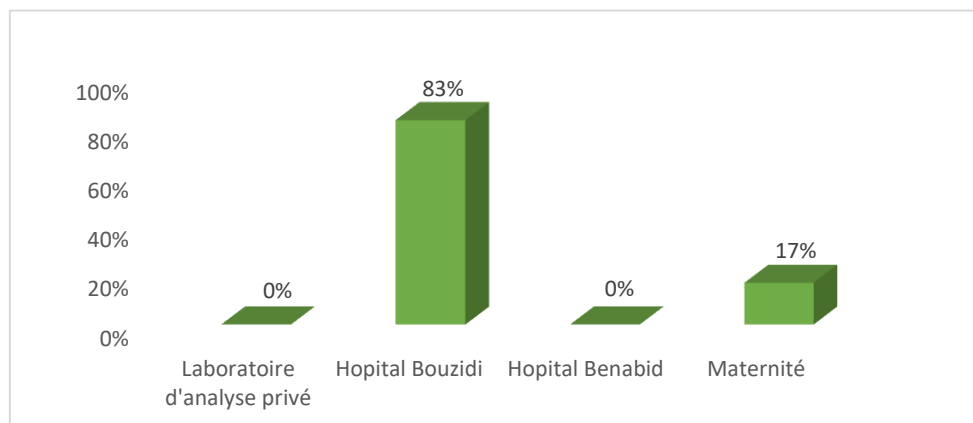


Figure 33 : Pourcentage de la répartition des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline ou à l'oxacilline selon le site de prélèvement.

II.2. Discussion

Les germes appartenant au genre *Staphylococcus* sont des commensaux de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et des zones cutanées humides (périnée, aisselles). De ce fait, ils sont fréquemment isolés en bactériologie médicale.

Dans notre étude, le pourcentage de ces germes est de 37%.

En effet, elle est proche de celles rapportées par Alioua qui représente un taux de 26,4 % (Alioua, 2015).

Parmi les 16 germes appartenant au genre *Staphylococcus* isolées, 7 souches étaient des *Staphylococcus aureus* (44 %), tandis que 9 souches étaient des Staphylocoques coagulase négative (56 %).

Staphylococcus aureus, communément appelé staphylocoque doré, joue un rôle significatif dans les infections tant au sein de la communauté qu'en milieu hospitalier. Il est responsable d'infections nosocomiales suppuratives, telles que les infections du site opératoire, les infections ostéoarticulaires, neurochirurgicales ou endophtalmiques.

Par ailleurs, les staphylocoques à coagulase négative (SCN), qui étaient autrefois considérés comme peu ou non pathogènes, sont désormais reconnus comme des bactéries opportunistes pathogènes. Parmi ces espèces, on retrouve notamment *S.epidermidis*, *S. haemolyticus* et *S.saprophyticus*. Ces bactéries peuvent causer des infections dans certaines circonstances, en particulier chez les individus ayant un système immunitaire affaibli ou lors d'implantation de dispositifs médicaux.

La fréquence des germes appartenant au genre *Staphylococcus* enregistrées dans les milieux hospitaliers de la zone de Bordj Bou Arreridj sont un indicateur de manque des mesures de prévention et de contrôle des infections, telles que le lavage des mains régulier et l'hygiène appropriée des dispositifs médicaux d'hygiène ainsi que le non-respect des règles de visite du malade.

La surveillance et la prévention des infections à staphylocoques, tant en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier, demeurent donc des enjeux essentiels pour assurer la sécurité des patients.

II.2.1. La résistance des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

II.2.1.1. La résistance des *S.aureus* à la famille de β -lactamine

Dans notre étude, nous avons constaté que le taux de résistance à la pénicilline G est de 100 %. Ce résultat est similaire à celui rapporté par (Kiptoo, 2012) et (Rebaihi, 2012), qui ont découvert que plus de 99 % des souches de *S.aureus* sont résistantes à la pénicilline G.

Ces souches développent une résistance grâce à la production de pénicillinase, une enzyme qui inactive la pénicilline G. En conséquence, l'utilisation de cet antibiotique devient obsolète dans le traitement des infections causées par *S.aureus*.

On observe une résistance significative des souches de *Staphylococcus aureus* à l'oxacilline, atteignant un taux de 86 %. Ce résultat est cohérent avec celles de Koinam à 80 % (**Koinam et al.,2017**). La résistance des Staphylocoques à l'oxacilline est généralement acquise, ce qui signifie qu'elle est due à des mécanismes de résistance développés par la bactérie. Cette résistance est souvent liée à la présence du gène *mecA*, qui code pour une protéine appelée PBP2a (pénicillin-binding protein 2a). PBP2a a une affinité réduite pour les pénicillines, y compris l'oxacilline, ce qui rend la bactérie résistante à ces antibiotiques. Cette résistance est transférable entre les souches de Staphylocoques et peut être propagée par des éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides ou les transposons.

Nous avons observé que le taux de résistance de *Staphylococcus aureus* à la Céfotaxime est de 71 %, ce qui correspond aux résultats précédemment rapportés par Belili et Djoudi, qui ont également constaté une résistance de 70 % à cet antibiotique (**Belili et Djoudi, 2017**). Cette concordance renforce l'observation selon laquelle de nombreux isolats de *S.aureus* sont résistants à la Céfotaxime.

II.2.1.2. La résistance des *S.aureus* aux Macrolides

Concernant cette famille, nous avons évalué la sensibilité de trois antibiotiques, à savoir : l'érythromycine, la Spiramycine et la pristinamycine. Nos résultats indiquent que les souches de *S.aureus* résistantes à l'érythromycine représentent 71 % de l'ensemble des souches isolées. Cette constatation est cohérente avec celle rapportée par Ding en Chine, qui a également observé un taux de résistance de 76,9 %.(**Ding et al., 2012**).

Notre étude révèle un taux de résistance de 71 % des souches de *Staphylococcus aureus* à la Pristinamycine. Cependant, ce résultat diffère significativement de celui rapporté par Suarez, où aucune résistance n'a été observée (**Suarez, 2015**).

De plus, nous avons constaté un taux de résistance de 57 % des souches de *Staphylococcus aureus* à la Spiramycine. Ce résultat est significativement plus élevé que celui rapporté par Aouati, qui a trouvé un taux de résistance faible de 2,50 % (**Aouati, 2009**).

La résistance des *Staphylococcus aureus* aux macrolides peut être expliquée par différents mécanismes. L'un des mécanismes couramment observés est l'acquisition de gènes de résistance, tels que le gène *erm* (erythromycin ribosome methylation) ou le gène *msr* (macrolide efflux pump), qui permettent aux bactéries de neutraliser ou d'éliminer les macrolides.

Il convient de signaler que la résistance aux macrolides peut être influencée par l'utilisation abusive ou inappropriée d'antibiotiques, favorisant ainsi le développement de souches résistantes.

II.2.1.3. La résistances des *S.aureus* aux Aminosides

Dans notre étude, nous avons observé un taux de résistance de 57 % pour la Gentamicine. Ce résultat est inférieur à celui rapporté par Yildiz et ses collègues en Turquie, qui ont observé un taux de résistance élevé de 90,2% (Yildiz et al., 2014).

La différence dans les taux de résistance observés entre notre étude et celle de Yildiz et ses collègues peut être attribuée à plusieurs facteurs. Ainsi, la variation géographique et les pratiques locales de prescription peuvent influencer les taux de résistance.

II.2.1.4. La résistance des *S.aureus* aux Lincosamides

Pour la Clindamycine, nous avons observé un pourcentage de résistance de 43 %. Ces résultats diffèrent de manière significative de ceux rapportés par Rebaihi, qui ont trouvé un pourcentage de résistance de 12,12 % (Rebaihi, 2012).

II.2.1.5. La résistance des *S.aureus* aux Glycopeptides

Les résultats de notre étude sur la résistance à la vancomycine sont assez préoccupants. Alors que la vancomycine est généralement considérée comme l'un des antibiotiques les plus efficaces, nos résultats indiquent que 71 % des souches de *S.aureus* testées étaient résistantes à cet antibiotique. Cela suggère que la résistance à la vancomycine parmi les souches de *S.aureus* est répandue dans notre échantillon.

Ces résultats diffèrent de manière significative de ceux rapportés par Suarez, dont l'étude n'a révélé aucune résistance à la vancomycine chez les souches de *S.aureus* (Suarez, 2015). Cette disparité souligne l'importance de la surveillance continue de la résistance aux antibiotiques, car elle peut varier d'une région à l'autre et au fil du temps.

La résistance à la vancomycine dans les souches de *S.aureus* est une préoccupation majeure en raison de l'efficacité limitée des autres antibiotiques contre ces souches résistantes. Il est essentiel de mettre en œuvre des mesures de contrôle appropriées pour prévenir la propagation de cette résistance et de continuer à rechercher de nouveaux moyens de lutter contre les infections causées par des souches résistantes à la vancomycine.

II.2.1.5. La résistance des *S.aureus* aux autres antibiotiques

- Les tétracyclines présentent un taux de résistance élevé, atteignant 57 %. Ce résultat est similaire à d'autres études menées au Mali, qui ont également observé des taux élevés de résistance à la tétracycline. En 2009, l'étude de Dicko a montré un taux de résistance de 68 % (Dicko, 2013), tandis que celle de Tchougoune en 2007 a rapporté

un taux de résistance de 75 % (**Tchougoune ML, 2007**). De même, l'étude de Diallo a révélé un taux de résistance de 71 % (**Diallo, 2006**).

- L'acide fusidique présente un taux de résistance de 29 %, ce qui est inférieur à celui enregistré au Maroc avec 68 % de résistance selon l'étude de Benouda et El hamzaoui (**Benouda et El hamzaoui, 2009**). Cependant, ce taux de résistance est supérieur à celui observé en Turquie, où seulement 8,1 % des souches étaient résistantes d'après l'étude de Yildiz et al (**Yildiz et al., 2014**).

Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que les différences dans les pratiques de prescription d'antibiotiques, l'exposition aux antibiotiques dans le milieu hospitalier ou communautaire, ainsi que les caractéristiques génétiques des souches bactériennes circulant dans chaque région.

- D'autre part, nous avons observé une résistance de 14 % au chloramphénicol. Nos résultats sont relativement proches de ceux enregistrés au Népal avec un taux de résistance de 4% selon l'étude de (**Belbase et al., 2017**). Cette constatation suggère que le chloramphénicol pourrait être une option de traitement viable pour les infections bactériennes à *S.aureus* dans notre population étudiée, compte tenu de son taux de résistance relativement bas.

Globalement, l'observation des taux de résistance des souches de *S.aureus* isolées dans notre étude soulignent l'importance de la surveillance continue de la résistance aux antibiotiques dans les milieux hospitaliers de la zone de Bordj Bou Arreridj. Cela permet d'adapter les stratégies de traitement et de prévention, ainsi que de sensibiliser à une utilisation prudente et rationnelle des antibiotiques pour minimiser l'émergence et la propagation de la résistance bactérienne.

II.2.2. 1. Fréquence des SARM

Dans notre étude, nous avons constaté que 86 % de nos souches étaient résistantes à l'oxacilline (SARM). En Algérie, une tendance croissante de la résistance de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) au fil du temps. En 2002, le taux était de 4,5 % selon l'étude menée par (**Ahoyo et al., 2006**). En 2004, il a atteint 33,2 % d'après l'étude de (**Saïdani et al., 2006**). En 2006, le taux a augmenté à 45 % selon (**Ahoyo et al., 2006**), et en 2009, il a été rapporté à 52 % par Rebiahi (**Rebaihi, 2012**).

Ces données mettent en évidence une tendance préoccupante à l'augmentation de la résistance du SARM en Algérie sur une période relativement courte. Cela souligne l'importance de la surveillance et de la mise en place de mesures de prévention et de contrôle de l'infection pour lutter contre la propagation de cette souche résistante aux antibiotiques.

En Afrique, la prévalence des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) varie selon les pays. Par exemple, au Bénin, elle était de 36 % en 2006, mais elle a diminué à 14,5 % en 2008 selon (Ahoyo et al., 2006). En Tunisie, une étude réalisée à l'hôpital Charles Nicolle a révélé une prévalence de 10 % (Saïdani et al., 2006). Au Maroc, la prévalence était encore plus faible, à seulement 1,43 % (Mesrati I et al., 2010).

Selon l'Observatoire National de l'Épidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA), plusieurs pays européens rapportent des taux de résistance élevés. Par exemple, en Grèce, le taux de résistance est de 44 %, suivi de près par l'Italie et l'Espagne avec un taux de 38 %. La Grande-Bretagne et l'Irlande présentent également des taux élevés, atteignant respectivement 44 % et 42 % (ONERBA, 2017).

II.2.2.2. Fréquence des SARM liée aux sites de prélèvement

Notre étude, réalisée pour la première fois dans la ville de Bordj Bou Arreridj en incluant différents établissements hospitaliers, a révélé que l'hôpital Bouzidi Lkhdar affichait le taux le plus élevé de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), avec une résistance observée chez 83 % des isolats. Cette fréquence était supérieure aux résultats rapportés par Alioua , qui avait observé un taux de résistance de 62,2 % dans la région d'Annaba chez les isolats (Alioua, 2015).

Dans cette étude, la fréquence des isolats de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) était également plus élevée que les résultats antérieurs obtenus à Tlemcen (Rebaihi et al., 2011). De plus, elle était significativement supérieure au taux rapporté par le Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, qui était de 32,67 % en 2012 (Rahal K et al., 2012). Les résultats étaient également supérieurs à ceux rapportés dans d'autres pays maghrébins tels que le Maroc et la Tunisie, avec des taux respectifs de 18,5 % et 40,5 % (Mesrati I et al., 2010) (Zriouil SB et al., 2012).

II.2.3. Répartition des *S.aureus* selon l'âge

Les résultats indiquent que le taux d'isolement le plus élevé de *Staphylococcus aureus* est observé dans les catégories d'âge de 45 ans à 65 ans. Par conséquent, le taux de *S.aureus* retrouvé dans notre étude est influencé par l'âge des patients.

De plus, il existe une corrélation entre le risque d'infection et l'âge, ce qui est similaire aux résultats trouvés par Garnier et al, ils ont constaté que la pathogénicité de *S.aureus* est prédominante chez les adultes et les personnes âgées de plus de 35 ans, ce qui favorise les infections à *S.aureus* (Garnier et al., 2002). Alioua a également observé que les personnes âgées de 15 à 65 ans, présentent un risque plus élevé d'infections à *Staphylococcus aureus* (Alioua, 2015).

Cependant, ces résultats ne sont pas en accord avec la littérature qui indique que l'âge est un facteur de risque d'infection aux deux extrémités de la vie, c'est-à-dire avant 1 an et après 75 ans. Il est possible d'expliquer cela par l'importance de la morbidité chez les personnes âgées (**Cruse et Foord, 1980**).

II.2.4. Répartition des *S.aureus* selon le sexe

Au cours de notre étude, nous avons observé une prédominance de *Staphylococcus aureus* chez les individus de sexe masculin, avec un pourcentage de 80 %. Ce résultat est supérieur à celui rapporté dans une étude réalisée en 2007, qui indiquait un pourcentage de 56,66 % chez les hommes et de 43,44 % chez les femmes (**Aouati, 2009**). Ce résultat est également similaire à ceux rapportés par Alioua en 2015, avec 61,5 % d'hommes et 38,5 % de femmes (**Alioua, 2015**).

Dans une autre étude menée par Offner et al, il a été observé que le sexe masculin était associé à un risque considérablement accru d'infections majeures suite à un traumatisme, avec un taux environ deux fois plus élevé que chez les femmes (**Offner et al., 1999**).

Cependant, une étude réalisée à Tlemcen a rapporté une prédominance du sexe féminin, avec un taux de 52,72 % pour les femmes et 47,27 % pour les hommes (**Bezzar, 2014**).

La prédominance de *Staphylococcus aureus* chez les individus de sexe masculin observée dans notre étude peut être attribuée à plusieurs facteurs. Il est important de noter que la prévalence des infections à *S.aureus* peut varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que l'environnement, les comportements individuels, l'exposition à des sources d'infection, et les caractéristiques biologiques.

Ainsi, les hommes sont souvent plus exposés à des situations à haut risque d'infection, comme les blessures, les traumatismes et les conditions de travail potentiellement dangereuses. Ces facteurs de risque accrus peuvent favoriser la colonisation et l'infection par *S. aureus* (**Bezzar, 2014**).



Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Notre étude visait à identifier les staphylocoques, en particulier *Staphylococcus aureus*, à partir de divers échantillons prélevés dans les établissements de santé de la wilaya de Bordj Bou Arreridj. Cette bactérie revêt une importance majeure en médecine humaine car elle illustre de manière frappante l'évolution adaptative des bactéries à l'ère des antibiotiques. Elle présente une capacité unique à développer rapidement des mécanismes de résistance en réponse à l'introduction de chaque nouvel antibiotique, de la pénicilline à la méthicilline, jusqu'au traitement de référence, la vancomycine. Cela met en évidence l'augmentation de la consommation d'antibiotiques et la montée de la résistance bactérienne, constituant ainsi un problème majeur de santé publique.

Sur les 43 échantillons examinés, nous avons identifié 16 souches de Staphylocoques. Parmi ces souches, 7 se sont avérées être des *Staphylococcus aureus*, tandis que les 9 autres étaient des *Staphylococcus* coagulase négative (SCN).

L'étude de la sensibilité, in vitro, germes appartenant au genre *Staphylococcus* identifiées vis-à-vis des antibiotiques a révélé une résistance élevée des germes pour sept familles à savoir : les β -Lactamines, les Macrolides, les Aminoglycosides, les Quinolones, l'Acide Fusidique, les Lincosamides, les Glycopeptides et Cyclines. Par contre, une bonne sensibilité des germes a été notée pour les Phénicoles.

Notre étude révèle que sur les 7 souches de *Staphylococcus aureus* examinées, 6 étaient résistantes à la méthicilline, ce qui représente un pourcentage de résistance de 86 %. De plus, nous avons observé une résistance de 71 % chez *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des glycopeptides (vancomycine), qui sont considérés comme la dernière ligne de défense contre les staphylocoques.

La fréquence de *Staphylococcus aureus* semble varier selon plusieurs critères. Nous avons observé une prédominance chez les patients de sexe masculin, avec un taux de contamination de 80 %, tandis que le taux était de 20 % chez les patients de sexe féminin. En ce qui concerne l'âge, une prédominance a été observée dans la tranche d'âge de 45 à 65 ans, avec un taux de 43 %. En ce qui concerne les sites de prélèvement, le taux le plus élevé a été observé dans le service hospitalier Bouzidi, avec un taux de 83 % et le service pédiatrique de la maternité présente un pourcentage de 17 %, tandis que les services hospitaliers Benabid et le laboratoire d'analyse privé présentaient un taux de contamination de 0 %.

Il convient de souligner certaines limitations de notre étude. Tout d'abord, le nombre d'échantillons était relativement faible, ce qui peut avoir restreint la généralisation de nos résultats. Une étude plus vaste serait nécessaire pour obtenir des conclusions plus solides.

Néanmoins, notre étude présente des points forts significatifs. En tant que première étude de ce type dans la région de Bordj Bou Arreridj, elle constitue une contribution importante à l'épidémiologie des Staphylocoques. Nos résultats mettent en évidence la présence d'un problème de résistance chez les Staphylocoques, en particulier avec une prévalence élevée des souches de SARM et des souches résistantes au Vancomycine. Ces résultats sont pertinents pour la communauté scientifique et peuvent contribuer à une meilleure compréhension de la situation épidémiologique locale.

Il est important de noter que les pourcentages de résistance au vancomycine peuvent être remis en question et ne peuvent pas être totalement fiables. Par conséquent, la méthode la plus précise pour évaluer la résistance du *Staphylococcus aureus* à la vancomycine est de mesurer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

Il est essentiel de prendre des mesures pour lutter contre la résistance aux antibiotiques chez les Staphylocoques, afin de prévenir les infections difficiles à traiter et de garantir l'efficacité des traitements existants. Des efforts supplémentaires de surveillance, de sensibilisation et de recherche sont nécessaires pour mieux comprendre et résoudre ce problème de santé publique.

À la lumière de ces résultats, des études complémentaires doivent être menées à l'avenir afin de parfaire nos connaissances sur ce sujet. Ce travail ouvre de nombreuses perspectives, parmi lesquelles :

- ✓ Mettre en place un réseau de surveillance d'infections au SARM et au Vancomycine ;
- ✓ Elargir le cercle de recherche à travers les daïras de la wilaya de Bordj Bou Arreridj ;
- ✓ Etudier une population plus importante, pendant une période plus longue ;
- ✓ Etudier l'aspect génétique de cette résistance tout en explorant les mécanismes intervenant dans la régulation.



Références bibliographiques

Liste des références bibliographiques

A

1. **Ahoyo, AT., Baba-Moussa, L., Makoutode, M. et al. (2006).** Incidence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline dans le service de néonatalogie du centre hospitalier départemental du Zou et des Collines au Bénin. *Archives de Pédiatrie* 13 (11), 1391–1396.
2. **Alioua, M. A. (2015).** Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méticilline. Thèse de Doctorat En Microbiologie Appliquée, Sous La Direction de Mazouz D, 223.
3. **Aouati, H. (2009).** Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire. Université Mentouri Constantine-1. Microbiologie appliquée et biotechnologies microbienne, Algérie, 94.
4. **Aslanzadeh. (2006).** Biochemical profile-based microbial identification system. Assessment related to microbial food contamination. *Revue d'Epidemiologie*.

B

5. **Bactériologie médicale, techniques usuelles. (2007).** In *Revue Francophone des Laboratoires* (Vol. 2007, Issue 397). [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(07\)80677-0](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(07)80677-0)
6. **Belili, Z et Djoudi, F. (2017).** Etude des phénotypes de résistance aux antibiotiques chez les souches de *Staphylococcus aureus* isolées de la sphère ORL. Université A. Mira-Bejaia ; Algérien, 45.
7. **Benouda, A. et Elhamzaoui. (2009).** S. *Staphylococcus aureus*: épidémiologie et prévalence des souches résistantes à la Méthiicilline (SARM) au Maroc. *Rev Tun Infectiol* **3(1)**, 15-20.
8. **Bezzar, N. (2014).** Caractérisation génétique par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) des souches de *Staphylococcus aureus* d'origine hospitalière. Mémoire. Université AbouBekr Bel Kaid Tlemcen. Biologie moléculaire et cellulaire. Algérie, 54.
9. **Bitrus, A. A., Peter, O. M., Abbas, M. A., & Goni, M. D. (2018).** *Staphylococcus aureus*: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms. *Veterinary Sciences: Research and Reviews*, 4(2). <https://doi.org/10.17582/journal.vsr/2018/4.2.43.54>

C

10. **Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021).** Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
11. **Committee, T. E., Testing, A. S., Changes, N., & Pseudomonas, E. (2015).** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters
12. **Cong, Y., Yang, S., & Rao, X. (2020).** Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features. *Journal of Advanced Research*, 21, 169–176. Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.10.005>
13. **Courvaline P. et Leclercq R. (2012).** *Antibiogramme*. 3ème édition. ESKA. Paris, 48- 49.
14. **Cruse PJ, Foord R. (1980).** The epidemiology of wound infection. A 10-year prospective study of 62,939 wounds. *Surg Clin North Am* **60**, 27–40.

D

15. **Diallo AB. (2006).** Le portage nasal de *Staphylococcus aureus* en milieu chirurgical à l'hôpital du Point G. Université de Bamako, Thèse de Pharmacie **06**, 40;
16. **Dicko OA.** Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline au CHU du Point G de 2007 à 2009. Université de Bamako, Thèse de Pharmacie N°13P29; 2013.
17. **Ding, Z. F., Zhang, H., Tan, W., Tong, C. Y., Li, R. T., Chen, L. X., ... & Cui, Y. D. (2012).**

E

18. **EUCAST, (2021).** **European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 13.0, valid from 2023-01-01.** Disponible sur :
Http://Www.Eucast.Org/Fileadmin/Src/Media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/V_5.0_Breakpoint_Table_01.Pdf, 0–77.

G

19. **Garnier, F., Mariani-Kurkdjian, P., Nordmann, P., Ferroni, A., Vu-Thien, H., Philippe, J. C., et Raymond, J. (2002).** Sensibilité aux antibiotiques des souches staphylocoques et d'entérocoques isolés en pédiatrie. *Médecine et maladies infectieuses* **32(8)**, 432-438.
20. **Gebremeskel, F. T., Alemayehu, T., & Ali, M. M. (2022).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotic susceptibility profile and associated factors among hospitalized patients at Hawassa University Comprehensive Specialized Hospital, Ethiopia. *IJID Regions*, **3**, 129–134.
<https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2022.03.015>
21. **GERHARDT, P., MURRAY, R. G. E., WOOD, W. A. & KRIEG, N. R. (1994).** *Methods for General and Molecular Bacteriology.* Washington, DC. ASM, 791.
22. **GUIRAID J.P. (2003).** *La microbiologie alimentaire.* DUNOD. Paris
23. **Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., & Wang, Y. (2020).** Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **10**(March), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00107>

H

24. **Helen, K., & Ashlesha, K. (2019).** Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Formidable Threat or Silence before the Storm? *Journal of Infectious Diseases and Epidemiology*, **5(5)**, 1–9.
<https://doi.org/10.23937/2474-3658/1510093>
25. **Hemmadi, V., & Biswas, M. (2021).** An overview of moonlighting proteins in *Staphylococcus aureus* infection. *Archives of Microbiology*, **203(2)**, 481–498. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02071-y>

I

26. **Ivain, L., & Cossart, P. (2017).** Virulence et résistance aux antibiotiques du staphylocoque doré : Recherche des ARNm ciblés par deux ARN. 1230.

K

27. **Kiptoo, K.V. (2012)**. Profil de sensibilité aux antibiotiques des isolats de *Staphylococcus aureus* des hémocultures, cathéters et des prélèvements de pus à l'hmmv – rabat. Thèse de doctorat. Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie –rabat, Maroc, 76.
28. **Kohler C., Musser D.J., et Dumas N.B. (2009)**. Identification of aerobic Gram negative bacteria. In Goldman E. ET Green L.H. (editurs). Practical Hand Book of Microbiology. CRC press Taylo ET Francis Group NY, USA, 67.

L

29. **Laux, C., Peschel, A., & Krismer, B. (2019)**. *Staphylococcus aureus* Colonization of the human nose and interaction with other microbiome members. *Gram-Positive Pathogens*, 2, 723–730. <https://doi.org/10.1128/9781683670131.ch45>

M

30. **Marchal, N., Bourdon, J. L., Bourdon, J. L., Marchal, N., Pilet, C., Bourdon, L., Marchal, B. T. N., & Pantaléon, J. (2021)**. Le laboratoire de bactériologie , par Ch . Pilet , J . L . Bourdon et N . Marchal . Milieux de culture et identification biochimique des. 238–240.
31. **Mesrati I, Saïdani M, Ennigrou S, Zouari B, Ben Redjeb S. (2010)**. Clinical isolates of Pantone-Valentine leucocidin- and gamma-haemolysin-producing *Staphylococcus aureus*: prevalence and association with clinical infections. *J Hosp Infec* **75** , 265–8.
32. Methylase genes-mediated erythromycin resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis in China. *Isr. J. Vet. Med* **67**, 170-179.
33. **Meziani M. (2012)**. Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas* .Mémoire de Magister .Université Mentori.Constantine P : 30 ,32Microbial. Infect. 10:12-13.

O

34. **Offner PJ, Moore EE, Biffi WL.** MAle gender is a risk factor for major infections after surgery. *Arch Surg* 1999;134:935–40. doi:10.1001/archsurg.134.9.935.
35. **ONERBA. (2017)**. Observation National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotique. Rapport annuel
36. **Ouidri, M. A. (2018)**. Screening of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during admission of patients to Frantz Fanon Hospital, Blida, Algeria. *New Microbes and New Infections*, 23, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.02.006>

R

37. **Rahal K, Belouni R, Tali-Maamar H, Boudouane M. (2012)**. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques
38. **Rebiahi, S. A., Abdelouahid, D. E., Rahmoun, M., Abdelali, S., & Azzaoui, H. (2011)**. Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). *Medecine et Maladies Infectieuses*, 41(12), 646–651. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.09.010>

S

39. **Saïdani, M., Boutiba, I., Ghozzi, R. et al. (2006).** Profil bactériologique des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Médecine et Maladies Infectieuses* 36 (3), 163–166.
40. **Singleton P. (1999).** Spore heat Resistance Correlated with water content, wet density, and protoplast/sporoplast volume ratio. *Journal of bacteriology* **150(2)**, 870-877.
41. **Soussy CJ.(2011).** Société Française de Microbiologie. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie : recommandations .CA-SFM ; 2012

Y

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

Z

43. **Zriouil SB, Bekkali M, Zerouali K. (2012).** Epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections and nasal carriage at the Ibn Rochd University Hospital Center, Casablanca, Morocco. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis* **16**, 279–83.



Matériel utilisé

1. Les appareils lourds



Autoclave de la marque
SANOC LAV LaM-3-20-ECZ-J.



Agitateur magnétique avec
plaque chauffante de la
marque DIAB (MS-H-S).



Bain marie de la marque
Mettmert (Germany).



Balance de précision.



Bec bunsen.



Distillateur de la marque
BunchI Distillation Unit K-
350 (Switzerland).



Etuve réglable à température
différente.



Etuve du laboratoire
vétérinaire.



Microscope



Réfrigérateur.



Vortex.

2. Matériel léger et accessoires

Les accessoires, matériel léger, produits chimiques et réactifs utilisés sont présentés dans le tableau suivant :

Accessoires	verrerie	Colorants	Autres
Anses de platine, Barreau magnétique, Boîtes de Pétri, Coton-tige, Cuillère, Disque d'antibiotique, Micropipette, Ecouvillon, Elastique, Embouts stériles, Gant médical, Marqueur permanent, Papier aluminium, Papier film, Ciseau, Pince, Pissette, Poires. Portoir, Règle en millimètre, Ruban adhésif. Rubans de parafilm, Spatules, Tube de prise vide,	Entonnoirs, Eprouvette graduées, Erlenmeyers, Flacons en verre, Lame, Pipettes Pasteur, Tubes à essai,	Fuschine, Lugol, Violet de Gentiane,	Alcool, Glacière Huile à immersion

3. Réactif



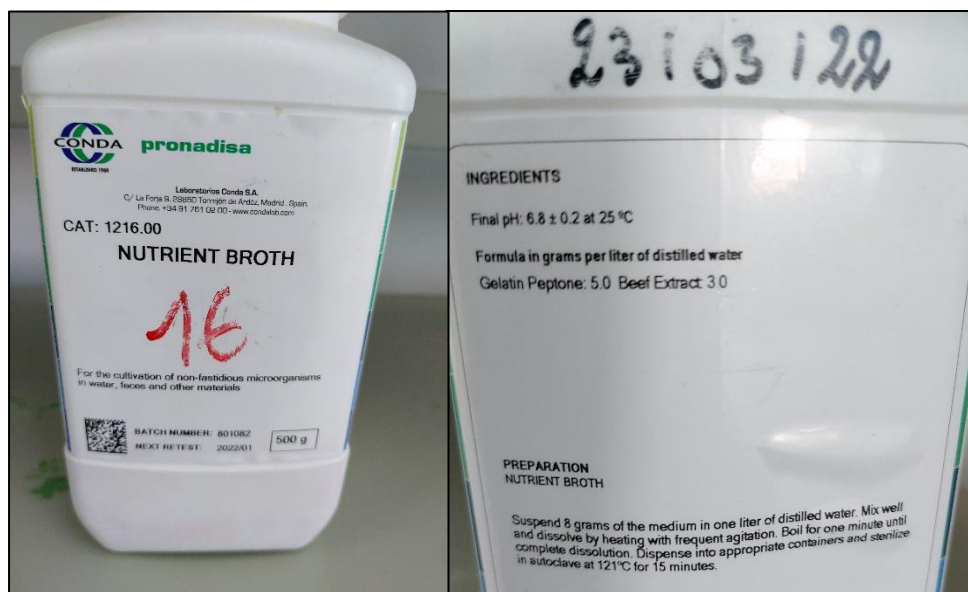
Peroxyde d'hydrogène,



Disque oxydase.

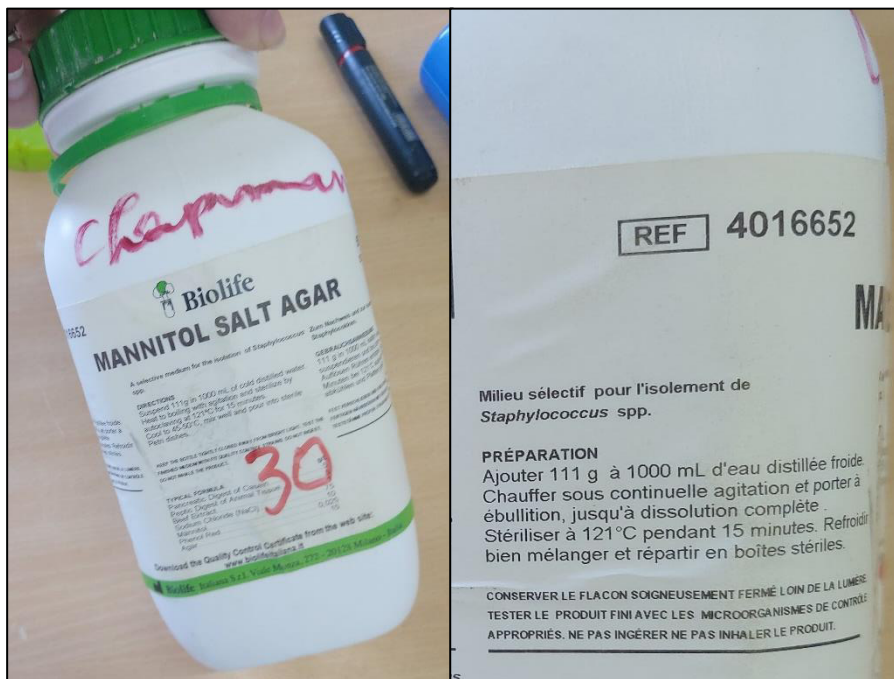
Les milieux de culture utilisés

Bouillon nutritif (= milieu BN = Nutrient broth)



Constituants	Quantité en g/l
Peptone de gélatine	5
Extrait de bœuf	3
<p>pH $6,84 \pm 0,2$ à 25°C.</p> <p>Dissoudre 8 gramme dans 1 litre d'eau distillée.</p> <p>Repartir en tubes a essais (7 à 10 ml).</p> <p>Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.</p>	

CHAPMAN

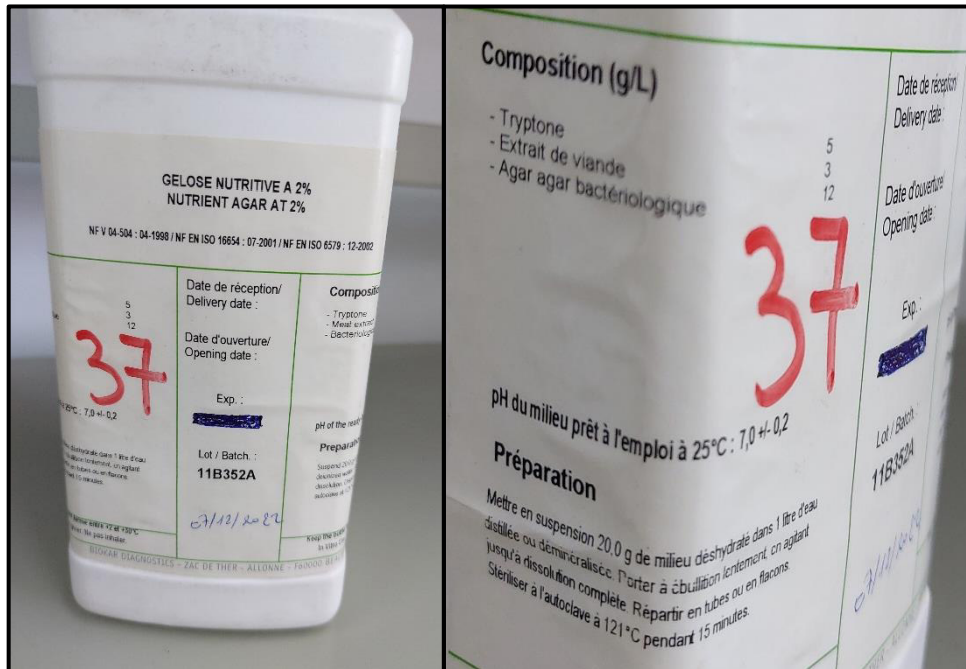


Constituants	Quantité en g/l
Digestion peptique de tissus animaux	5
Hydrolysat de caséine	5
Extrait de viande de bœuf	1
Chlorure de sodium	75
D-mannitol	10
Rouge de phénol	0,025
Agar	15
pH 7,4 ± 0,2 à 25°C.	
Dissoudre 111 gramme dans 1 litre d'eau distillée.	
Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.	

EAU PHYSIOLOGIQUE

Constituants	Quantité en g/l
Na cl	9
9 grammes dans 1 litre d'eau distillée.	
Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.	

Gélose nutritive



Constituants	Quantité en g/l
tryptone	5
Extrait de viande	3
Agar agar bactériologique	12
pH 7,0 ± 0,2 à 25°C.	
Dissoudre 20 gramme dans 1 litre d'eau distillée.	
Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.	

Gélose au sang frais

Nous avons préparé le milieu gélose au sang frais en ajoutant du sang frais au milieu gélose nutritive.

Pour 180 gramme de gélose nutritive nous avons additionnée 10 ml de sang.



1

Préparation de 180 ml de gélose nutritive.



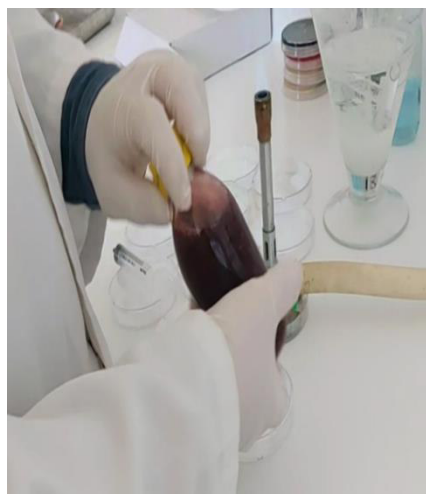
2

Prélèvement de 10ml de sang frais.



3

Ajout du sang dans la gélose nutritive a température ambiante pour éviter de cuire le sang.



4

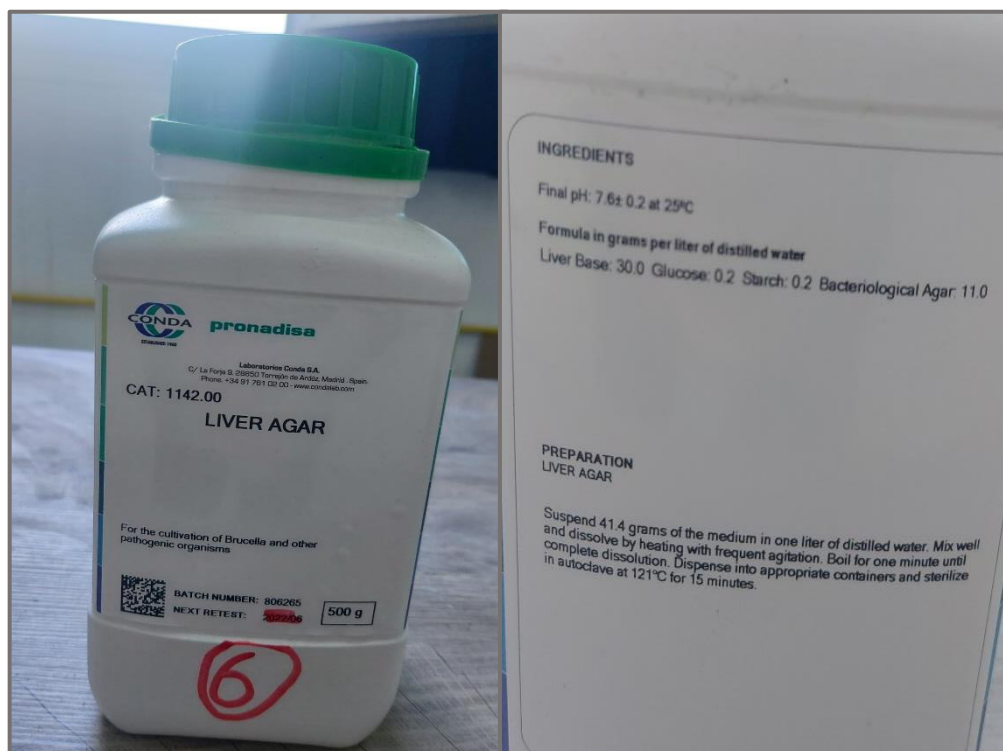
Bien mélanger pour homogénéiser le milieu.



5

Couler dans des boites de pétri.

Gélose au foie (Liver agar)



Constituants	Quantité en g/l
Liver base	30
Glucose	0.2
Amidon	0.2
Agar bactériologique	11
pH 7,6 ± 0,2 à 25°C.	
Dissoudre 41.4 gramme dans 1 litre d'eau distillée.	
Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.	

MULLER HINTON



Constituants	Quantité en g/l
Hydrolysate de caséine	17,5
Agar	17
Infusion de viande de bœuf	2
Amidon	1,5
pH 7,3 ± 0,2 à 25°C.	
Dissoudre 38 gramme dans 1 litre d'eau distillée.	
Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.	

Fiche d'information de chaque échantillon utilisée lors de cette étude

Echantillons	Région	Sexe	Age	Maladie	Prélèvement	Date de prélèvement	Durée d'hospitalisation
E1	BBA (H : Benabid)	Homme	68 ans	hématome sous-durale	cathéter	12/03/20233	02 jours
E2	BBA (H : Benabid)	Homme	81 ans	hématome sous-durale	cathéter	12/03/20233	01 jour
E3	BBA (H : Benabid)	Enfant	14 ans	trauma crânien	cathéter	12/03/20233	05 jours
E4	BBA (H : Benabid)	Enfant	13 ans	Trauma crânien (AVP)	cathéter	12/03/20233	02 jours
E5	BBA (H : Benabid)	Homme	90 ans	hémorragie cérébelleuse à distance	cathéter	12/03/20233	04 jours
E6	BBA (H : Bouzidi)	Femme	29 ans	/	pus vaginale	15/03/2023	/
E7	BBA (H : Bouzidi)	Femme	32 ans	/	contenu vésiculaire	15/03/2023	/
E8	BBA (H : Bouzidi)	Femme	37 ans	/	hémoculture	19/03/2023	/
E9	BBA (H : Bouzidi)	Enfant	14 ans	/	kyste pré-nasal	19/03/2023	/
E10	BBA (H : Bouzidi)	Femme	62 ans	néo de l'estomac	pleurésie purulente	20/03/2023	/
E11	BBA (H : Bouzidi)	Homme	32 ans	/	liquide pleural	21/03/2023	/
E12	BBA (H : Bouzidi)	Homme	33 ans	pleurésie droite post traumatique	liquide péritonéal	21/03/2023	/
E13	BBA (H : Benabid)	Homme	93 ans	hernie inguinale	sonde trachéale	21/03/2023	02 jours
E14	BBA (H : Bouzidi)	Homme	27 ans	/	pus du ganglion	22/03/2023	/
E15 (D)	BBA (Labo privé)	Homme	63 ans	/	prélèvement nasal côté droit	22/03/2023	/
E15 (G)	BBA (Labo privé)	Homme	63 ans	/	prélèvement nasal côté gauche	22/03/2023	/
E16	BBA (Maternité)	/	/	/	respirateur 1 (bloc opératoire)	28/03/2023	/
E17	BBA (Maternité)	/	/	/	respirateur 2 (bloc opératoire)	28/03/2023	/
E18	BBA (Maternité)	/	/	/	table opératoire (bloc opératoire)	28/03/2023	/
E19	BBA (Maternité)	/	/	/	chariot (bloc opératoire)	28/03/2023	/
E20	BBA (Maternité)	/	/	/	boite d'instruments (bloc opératoire)	28/03/2023	/
E21	BBA (H : Bouzidi)	Femme	55 ans	/	urine	28/03/2023	/
E22	BBA (Maternité " service pédiatrie")	/	/	/	table d'examen avant désinfection (salle de soin)	03/04/2023	/
E23	BBA (Maternité " service	/	/	/	paillasse de prélèvement avant	03/04/2023	/

	pédiatrie")				désinfection		
E24	BBA (Maternité " service pédiatrie")	/	25 ans	/	les mains d'infirmier après désinfection	03/04/2023	/
E25	BBA (Maternité " service pédiatrie")	/	32 ans	/	les mains du médecin avant désinfection	03/04/2023	/
E26	BBA (Maternité " service pédiatrie")	/	/	/	lit avant désinfection	03/04/2023	/
E27	BBA (Maternité " service pédiatrie")	/	45 ans	/	les mains d'infirmier (urgences)	03/04/2023	/
E28	BBA (Maternité " service pédiatrie")	/	/	/	paillasse de salle de soin avant désinfection (urgences)	03/04/2023	/
E29	BBA (H : Bouzidi)	Femme	49 ans	/	liquide pleural	03/04/2023	/
E30	BBA (H : Bouzidi)	Homme	96 ans	/	liquide pleural	03/04/2023	/
E31 (A)	BBA (H : Bouzidi)	Homme	59 ans	AVC ischémique	sonde trachéale	11/04/2023	08 jours
E31(B)	BBA (H : Bouzidi)	Homme	59 ans	AVC ischémique	sonde vésicale	11/04/2023	08 jours
E32	BBA (H : Bouzidi)	Femme	78 ans	AVC hémorragique	cathéter	11/04/2023	01 jour
E33	BBA (H : Bouzidi)	Homme	73 ans	AVC ischémique	sonde vésicale	12/04/2023	05 jours
E34	BBA (H : Bouzidi)	Homme	43 ans	/	PDP sonde	12/04/2023	/
E35 (A)	BBA (H : Bouzidi)	Femme	65 ans	hématome	prothèse	13/04/2023	/
E35 (B)	BBA (H : Bouzidi)	Femme	65 ans	hématome	hémoculture	13/04/2023	/
E36	BBA (H : Bouzidi)	Homme	68 ans	/	liquide pleural	13/04/2023	/
E37	BBA (H : Bouzidi)	Femme	55 ans	/	liquide pleural	13/04/2023	/
E38 (A)	BBA (H : Bouzidi)	Homme	79 ans	AVC étendue	cathéter à double lumière	16/04/2023	06 jours (décédé)
E38 (B)	BBA (H : Bouzidi)	Homme	79 ans	AVC étendue	sonde vésicale	16/04/2023	06 jours (décédé)
E38 ©	BBA (H : Bouzidi)	Homme	79 ans	AVC étendue	tube d'intubation	16/04/2023	06 jours (décédé)

(H) : Hôpital ; **(AVC)** : Accident vasculaire cérébral ; **(AVP)** : Accident voie public ; **(PDP)** : prélèvement distal protégé

Profil de résistances des staphylocoques

Les souches positives	Espèce	Antibiogramme													
		CTX/ATM	FC	CMN	CHL	SP	VA	ERY	PEN	OFX	NET	OXC	GMN	TE	RP
E15 (D)	<i>S. sp</i>	10	8	8	23	8	8	11	8	23	20	7	22	29	15
E15 (G)	<i>S. sp</i>	13	9	10	23	10	9	12	9	22	21	9	22	20	12
E21	<i>S. sp</i>	0	0	0	31	10	0	0	0	0	17	0	7	26	0
E23	<i>S. sp</i>	36	9	8	30	8	9	10	8	34	22	8	23	20	0
E24	<i>S. sp</i>	9	9	9	30	8	22	9	9	8	24	10	30	29	10
E25	<i>S. sp</i>	8	19	30	28	19	20	12	7	11	21	7	11	25	15
E26	<i>S. sp</i>	22	8	0	14	18	16	22	0	25	19	0	18	22	24
E27	<i>S. aureus</i>	16	30	22	28	20	16	27	20	25	18	16	17	28	27
E28	<i>S. aureus</i>	19	14	24	37	26	16	26	12	28	24	19	23	31	27
E31 (B)	<i>S. sp</i>	28	32	7	28	0	18	7	14	28	17	21	7	19	8
E33	<i>S. aureus</i>	8	7	8	9	7	8	8	7	6	11	6	11	5	9
E34	<i>S. aureus</i>	25	36	24	24	21	16	23	9	29	19	15	18	23	25
E35 (A)	<i>S. aureus</i>	18	31	30	29	27	18	10	0	31	21	13	19	35	0
E38 (A)	<i>S. sp</i>	0	0	0	23	11	0	8	0	0	11	0	14	12	10
E38 (B)	<i>S. aureus</i>	0	33	27	24	24	17	13	12	23	21	17	21	17	9
E38 ©	<i>S. aureus</i>	8	31	12	22	18	15	9	8	8	19	8	11	19	10

S. sp : *Staphylococcus.sp* ; *S. aureus* : *Staphylococcus aureus*

Code couleur :

Rouge : Résistante.

Vert : Sensible.

Jaune : Intermédiaire.

Attestation obtenue lors du stage effectuer dans l'établissement hospitalier

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

ولاية برج بوعريريج
المؤسسة العمومية الاستشفائية برج بوعريريج
الرقم38...../م م ب /2023

شهادة تربيص

نحن الممضي أسفله السيد مدير المؤسسة العمومية الاستشفائية
برج بوعريريج نشهد بأن السيد(ة): بزطوط لياليا متريصة ماستر 02
علوم بيولوجية تخصص: ميكروبيولوجيا تطبيقية، قد أجرت تربيص
على مستوى مصلحة المخبر المركزي في الفترة الممتدة من: 2023/02/26
إلى غاية 2023/04/18 .

سلمت هذه الشهادة دون شطب أو كشط بطلب من المعني(ة)
بالأمر للإدلاء بها عند الحاجة وفي حدود ما يسمح به القانون .

برج بوعريريج في 18. أبريل 2023.....

المدير



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

ولاية برج بوعريريج
المؤسسة العمومية الاستشفائية برج بوعريريج
الرقم39...../م م ب /2023

شهادة تربص

نحن الممضي أسفله السيد مدير المؤسسة العمومية الاستشفائية
برج بوعريريج نشهد بأن السيد(ة): بوعوينة دنيا متربصة ماستر 02
علوم بيولوجية تخصص: ميكروبيولوجيا تطبيقية، قد أجرت تربص
على مستوى مصلحة المخبر المركزي في الفترة الممتدة من: 2023/02/26
إلى غاية 2023/04/18 .

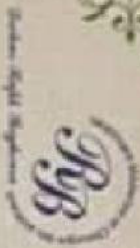
سلمت هذه الشهادة دون شطب أو كشط بطلب من المعني(ة)
بالأمر للإدلاء بها عند الحاجة وفي حدود ما يسمح به القانون .

برج بوعريريج في 19 أفريل 2023

المدير

المدير





Republique Algerienne Démocratique et Populaire
Wialya de Bordj Bou Arreridj

Cabinet de Médecine Vétérinaire et Chirurgie des Animaux

Attestation de Stage

Nous attestons que :

MM. Bestout lilia

Etudiante en MASTER 2 microbiologie appliquée

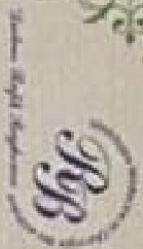
A effectuer un stage au sein de notre cabinet vétérinaire, afin de réaliser son mémoire de fin d'étude.

Et cela du 27 Mars au 27 Mai 2023

Le docteur Vétérinaire

Dr : BEGHODJA Rafik
- Médecin Vétérinaire -
A.V. N° : 92239

La présente attestation est délivrée
pour servir et valloir ce que de droit.



Republique Algérienne Démocratique et Populaire
Wialya de Bordj Bou Arreridj
Cabinet de Médecine Vétérinaire et Chirurgie des Animaux

Attestation de Stage

Nous attestons que :

MM .Bouaouina Dounia

Etudiante en MASTER 2 microbiologie appliquée

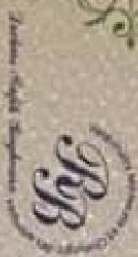
A effectuer un stage au sein de notre cabinet vétérinaire, afin de réaliser son mémoire de fin d'étude.

Et cela du 27 Mars au 27 Mai 2023

Le docteur Vétérinaire

La présente attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Dr : BESSAOUDA Rafik
MAGASIN VÉTÉRINAIRE



République Algérienne Démocratique et Populaire

Wialya de Bordj Bou Areridj

Cabinet de Médecine Vétérinaire et Chirurgie des Animaux

Attestation de Stage

Nous attestons que :

MM. Bouziane Amina

Etudiante en MASTER 2 microbiologie appliquée

A effectuer un stage au sein de notre cabinet vétérinaire, afin de réaliser son mémoire de fin d'étude.

Et cela du 27 Mars au 27 Mai 2023

Le docteur Vétérinaire

DR. BEGHOURA Rafik
Médecin Vétérinaire

05 50 45 53 39

La présente attestation est délivrée
pour servir et valoir ce que de droit.

Tel. : 05 50 45 53 39



Résumé

Résumé

Le staphylocoque est responsable d'un large éventail d'infections, tant dans les milieux hospitaliers que dans la communauté. Parmi les nombreux pathogènes impliqués, *Staphylococcus aureus* est particulièrement préoccupant en raison de sa fréquence élevée dans les infections nosocomiales et communautaires. Notre étude vise à isoler et identifier les bactéries du genre *Staphylococcus* dans les milieux hospitaliers de la ville de Bordj Bou Arreridj. Nous analysons également les facteurs de risque qui peuvent favoriser l'apparition de ces infections et évaluons la sensibilité *in vitro* de ces germes isolés aux antibiotiques.

Parmi les échantillons examinés, nous avons réussi à isoler 16 souches de staphylocoques en culture pure. Suite à l'application du test de coagulase sur ces germes, il a été constaté que 7 souches étaient positives à la coagulase, ce qui indique qu'elles sont des *Staphylococcus aureus*. Ces souches représentent 44 % du total des isolats. En revanche, 9 souches étaient des Staphylocoques coagulase négative, ce qui représente 56% du total des isolats.

Le test de sensibilité a été effectué *in vitro* par la méthode de diffusion sur Muller Hinton, la majorité des souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à la méthicilline avec un taux de 86 % (SARM) et un taux de 71 % à la famille des glycopeptides « vancomycine ».

A la lumière des résultats obtenus, il s'avère que l'infection à *Staphylococcus aureus* est associée à une prédominance chez les hommes, avec un pourcentage de 80 %. De plus, nous avons observé une prévalence élevée de cette infection dans la tranche d'âge de 45 à 65 ans, avec un taux de 43 %. En ce qui concerne le site de prélèvement, nous avons constaté que l'hôpital Bouzidi présentait le taux le plus élevé d'infections à *S. aureus*, avec un taux de 83 %.

Mots clés : *Staphylococcus*, Infection nosocomial, Antibiorésistance, SARM, Vancomycine, Algérie.

تعد المكورات العنقودية المسبب الرئيسي لمجموعة واسعة من العدوى، سواء في المستشفيات أو المجتمع. ومن ضمن مسببات هذه الامراض، تعتبر المكورات العنقودية الذهبية مثيرة للقلق بشكل خاص بسبب إنتشارها العالي في عدوى المستشفيات والمجتمع. تهدف دراستنا إلى عزل وتحديد البكتيريا من صنف *staphylocoques* في المجالات الإستشفائية في مدينة برج بوعرييج. قمنا أيضا بدراسة العوامل المؤثرة التي يمكن أن تساهم في ظهور العدوى و إختبار الحساسية للمضادات الحيوية لهذا الصنف من البكتيريا.

من بين العينات التي تم فحصها، تمكنا من عزل 16 سلالة من صنف *staphylocoques*. بعد تطبيق إختبار تخثر الدم على هذه الجراثيم، وجد أن 7 سلالات (44%) كانت إيجابية التخثر، مما يشير إلى أنها جرثومة *Staphylococcus aureus*. في المقابل، كانت 9 سلالات من المكورات العنقودية سلبية التخثر، مما يمثل 56% من إجمالي العزلات.

تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية في المختبر باستخدام طريقة الانتشار على وسط الزرع *Hinton Mueller*، وتبين أن العديد من سلالات *Staphylococcus aureus* مقاومة للميثيسيلين بنسبة 86% (MRSA) وأيضاً لعائلة الغليكوبيبتيدات "الفانكوميسين" بنسبة تفوق 71%.

على ضوء النتائج المتحصل عليها، تبين أن جرثومة *Staphylococcus aureus* مرتبطة بهيمنتها على فئة الذكور، بنسبة 80%. بالإضافة إلى ذلك، لاحظنا ارتفاع معدل انتشار هذه العدوى في الفئة العمرية من 45 إلى 65 سنة، بمعدل 43%.

اما بالنسبة لموقع أخذ العينات، فقد وجدنا أن مستشفى بوزيدي به أعلى معدل لعدوى

Staphylococcus aureus ، بنسبة 83%.

الكلمات المفتاحية: المكورات العنقودية، عدوى المستشفيات، المقاومة للمضادات الحيوية، MRSA، الفانكوميسين، الجزائر.

Abstract

Staphylococcus is responsible for a wide range of infections, both in hospital settings and in the community. Among the many pathogens involved, *Staphylococcus aureus* is particularly concerning due to its high frequency in nosocomial and community-acquired infections. Our study aims to isolate and identify *Staphylococcus* bacteria in hospital settings in the city of Bordj Bou Arreridj. Additionally, we will analyze the potential risk factors associated with the occurrence of these infections. Furthermore, we will assess the in vitro sensitivity of the isolated strains to various antibiotics.

Among the samples examined, we successfully isolated 16 strains of *Staphylococcus* in pure culture. After conducting the coagulase test on these strains, it was found that 7 strains tested positive for coagulase, indicating that they are *Staphylococcus aureus*. These particular strains make up approximately 44% of the total isolates. On the other hand, 9 strains were coagulase-negative *Staphylococci*, representing 56 % of the total isolates.

The sensitivity test was performed in vitro using the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar. The results revealed that a significant proportion of the *Staphylococcus aureus* strains isolated were methicillin-resistant, with an alarming rate of 86 % classified as MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*). Furthermore, among the *Staphylococcus aureus* strains tested, approximately 71% exhibited resistance to glycopeptide antibiotics, particularly vancomycin.

Based on the obtained results, *Staphylococcus aureus* infection is found to be associated with a predominance in males, with a percentage of 80 %. Furthermore, we observed a high prevalence of this infection in the age group of 45 to 65 years, with a rate of 43 %. Regarding the site of collection, it was found that Bouzidi Hospital had the highest rate of *S. aureus* infections, with a rate of 83 %.

Keywords: *Staphylococcus*, Nosocomial infection, Antibiotic resistance, MRSA, Vancomycin, Algeria.