

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHESCIENTIFIQUE
UNIVERSITE Dr. TAHER MOULAY SAIDA
FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MINI PROJET DE L'OBTENTION DU DIPLOME
MASTER EN BIOLOGIE

OPTION : Microbiologie

Présenté Par :

- M^{lle} : *Atig Dalal.*
- M^{lle} : *Kadi Asmaa Ismahane.*

INCIDENCE DES GISA ET DES SARM SUR
LES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Soutenu le : 12/06/ 2016 devant la commission d'examen :

- | | |
|-------------------------------|---|
| ➤ Mr Kébir Tahar | Maitre assistant « A » (U de Saida) Président. |
| ➤ Mr Sghir Abdelfettah | Maitre assistant « A » (U de Saida) Examinateur. |
| ➤ Mr. Ghellai Lotfi | Maitre assistant « B » (U de Saida) Encadreur. |

Année Universitaire : 2015-2016

REMERCIEMENTS

Aucune expression, aussi élaborée qu'elle soit, ne me pourrait traduire ma profonde gratitude à :

Mon encadreur Mr Ghellai Lotfi

Les membres de jury Mr Kébir Tahar (Président) et Mr Sghir Abdelfettah (Examineur)

Mes enseignants qui m'ont soutenu durant tout le cursus universitaire.

Vos qualités professionnelles et votre rigueur sont pour moi des exemples à suivre.

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, à ma mère.

A toute ma famille, frères et sœurs.

A ma belle famille Zougou et Aicha.

A mes amis et tous ceux qui me sont chers.

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime .

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique.

Agr: Accessory gene regulator.

ARN: Acide Ribonucléique.

ARNr: Acide Ribonucléique ribosomal.

ATCC: American type culture collection.

Aw: activité de l'eau.

BMR : Bacille Multirésistant.

BORSA: Borderline Oxacilline Resistant *Staphylococcus aureus*.

CA-SFM: Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

CDC: Center for Disease Control and prevention.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

°C: Celsius

EARSS: European Antimicrobial Resistance Surveillance System

GC: guanine cytosine.

GISA: Staphylococcus Aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

La FAME: Fatty acid modifying enzyme.

LPV: La leucocidine de Panton-Valentine.

MéthiS: méticilline sensibles.

NaCl: Chlorure de Sodium.

pb: paire de base.

PBPs: Penicillin Binding Proteins.

PéniR: pénicilline résistantes.

PLP: protéines liant les pénicillines.

S. aureus: *staphylococcus aureus*.

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline.

SDRM : Staphylocoque doré résistant à la méticilline.

SCC : Staphylococcal Chromosomal Cassette.

SCN : staphylococcus à coagulase négatif.

TSST1 : Toxine du choc staphylococcique.

VIH : Le virus de l'immunodéficience humaine.

µg : microgramme.

Mec A : gène de résistance à la méticilline.

Van : gène de résistance à la vancomycine.

bla Z : gène de résistance aux β -lactamines.

VISA : vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus.

SARV : Staphylococcus aureus résistant à la vancomycine.

h-VISA: heterogeneously resistant VRSA.

VRSA : vancomycin-resistant Staphylococcus aureus.

VSSA : vancomycin- suseptible Staphylococcus aureus.

GRSA : glycopeptide-resistant Staphylococcus aureus.

GISA : glycopeptide-intermediate Staphylococcus aureus.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Critères simplifiés pour la surveillance des infections nosocomiales	3
Tableau 2: Différents caractères bactériologiques de Staphylococcus aureus	16
Tableau 3: Caractères distinctifs de Staphylococcus aureus	18
Tableau 4: Recommandations américaines pour la prévention de la dissémination de souches de staphylocoque résistantes aux glycopeptides	40
Tableau 5: Recommandations américaines pour les situations dans lesquelles la vancomycine doit être évitée.....	41
Tableau 6: Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés	51
Tableau 7: répartition des prélèvements selon leur culture	51
Tableau 8: Nature des matériaux qui constituent les dispositifs implantables	53
Tableau 9: fréquence d'isolement de S.aureus	56
Tableau 10: Les différents résultats de l'étude de résistance aux antibiotiques de Staphylococcus aureus	59
Tableau 11: Évolution de la résistance à la méthicilline de S. aureus	61
Tableau 12: Tableau d'identification du catalogue analytique API Staph.....	Annexes
Tableau 13: Tableau de lecture les API® Staph	Annexes

Liste des figures

Figure 1: Répartition des infections nosocomiales validées en fonction du site.	6
Figure 2 : Staphylocoques en amas.....	15
Figure 3: Aspect de <i>S. aureus</i> en microscopie électronique	15
Figure 4: Voies de transmission des staphylocoques.....	24
Figure 5: Utilisation des antibiotiques et acquisition des résistances par <i>S. aureus</i>	26
Figure 6: Mécanisme de résistance de <i>S. aureus</i> à la méticilline par PLP2.....	31
Figure 7: Bases génétiques et biochimiques de la résistance de <i>S. aureus</i> à la méticilline	33
Figure 8: Comparaison de la paroi d'une cellule de <i>Staphylococcus aureus</i> sensible (1) et une autre résistante à la vancomycine (2, 3)	37
Figure 9: Profondeur d'insertion de l'écouvillon dans la narine antérieure du patient..	43
Figure 10: Identification de <i>S. aureus</i> et de <i>S. epidermidis</i> API® Staph.....	49
Figure 11: Répartition des prélèvements selon leur culture	53
Figure 12: Aspect macroscopique des colonies de <i>S.aureus</i> sur milieu Chapman.....	54
Figure 13 : Aspect microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Figure 14: Mise en évidence de catalase (A) et coagulase (B) libre chez <i>S.aureus</i>	55
Figure 15: Représentation graphique du nombre des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Figure 16: Coloration de Gram.....	Annexes

Liste des annexes

Annexe 1: Milieux de culture

Annexe 2: Réactifs et solution

Annexe 3: Coloration de gram

Annexe 4: Tableaux

Annexe 5: Photos personnelles

Résumé

Les infections nosocomiales constituent un véritable problème de santé publique mondiale. Et même si la lutte contre ces infections est bien orchestrée dans les pays développés elle demeure primitive chez les pays en voie de développement qui enregistrent souvent une carence en matière de données fiables et d'une absence de législation.

A l'origine de ces infections un certain nombre de microorganismes se sont individualisés, dont *Staphylococcus aureus* qui reste un très bon indicateur de la qualité des soins. L'objectif de ce travail était de connaître l'incidence et la prévalence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline « SARM » et *S. aureus* de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides « GISA » dans l'Hôpital d'Ahmed Medaghri de Saida (Algérie). Le recueil des données a également concerné l'évaluation du niveau de résistance aux antibiotiques tout en mettant l'accent sur la mise en évidence du phénomène de multirésistance.

Nos résultats mettent en avant une incidence alarmante de SARM de GISA dans les différents services de l'hôpital avec un taux qui dépasse les 50%. Ces souches ont manifesté une multirésistance, caractérisée par l'apparition d'une résistance à la vancomycine et à la méticilline.

La lutte contre les infections sur les dispositifs médicaux passe obligatoirement par le respect des règles d'hygiène et d'asepsie. La maîtrise des techniques de soin est la seule garante de la qualité de sécurité des soins prodigués aux patients.

Mots clés : antibiorésistance, Infections nosocomiales, *Staphylococcus aureus*, Vancomycine, méticilline.

Summary

Nosocomial infections constitute a major public health problem worldwide. And even if the fight against these infections is well orchestrated in developed countries remains primitive in developing countries who often deficient in terms of reliable data and a lack of legislation.

The origin of these infections a number of microorganisms are individualized, including *Staphylococcus aureus*, which is a very good indicator of quality of care. The aim of this study was to know the incidence and prevalence of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin « MRSA » and Glycopeptide Intermediate *S. aureus* « GISA » in the hospital of Ahmed Medaghri Saida (Algeria). Data collection has also assessed the level of antibiotic resistance while focusing on the discovery of the phenomenon of multidrug resistance.

Our results highlight an alarming incidence of MRSA and GISA in different ward with a rate exceeding 50%. These strains have expressed multidrug resistance, characterized by the development of resistance to vancomycin and methicillin.

The fight against infections on medical devices must go with the observance of hygiene and asepsis. Mastering care techniques is the only guarantor of the quality of care lavished safety to patients.

Keywords: antibiotic resistance, nosocomial infections, *Staphylococcus aureus*, vancomycin, methicillin.

ملخص

تعتبر عدوى المستشفيات مشكلة صحية عامة عالمية و حقيقية. وعلى الرغم من أن مكافحة هذه الأمراض مدبرة في البلدان المتقدمة لا تزال بدائية في البلدان النامية وغالبا ما تواجه نقص في الحصول على البيانات الموثوقة وغياب التشريعات.

أصل هذه الالتهابات عدد من الكائنات الحية الدقيقة، بما فيها المكورات العنقودية الذهبية، والتي تعتبر مؤشر عن جودة نوعية الرعاية الصحية. كان الهدف من الدراسة هو معرفة توصيف وانتشار المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين "SARM" و المكورات الذهبية للفانكوميسين "GISA" في مستشفى أحمد مدغري بسعيدة (الجزائر). إن سجل البيانات سلط الضوء على تقييم مستوى مقاومة المضادات الحيوية مع التركيز على الكشف عن ظاهرة المقاومة لمختلف الأدوية.

بينت نتائج هذه الدراسة عن نسبة مخيفة من المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين "SARM" و المكورات الذهبية المقاومة للفانكوميسين في مختلف إدارات المستشفى بمعدل يتجاوز 50%. وقد أظهرت هذه السلالات مقاومة للأدوية المتعددة، تتميز بظهور المقاومة للفانكوميسين والميثيسيلين.

مكافحة هذه العدوى في الأجهزة الطبية يجب أن تتماشى مع احترام النظافة واحترام تقنية التعقيم مع التمكن من تسيير تقنيات العلاج الذي يعتبر الضمان الوحيد لجودة الرعاية الصحية و السليمة للمرضى.

كلمات البحث: المقاومة للمضادات الحيوية، عدوى المستشفيات، المكورات العنقودية الذهبية، فانكوميسين، ميثيسيلين.

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicaces

Liste des Abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Introduction..... 1

Etude bibliographique

1. Généralités..... 2

1.1. Définitions des infections nosocomiales 2

1.2. Localisation des infections nosocomiales..... 4

1.2.1. Infections respiratoires..... 4

1.2.2. Infections urinaires..... 4

1.2.3. Infections du site opératoire 4

1.2.4. Bactériémies nosocomiales primaire et secondaire 5

1.2.5. Autres infections nosocomiales..... 5

1.3. Les microorganismes impliqués dans les infections nosocomiales 6

1.3.1. Virus..... 6

1.3.2. Parasites et champignons..... 6

1.3.3. Bactéries 7

1.4. Réservoirs et transmission 8

1.5. Les bactéries les plus répandues dans les infections nosocomiales 9

2. Le genre *Staphylococcus* 10

2.1. Habitat 10

2.2. Classification..... 12

2.3. L'espèce *Staphylococcus aureus* 12

2.3.1. Caractères bactériologiques 12

2.3.2. Morphologie..... 14

2.3.3. Caractères culturels..... 17

2.3.4. Caractères physiologiques et biochimiques 18

2.3.5. Facteurs de virulence et physiopathologie 19

2.4. Le pouvoir pathogène..... 22

2.4.1. De l'habitat à la colonisation 22

2.4.2. De la colonisation à l'infection 22

2.5. Mode de transmission	23
2.6. Support génétique de la virulence.....	25
2.6.1. Support génétique de la résistance aux antibiotiques	26
3. Les Staphylococcus aureus résistants à la méticilline « SARM	28
3.1. Historique.....	28
3.2. Résistance à la méticilline	29
3.3. Mécanismes de résistance à la méticilline	30
3.4. Support de résistance	32
3.5. Les causes d'infection par SARM	33
3.6. Symptômes de l'infection à SARM	33
3.7. Transmission des SARM	34
3.8. Diagnostic des Staphylococcus aureus résistants à la méthicilline	35
3.9. Traitement des SARM	35
4. Les staphylococcus aureus de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides	36
4.1. Définition.....	36
4.2. Le mécanisme de résistance.....	36
4.3. Détection des souches au laboratoire.....	38
4.4. Prévention SDMR et GISA.....	39
4.4.1. Mesures d'hygiène adaptées	39
4.4.2. Optimisation de l'utilisation des glycopeptides	39

Matériel et méthodes

1. Matériels	42
1.1. Milieux de culture et produits	42
2. Méthodes	42
2.1. Origine de prélèvement.....	42
2.2. Type d'étude	42
2.3. Lieu d'étude	43
2.4. Critères d'inclusion	43
2.5. Critères d'exclusion.....	43
2.6. Recueil des données	43
2.7. Les prélèvements	43
2.7.1 Prélèvement nasal.....	43
2.7.2 Prélèvement de cathéter.....	44
2.8. Isolement et purification.....	44

2.9. Identification.....	44
2.9.1. Examen macroscopique	44
2.9.2. Examens microscopiques	45
2.10. Identification biochimique.....	46
2.10.1. Recherche de la catalase	46
2.10.2. Test coagulase	46
2.11. Identification par plaque API 20 Staph (BioMérieux)	47
2.12. Conservation des souches	49
2.13. Antibiogramme.....	49
1. Matériels	42
1.1. Milieux de culture et produits	42
2. Méthodes	42
2.1 Origine de prélèvement.....	42
2.2 Type d'étude	42
2.3 Lieu d'étude	43
2.4 Critères d'inclusion	43
2.5 Critères d'exclusion.....	43
2.6. Recueil des données.....	43
2.7 Les prélèvements	43
2.7.1. Prélèvement nasal.....	43
2.7.2. Prélèvement de cathéter.....	44
2.8. Isolement et purification	44
2.9. Identification.....	44
2.9.1. Examen macroscopique	44
2.9.2. Examens microscopiques.....	45
2.10. Identification biochimique.....	45
2.10.1. Recherche de la catalase	46
2.10.2. Test coagulase	46
2.11. Identification par plaque API 20 Staph (BioMérieux)	47
2.12. Conservation des souches	49
2.13. Antibiogramme.....	49
Résultats et discussion	
1. Prélèvement nasal et du cathéter	52
2. Identifications du genre Staphylococcus	54

2.1. La coloration de Gram.....	54
2.2. Identification biochimique.....	55
2.2.1. Test catalase et coagulase	55
2.3. Identification biochimique par API staph biomérieux	56
3. Sensibilité aux antibiotiques.....	57
3.1. Les β -lactamines	57
3.2. La résistance à l'oxacilline.....	58
3.3. Les aminosides	58
3.4. Les macrolides	58
3.5. La vancomycine	59
3.6. Evolution de la résistance de Staphylococcus aureus résistant à la métiqueilline....	60
3.7. Epidémiologie des SARM	61
Conclusion.....	64
Référence bibliographique	66
Annexes	

Introduction

Introduction

Les infections acquises à l'hôpital sont une réalité préoccupante. Ces infections sont souvent la résultante d'un certain nombre de facteurs tels que les pratiques de soins, la flore liée au patient ou encore l'environnement. Parmi les micro-organismes les plus incriminés dans ces infections, *Staphylococcus aureus* occupe une place privilégiée. Son pouvoir pathogène, son caractère ubiquiste et l'absence d'exigences nutritionnelles font de cette bactérie un exemple d'adaptation et de dissémination surtout lors des ruptures de la barrière cutanée, ou l'immaturité du système immunitaire.

Cette situation semble se compliquer par l'émergence et la progression du phénomène de résistance aux antibiotiques qui place les cliniciens dans une impasse, face à des germes réfractaires à tous types de traitement limitant à la fois les schémas thérapeutiques aggravant le pronostic des malades et prolongeant leur durée de séjour.

Ces résistances aux antibiotiques apparaissent plus ou moins rapidement selon la plasticité génétique de la bactérie et la nature chimique de ces molécules. Cette adaptation a touché également l'aptitude de résister à plusieurs molécules d'antibiotiques telles que la méticilline, et qui s'étend à la résistance envers la majorité des β -lactamines pour atteindre la vancomycine considérée jusqu'à présent comme l'une des dernières lignes de défense.

L'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière, permet à ces infections une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies. Ce phénomène décrit comme une valse mondiale, ne semble pas épargner l'Algérie qui enregistre une fréquence grandissante. Ainsi, pour contrôler cette évolution et tenter de prévenir ces complications, cette situation nous a amené à initier une étude modeste sur l'état actuel de *Staphylococcus aureus* au niveau de l'hôpital d'Ahmed Medaghri de Saida (Algérie).

L'objectif de notre travail était d'étudier l'incidence des GISA (pour Glycopeptide Intermediate *S. aureus*) responsables d'infections nosocomiales à l'hôpital de Saïda et étudier leur sensibilité à un panel d'antibiotiques. Notre travail comprend deux parties :

- Une partie bibliographique qui porte sur deux chapitres :

Infections nosocomiales et *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus et résistance aux antibiotiques.

- Une partie expérimentale qui s'intéresse à l'isolement et l'identification des souches de *S. aureus* dans divers produits pathologiques de malades hospitalisés, l'étude de la résistance de ces souches à la méticilline et éventuellement mise en évidence des GISA. Enfin, l'étude de l'antibiorésistance de ces souches vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques.

Etude bibliographique

1. Généralités

1.1 Définitions des infections nosocomiales

Infection nosocomiale : terme datant de 1845. Au sens étymologique, nosocomial vient du grec *nosos* qui signifie maladie et *komein* qui signifie soigner, puis du latin *nosocomium* qui signifie maladie à l'hôpital [(Lucet & Astagnau, 1998), (Borrel, 2000)].

Une infection nosocomiale se définit comme une infection acquise dans un établissement de soins public ou privé, qui était absente à l'admission et n'était ni en incubation ni présente lors de l'admission. Quand la situation initiale n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures est nécessaire afin de distinguer une infection d'acquisition communautaire d'une infection nosocomiale. Cette définition de l'infection du site opératoire correspond à celle du CDC d'Atlanta (Center for Disease Control and prévention) [(Comité technique des infections nosocomiales, 1999), (Horan et al, 1992)].

Elles s'appuient sur des critères cliniques et biologiques et portent sur une cinquantaine de sites infectieux potentiels. Les infections nosocomiales peuvent également être envisagées en tant qu'endémiques ou épidémiques. Les infections endémiques sont les plus répandues. Les infections épidémiques surviennent lors de flambées de cas, définies par une augmentation inhabituelle, par rapport aux valeurs de référence, d'une infection ou d'un agent infectieux déterminés (Comité technique des infections nosocomiales, 1999).

L'évolution des pratiques médicales a entraîné une diminution de la durée des séjours à l'hôpital et une augmentation des soins ambulatoires. Il a été proposé d'englober dans le concept d'infection nosocomiale les infections survenant chez les patients recevant un traitement dans un établissement de santé quel qu'il soit. Les infections contractées par le personnel ou les visiteurs de l'hôpital ou autre établissement de santé peuvent aussi être considérées comme des infections nosocomiales (Horan et al, 1992).

Donc, c'est une réaction pathologique, causée par des microorganismes, dont l'origine est

- Hospitalière.
- L'infection nosocomiale « exogène » est la conséquence d'un microorganisme provenant de l'environnement hospitalier.

Etude Bibliographique

- L'infection nosocomiale « endogène » est la conséquence d'un acte réalisé à l'hôpital. Dans ce cas, le germe en cause est d'origine dite « communautaire ». **(Ellenberg, 2005).**

- L'infection nosocomiale qui atteint un professionnel travaillant à l'hôpital est dite « Professionnelle » **(Ellenberg, 2005).**

Des définitions simplifiées peuvent être utiles pour certains établissements n'ayant pas accès à des techniques diagnostiques poussées **(Girard, 1990)**. Le tableau ci-dessous **(tableau 1)** donne des définitions d'infections courantes, utilisables aux fins d'enquête par les établissements ne disposant que d'un accès limité à des techniques de diagnostic sophistiquées.

Tableau 1 : Critères simplifiés pour la surveillance des infections nosocomiales.
(D'après Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales).

Type d'infection nosocomiale	Critères simplifiés
Infection de site opératoire	Tout écoulement purulent, abcès ou cellulite extensive sur le site opératoire dans le mois suivant une intervention chirurgicale
Infection urinaire	Uroculture positive (une ou deux espèces) avec au moins 105 bactéries/ml, avec ou sans symptômes cliniques
Infection respiratoire	Symptômes respiratoires avec au moins deux des signes suivants apparaissant pendant l'hospitalisation : – toux – expectorations purulentes – nouvelle infiltration visible à la radiographie pulmonaire et compatible avec le diagnostic d'infection
Infection sur cathéter vasculaire	Inflammation, lymphangite ou écoulement purulent au site d'insertion du cathéter
Septicémie	Fièvre ou frissons et au moins

1.2 Localisation des infections nosocomiales

Le site de l'infection est variable selon l'unité de soins, selon le recrutement du service, selon les thérapeutiques et les mesures préventives (**Hamza, 2010**).

1.2.1 Infections respiratoires

Sont à la première place des infections dans les unités de réanimation et de soins intensifs (**Drancourt & Adekambi, 2004**). Aux premier places des facteurs de risque on cite les dispositifs invasifs : ventilation mécanique, intubation trachéale ainsi les sondes naso-gastrique (42.1%) qui peuvent causer (29%) des IN pulmonaires (**Dia et al, 2008**).

1.2.2 Infections urinaires

Ce sont les infections nosocomiales les plus courantes, 80 % des infections sont liées à un sondage vésical à demeure [(**Mayon-White R et al, 1988**), (**Emmerson AM et al, 1996**), (**Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, 1997**)]. Les infections urinaires sont associées à une plus faible morbidité que les autres infections nosocomiales, mais peuvent dans certains cas provoquer une bactériémie potentiellement mortelle. Ces infections sont habituellement définies selon des critères microbiologiques : uroculture quantitative positive ($\geq 10^5$ micro-organismes/ ml, avec au maximum deux espèces microbiennes isolées).

Les bactéries responsables proviennent de la flore intestinale du patient, normale (*Escherichia coli*) ou acquise à l'hôpital (*Klebsiella* multirésistantes) (**Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, 1997**) 1 à 4,5 % des IN urinaires vont se compliquer d'une bactériémie dite secondaire (**Butrau & Botto H, 1997**).

1.2.3 Infections du site opératoire

Les infections du site opératoire sont également fréquentes, leur incidence va de 0,5 % à 15 % selon le type d'intervention et l'état général du patient [(**Cruse & Ford, 1980**), (**Horan et al, 1993**), (**Hajjar et al, 1996**)]. Il s'agit d'un problème important qui limite le bénéfice potentiel des interventions chirurgicales. L'impact sur les coûts hospitaliers et la durée du séjour postopératoire (3 à 20 jours de plus) [(**Brachman et al, 1980**), (**Fabry et al, 1982**), (**Prabhakar et al, 1983**)] est considérable. La définition de ces infections est essentiellement clinique, écoulement purulent autour de la plaie ou du site d'insertion du drain, ou cellulite extensive à partir de la plaie. Les infections de la plaie opératoire (au-dessus ou au-dessous de l'aponévrose) et les infections profondes des organes ou des espaces sont identifiées séparément.

L'infection est en général acquise pendant l'intervention elle-même, avec une origine soit exogène (air, matériel médical, chirurgiens et autres soignants), soit endogène (flore cutanée ou flore présente sur le site opératoire ou, dans de rares cas, sang utilisé en périopératoire) (**Kirkland et al, 1999**). Les micro-organismes infectieux sont divers, et dépendent du type et de la localisation de l'intervention et des anti-infectieux reçus par le patient.

Le principal facteur de risque est l'étendue de la contamination périopératoire (chirurgie propre, propre contaminée, contaminée, sale), elle-même conditionnée par la durée de l'intervention et l'état général du patient (**Nosocomial infections rates for interhospital comparison, 1991**). Les autres facteurs en jeu sont la qualité de la technique chirurgicale, la présence de corps étrangers (drains compris), la virulence des micro-organismes, la présence d'une infection concomitante sur un autre site, la pratique du rasage préopératoire et l'expérience de l'équipe chirurgicale [(**Cruse & Ford R, 1980**), (**Brachman et al, 1980**)].

1.2.4 Bactériémies nosocomiales primaire et secondaire

Une bactériémie est considérée comme primitive lorsqu' aucun foyer n'est retrouvé. Cette définition inclut les infections secondaires dont le point d'appel est un cathéter (**Drancourt & Adekambi, 2004**). Pour les infections sur cathéter, un délai de 24 heures suffit (**Hamza, 2010**). La bactériémie peut se prolonger et entraîner une septicémie. La majorité des septicémies nosocomiales sont dues à des bacilles à Gram négatif (75% des cas) (**Gayvallet et al, 2002**) La fréquence des bactériémies nosocomiales est la plus élevée en unité néonatale de soins intensifs (44.8%) et en réanimation pédiatrique (35.9%). (**Hamza, 2010**).

1.2.5 Autres infections nosocomiales

De très nombreuses autres localisations sont possibles, on peut citer des infections du système nerveux central, de la peau, du tube digestif (**Drancourt & Adekambi, 2004**).des voies génitales après instrumentations ou interruption de grossesse, des régions buccale et périnéale. Toutes ces localisations peuvent être à l'origine de bactériémies avec une fréquence variable selon le degré de l'immunosuppression et la nature des germes en cause (**Drancourt & Adekambi, 2004**).

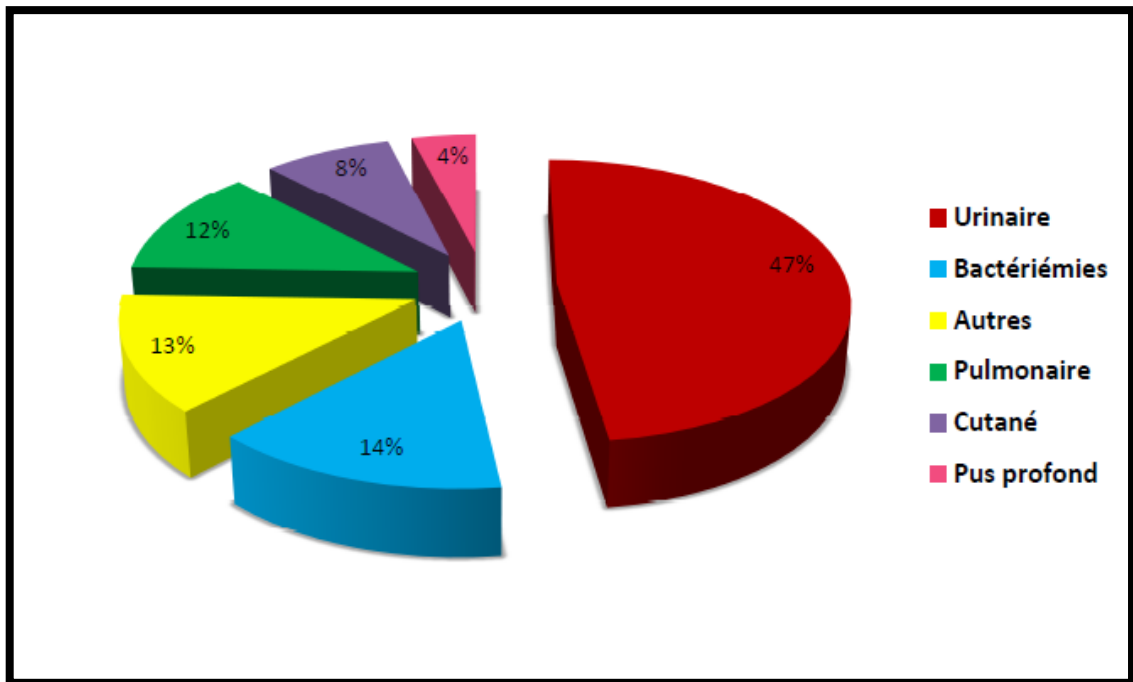


Figure 1: Répartition des infections nosocomiales validées en fonction du site (Botterel et al., 2004).

1.3. Les microorganismes impliqués dans les infections nosocomiales

Des agents pathogènes très divers peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales (Johnson, 1990). Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de sante, d'un établissement a l'autre et d'un pays a l'autre (Johnson et al, 1990).

1.3.1. Virus

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyse, injections, endoscopie), le virus respiratoire syncytial, les rotavirus et les entérovirus (transmis par contact mainbouche et par voie féco-orale) (Ploy et al, 1998), D'autres virus comme le cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle zona, sont également transmissibles. (Kim et al, 2000).

1.3.2. Parasites et champignons

Certains parasites (par exemple *Giardia lamblia*) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. De nombreux champignons et autres parasites sont des agents opportunistes et provoquent des infections en cas de traitement antibiotique prolonge et d'immunodépression sévère (*Candida albicans*, *Aspergillus* spp, *Cryptococcus*

neoformans, *Cryptosporidium*) (**Raymond et al, 2000**). Ils sont une cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés. La contamination de l'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus* spp. Présent dans les poussières et le sol est également préoccupante, en particulier lors de la construction d'hôpitaux. *Sarcoptes scabiei* (agent de la gale) est un ectoparasite qui provoque régulièrement des flambées épidémiques dans les établissements de sante. [(**Raymond et al, 2000**), (**Pittet et al, 1999**)].

1.3.3. Bactéries

Ce sont les plus courants des agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales [(**Mayon et al, 1988**), (**Emmerson et al, 1995**)]. On peut distinguer :

- Les bactéries commensales présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé [(**Mayon et al, 1988**), (**Emmerson et al, 1995**)]. Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes (**Mayon et al, 1988**) Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (**Mayon-White R et al, 1988**) Par exemple, les staphylocoques cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires (**Mayon et al, 1988**).

- Les bactéries pathogènes ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte (**Emmerson et al, 1996**) Par exemple :

- Les bacilles anaérobies à Gram positif (par exemple *Clostridium*) provoquent la gangrène [(**Emmerson et al, 1996**), (**Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, 1997**)].

- Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (bactérie cutanée qui colonise la peau et le nez du personnel hospitalier et des patients) provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines et résiste fréquemment aux antibiotiques [(**Emmerson AM et al, 1996**), (**Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, 1997**)].

- Les streptocoques bêta-hémolytiques sont également des agents pathogènes importants [(**Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, 1997**), (**Gastmeier et al, 1998**)].

➤ Bactéries à Gram négatif : les entérobactéries (par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (site d'insertion d'un cathéter, d'une canule, sonde urinaire) et provoquer des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Elles peuvent également être hautement résistantes **(Vasque et al, 1999)**.

➤ Les micro-organismes à Gram négatif comme *Pseudomonas spp.* sont souvent isolés dans l'eau et les milieux humides. Ils peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés **(Smith et al, 1999)**.

➤ Plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifiquement hospitalier. Par exemple, les diverses espèces de *Legionella* peuvent provoquer des pneumopathies (sporadiques ou endémiques) par inhalation d'aérosols impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique). **(Smith et al, 1999)**.

En cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère (*Candida albicans*, *Aspergillus spp*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium*). Ils sont une cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés. La contamination de L'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus spp* **(Danchaivijitr et al, 1995)**. Présent dans les poussières et le sol est également préoccupante, en particulier lors de la construction d'hôpitaux. *Sarcoptes scabiei* (agent de la gale) est un ectoparasite qui provoque régulièrement des flambées épidémiques dans les établissements de santé. **(Kim JM et al, 2000)**.

1.4. Réservoirs et transmission

Les bactéries qui provoquent des infections nosocomiales peuvent s'acquérir de plusieurs façons :

❖ Flore permanente ou temporaire du patient (infection endogène). Les bactéries présentes dans la flore normale provoquent des infections en cas de transmission vers d'autres sites que leur habitat naturel (voies urinaires), **(Pittet et al, 1999)**, de lésions tissulaires (plaies) ou de traitement antibiotique inapproprié qui favorise leur prolifération (*C. difficile*, levures). Par exemple, les bactéries à Gram négatif présentes dans les voies digestives sont fréquemment à l'origine d'infections du site opératoire après une intervention abdominale ou d'infections urinaires chez les patients sondés [**(Pittet et al, 1999)**, **(Gikas et al, 1999)**].

❖ Flore d'un autre patient ou d'un membre du personnel (infection croisée exogène). Les bactéries se transmettent d'un patient à l'autre de plusieurs façons : par contact direct entre patients (mains, gouttelettes de salive ou autres liquides biologiques), par l'air (gouttelettes ou poussières contaminées par les bactéries d'un patient), par le personnel contaminé lors des soins aux patients (mains, vêtements, nez, gorge), qui devient un porteur temporaire ou permanent et transmet ensuite les bactéries à d'autres patients par contact direct lors des soins, par des objets contaminés par le patient (y compris le matériel médical), les mains du personnel, les visiteurs ou d'autres sources environnementales (eau, autres liquides, aliments) [(Gikas et al, 1999), (Scheel O & Stormark, 1999)].

❖ Flore présente dans l'environnement des soins de santé (infections environnementales exogènes endémiques ou épidémiques) (Scheel & Stormark, 1999) Plusieurs types de microorganismes survivent bien dans l'environnement hospitalier :

➤ Dans l'eau, les milieux humides et parfois dans des produits stériles ou des désinfectants (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Mycobactéries*) (Scheel & Stormark, 1999).

➤ Dans des articles tels que le linge, le matériel médical et les fournitures utilisées pendant les soins, un nettoyage approprié des locaux limite normalement le risque de survie de bactéries car la plupart nécessitent un environnement chaud ou humide et des éléments nutritifs pour survivre [(Scheel & Stormark, 1999), (Valinteliene et al, 1996)].

➤ dans les aliments (Valinteliene et al, 1996).

➤ dans les poussières fines et les noyaux des gouttelettes émises en toussant ou en parlant (des bactéries de moins de 10 µm de diamètre restent en suspension dans l'air pendant plusieurs heures et peuvent être inhalées de la même façon que les poussières fines) [(Scheel & Stormark M, 1999), (Valinteliene et al, 1996), (Garner et al, 1988)].

1.5. Les bactéries les plus répondues dans les infections nosocomiales

Les infections à *Staphylococcus aureus* sont une cause fréquente d'infections nosocomiales et communautaires. Depuis l'émergence de souches de staphylocoque doré résistantes à la méthicilline (SDRM), dès l'utilisation de cet antibiotique, la vancomycine a été largement utilisée dans le traitement des infections à SDRM. Cette pression de sélection a d'abord conduit à l'émergence de staphylocoque coagulase négatif de sensibilité diminuée aux glycopeptides au début des années 80 (Johnson et al, 1990), puis à l'augmentation progressive des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de *S. aureus* d'abord à la téicoplanine (Mainardi et al, 1995), puis à la vancomycine. Les

premiers cas d'infection documentée à *S. aureus* avec une sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA) à la fin des années 90 initialement au Japon **(Hiramatsu et al, 1997)** aux USA **], (Sieradzki et al, 1999), (Smith et al, 1999)]** et en France **(Ploy et al, 1998)** ne sont donc pas complètement surprenant.

Depuis, différents travaux ont tenté de définir les caractéristiques microbiologiques des GISA, de proposer des méthodes standardisées de détection, d'identifier les caractéristiques cliniques et épidémiologiques des patients infectés par de telles souches et d'étudier les conséquences thérapeutiques de cette résistance.

2. Le genre *Staphylococcus*

Dans les deux premières communications à l'académie des sciences en 1876 et 1880, Louis Pasteur a révélé et insisté sur l'existence de cette bactérie, qu'il avait isolée à la fois du pus de l'anthrax et de l'ostéomyélite et aussi des eaux de la seine **[(Eykin, 1996), (Pasteur, 1877)]**. Ces germes, disposés en grappes de raisin à l'examen microscopique, ont été décrits par Robert Koch en 1878 **(Spicer, 2003)**.

Ces isolats observés et identifiés en 1879 dans des pus de furoncle et d'ostéomyélite par Pasteur comme étant "un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple, rarement par quatre, mais très fréquemment associés en petits amas". Ainsi, il les a cultivés en 1880 et disait que "**l'ostéomyélite est le furoncle de la moelle épinière**" **[(Breche et al, 1988), (Spicer, 2003)]**.

Ce n'est que plus tard, en 1882 que le nom "Staphylocoque" a été donné par le chirurgien Ogston, pour décrire ces grains (*kokkos*), groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (*Staphylos*) **[(Eykin, 1996), Ogston, 1882]**. Koch, Pasteur et Ogston ont réussi à reproduire des abcès chez l'animal par inoculation des prélèvements de pus **(Fasquelle, 1974)**.

En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries, il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées **[(Avril et al, 2003), (Fasquelle, 1974), (Rosenbach, 1884)]**.

2.1. Habitat

Les staphylocoques sont des pathogènes humains, fréquents, polyvalents et importants : certaines ostéomyélites des momies égyptiennes sont certainement d'origine staphylococcique **(Spicer, 2003)**.

Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, tels que la dessiccation (ils survivent plusieurs mois dans des produits pathologiques desséchés), aux variations de température (ils résistent 2 h à 55° C, voire 1 h à 60° C), au choc osmotique (salinité de l'eau) et résistent encore mieux en milieux albumineux.

Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières (l'air), l'eau et dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) **(Breche et al, 1988).**

Ces caractères ubiquitaires et saprophytiques expliquent que ces germes soient aussi des commensaux, occasionnels ou permanents de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux qui semblent constituer le principal réservoir de ces germes, secondairement localisés dans la nature, vraisemblablement par les squames et les poils **[(Breche et al, 1988), (Eyquem et al, 1998)].**

Les staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des «porteurs asymptomatiques». Environ 50% des sujets normaux sont porteurs de *S. aureus*: porteurs persistants, porteurs occasionnels ou transitoires. Ils sont retrouvés particulièrement dans l'oropharynx, les fosses nasales antérieures qui paraissent être son gîte essentiel (*S. aureus* 30-40%, *S. epidermidis* 30-100%) et au niveau des régions cutanées chaudes (creux axillaire) et humides (périnée, aisselles), ils ne sont pas rare d'isoler *S. aureus* des selles **[(Avril et al, 2003), (Fauchere & Avril, 2002), (Nauciel C, 2005)]**

Il ne faut donc pas systématiquement conclure que, dans certains prélèvements, la présence d'un *Staphylococcus aureus* (ou à plus forte raison d'autres espèces du même genre) soit corollaire d'infection **(Ferron, 1984).**

Existe-t-il des moyens bactériologiques pour distinguer les différents staphylocoques, ceux qui sont responsables des lésions pathologiques actuelles (et donc sûrement pathogènes), ceux qui, au contraire, sont dans la nature de simples saprophytes et enfin ceux qui sont doués de pouvoir pathogène, quoique hébergés par des porteurs sains? C'est ici, que réside l'un des problèmes essentiels de la bactériologie du staphylocoque **(Fasquelle, 1974).**

En ce qui concerne la conservation de la vitalité des souches, elle persiste à +4°C pendant 3 mois dans le pus et pendant un an sur gélose **(Le Minor & Veron. 1990).**

Les souches de *Staphylococcus aureus* persistent une à deux années dans un culot de gélatine et dans des ampoules scellées pendant 17 ans en macération de viande de gélatine.

Aujourd'hui, l'emploi de la lyophilisation (Flosdorft Mudd 1953) fournit le meilleur moyen pour conserver des staphylocoques au laboratoire (comme par ailleurs les autres germes) (**Fasquelle & Barbier, 1951**).

2.2. Classification

Selon la classification de **GM Garrity et al (Garrity & Lilburn, 2007)**, Le phylum Firmicutes (**Tableau 2**) est constitué de quatre classes: *Clostridia*, *Mollicutes*, *Bacilli*, *Togobacteria*. La classe des *Bacilli* est constituée de deux ordres: *Bacillales* et *Lactobacillales*, dont chacun est divisé en quatre familles; *Staphylococcaceae* constitue la 4ème famille des *Bacillales*, celle-ci comprend un seul genre: *Staphylococcus* (GC% 30-39%).

Le genre *Staphylococcus* est proche des genres *Listeria* et *Bacillus* et occupe une place très importante en pathologie humaine et animale.

La classification du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs qui repose sur l'analyse des séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S et on reconnaît actuellement 45 espèces et sous espèces de staphylocoques, que l'on peut identifier grâce à leurs différents caractères phénotypiques (réactions biochimiques, structure de la paroi) et génotypiques (polymorphisme de restriction, ribotypage et autres), ce dernier étant le plus souvent réservé aux études épidémiologiques.

Dix sept de ces espèces sont retrouvés chez l'homme (**Tableau 3**) (**Garrity & Johnson, 2002**), d'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments.

Parmi celles retrouvées chez l'homme, trois espèces occupent une place privilégiée essentiellement dans la pathologie humaine: *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*, les autres sont rarement impliquées (**Avril, 2003**).

2.3. L'espèce *Staphylococcus aureus*

2.3.1. Caractères bactériologiques

Staphylococcus aureus est une bactérie ubiquitaire que l'on trouve fréquemment sur la peau et dans les narines de l'homme. Il est à la fois un germe commensale et un agent pathogène majeur de l'homme, impliqué dans des pathologies variées dont 1 à 5% des infections communautaires et jusqu'à 30% des infections acquises en milieu hospitalier (Infections nosocomiales). Les infections à *S. aureus* sont très polymorphes, allant d'atteintes cutanées bénignes comme les furoncles ou les panaris à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies, les endocardites, les

pneumopathies et les infections du système nerveux central. C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines (**Lowy, 1998**). Les principaux facteurs de risque d'infection sont le portage nasal et toute rupture de la barrière cutanéomuqueuse favorisant la pénétration du germe. La situation épidémiologique a considérablement changé au cours des dernières décennies:

✓ Dans les années quarante, la pénicilline était l'antibiotique de choix pour traiter les infections à *S. aureus*, cependant, cette sensibilité à la pénicilline a été de courte durée suite à l'apparition de souches résistantes productrices de β -lactamases. De nouvelles molécules furent alors commercialisées et deux ans après l'introduction de la méthicilline (pénicilline semi-synthétique) en 1960 comme un antistaphylococcique puissant, les premières résistances à la pénicilline M ont été rapportées (**Garbacz, 2001**), (**Jevons, 1961**) et les souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) ont actuellement une distribution mondiale [(**Ayliffe, 1997**), (**Eady & Cove E, 2003**), (**Naimi, 2003**)]. En effet, la dissémination d'un ou de plusieurs clones de SARM à l'échelle du même pays (**De Lencastre et al, 1997**), entre les pays (**Santos Sanches et al, 2003**) et même entre les continents (**Aires de Sousa et al, 1998**) a été rapportée. Et plus récemment, des résistances aux glycopeptides (*S. aureus* Intermédiaire aux Glycopeptides ou GISA), qui sont les antibiotiques de référence dans les infections à SARM ont été constatées (**Garnier et al, 2006**) Cette évolution de la résistance fait craindre l'émergence des souches résistantes à tous les antibiotiques connus.

✓ *S. aureus* résistant à la méthicilline est le premier agent pathogène responsable d'infections nosocomiales. Il est devenu endémique dans certains secteurs de l'hôpital, comme les services de long séjour et les services de réanimation.

✓ par ailleurs, depuis les années 1990, des infections communautaires à SARM ont été décrites en Australie, en Amérique du Nord et en Europe. Hormis des personnes en contact avec une structure de soin, ces épisodes concerneraient des communautés spécifiques (indiens d'Amérique ou aborigènes) (**Groom A.V et al, 2001**), des usagers de drogues et des communautés fermées (équipes sportives, prisons) où des défauts d'hygiène étaient constatés (**Centers for disease control and prevention, 2001**). De plus, au cours de ces dernières années, plusieurs études font état de cas qui ne seraient liés ni aux établissements de soins ni aux toxicomanies [(**Naimi et al, 2001**), (**Vandenesch et al, 2003**)]. Des infections à SARM d'origine communautaire, en l'absence de facteur de risque d'acquisition hospitalière, sont de plus en plus fréquemment rapportées et risquent de modifier la prise en charge des infections à *S. aureus* en ville ces prochaines années.

✓ Des souches hypervirulentes de *S. aureus* responsables de chocs toxiques et de pneumonies nécrosantes gravissimes ont émergé, entraînant un taux de mortalité élevé.

Le traitement des infections est devenu de plus en plus difficile en raison de la prévalence élevée des souches résistantes à la méticilline et le développement de l'émergence de souches multirésistantes aux différentes familles d'antibiotiques, phénomène observé à l'hôpital mais aussi en ville **(Martres et al, 2003)**, En pratique hospitalière ou en traitement ambulatoire, *S. aureus* est un agent pathogène fréquent et dangereux même avec une antibiothérapie optimale. Pour la plupart des experts, les infections à SARM (la méthicillino-résistance) aggrave le pronostic et complique de manière sérieuse la prise en charge des infections staphylococciques d'où elles représentent un problème majeur de santé publique **[(Gould, 2005), (Montesinos et al, 2002)]**.

Des études de modélisation récentes ont montré que l'association d'une politique de dépistage des patients porteurs de SARM à l'admission et la mise en place rapide des mesures de prévention et d'un traitement adapté pouvaient contribuer fortement à limiter la dissémination hospitalière de ces bactéries multirésistantes **[(Bootsma et al, 2006), (Cooper et al, 2004)]**.

2.3.2. Morphologie

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1,5 μ de diamètre, ce n'est qu'au cours de la lyse ou de la dégénérescence (veilles cellulaires), que parfois les cellules perdent leur affinité tinctoriale et peuvent devenir à Gram variable **[(Couture, 1990), (Fasquelle, 1974), (Gram, 1884)]**.

Ainsi, ils sont immobiles, non sporulés, ne possédant pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudocapsule **(Le Minor & Veron, 1990)**.

La division cellulaire peut se faire sur plusieurs plans, ce qui donne lieu à des arrangements cellulaires variés: la division dans les trois plans de l'espace n'aboutit pas à la séparation complète des cellules filles **[(Couture, 1990), (EL Kouri et al, 1998)]**.

Dans le pus, à la fois intra et extracellulaire, les staphylocoques se regroupent de façon variable **(Fasquelle, 1974)**.

Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin" **[(Fasquelle, 1974), (Fauchere & Avril J.L, 2002), (Ferron, 1984)]**. Alors qu'en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en générale de 3 à 5 éléments) **(Le**

Minor & Veron, 1990). Examinés sur lames, après avoir été isolés d'une gélose, l'aspect en mosaïque est habituel (**Fasquelle, 1974**), (**Figure 2**).



Figure 2 : Staphylocoques en amas (Spicer, 2003)

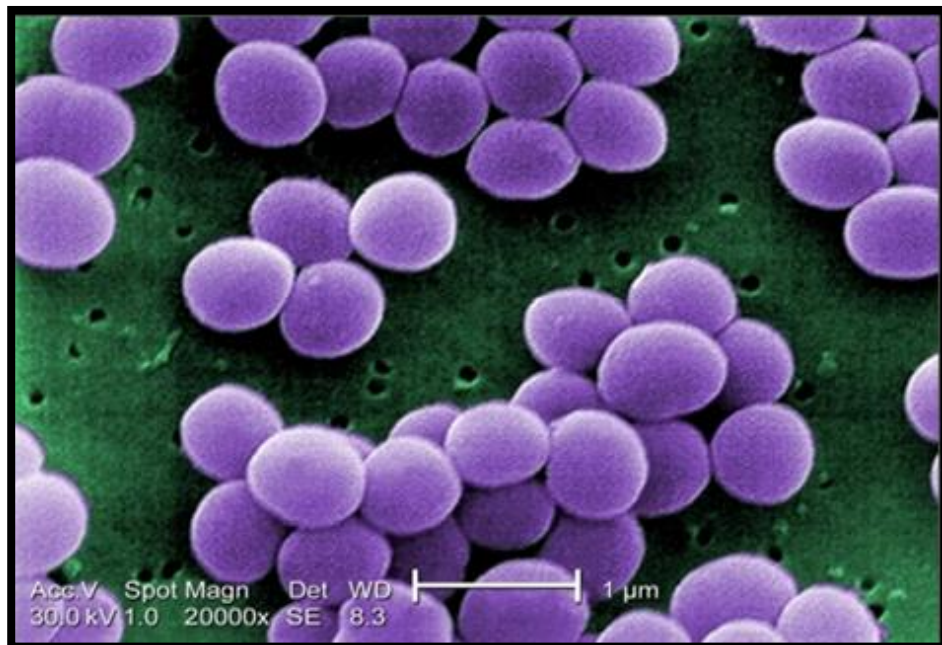


Figure 3 : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique(X 20000)
(<http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/medecine/>)

Tableau 2: Différents caractères bactériologiques de Staphylococcus aureus

(<http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/medecine/>)

Morphologie	Regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers Immobile, non sporulé
Dimension (µm)	0,5-1 ou 1.5
Teneur en GC (mol%)	33%
Taille du génome (Mb)	2,8 - 2,9
Type respiratoire	Aéro anaérobie facultatif
Type trophique	Chimioorganotrophe
Métabolisme	Fermentaire et /ou respiratoire
Autres caractères	Catalase positive, oxydase négative, Halophile mésophile (37°C), psychrophile (6-12°C) Neutrophile pH, opt=7, Aw basse, jusqu'à 0,83

2.3.3. Caractères cultureux

Peu exigeants sur le plan nutritif, les staphylocoques sont aérobies anaérobies facultatifs (quelques souches exigent le CO₂ pour croître), et croissent bien sur les milieux usuels simples, de même que sur la plupart des milieux qui favorisent la croissance des bactéries à Gram positif. Certains facteurs de croissance sont indispensables (Vitamine B₁, acide nicotinique) mais ils n'exigent pas de biotine ni de tryptophane, ils poussent en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et un de quatorze acides aminés dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique. La température optimale de croissance est de 37°C et le pH optimal est de 7,5, mais de grandes variations sont tolérées [(Couture, 1990), (Fasquelle, 1974), (Le Minor & Veron, 1990)].

En bouillon, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide (Prescott et al, 2010).

Après culture de 24 heures sur gélose au sang, les colonies qu'ils produisent sont de plus grand diamètre que celles produites sur gélose nutritif. Ainsi, une pigmentation peut être observée où la couleur varie selon l'espèce, le caractère pigmentaire n'est donc pas propre à l'espèce **(Couture, 1990)**.

Ce pigment non diffusible dans le milieu, soluble dans les solvants des graisses, est de nature caroténoïde et comporte un mélange d'au moins sept constituants, son rôle physiologique n'est pas bien connu. Les souches productrices ont, en général, un métabolisme très actif et une diffusibilité épidémique grande, l'absence de production est souvent associée à d'autres caractères (groupes phagiques et antigéniques) **(Le Minor & Veron, 1990)**.

Le milieu de Chapman est particulièrement utilisé, il ne laisse croître au bout de 24 à 48 heures que les staphylocoques, germes halophiles qui tolèrent des concentrations élevées de NaCl jusqu'à 7,5% (qui inhibe pour cette raison, la plupart des autres germes), ce milieu sélectif rendu différentiel par l'addition de Mannitol à 1% et d'un indicateur d'acidité, le rouge de phénol, permet à la fois d'isoler le staphylocoque à partir d'un prélèvement contenant un mélange de germes et nous oriente vers un *S. aureus* ou un *S. epidermidis* **[(Couture, 1990), (Fasquelle, 1974), (Le Minor & Veron, 1990)]**.

Par contre, en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le staphylocoque, le milieu de Baird Parker est utilisé. Il est à base de téllurite comme agent sélecteur, enrichi en glycine, en pyruvate et en jaune d'œuf. Il faut noter que les milieux sélectifs ne conviennent pas pour isoler les staphylocoques de l'air **(Le Minor & Veron, 1990)**.

2.3.4. Caractères physiologiques et biochimiques

Toutes les souches produisent une catalase mais pas d'oxydase. Ainsi, les souches de *S. aureus* sont: indole -, acétone +, uréase +, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine **[(Fasquelle, 1974), (Le Minor & Veron, 1990)]**.

De plus, la plupart des souches de *S. aureus* contrairement aux autres espèces produisent de l'hémolyse bêta, caractéristique utile lorsqu'on cherche à identifier un staphylocoque **(Couture, 1990)**

S. aureus possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques **(Ferron, 1984)**.

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés; (glucose, saccharose, lévulose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol. L'utilisation du mannitol est une indication importante parce que ce polyalcool est fermenté par *S. aureus* et *S. epidermidis* [(Couture, 1990), (Fasquelle, 1974)].

Cependant, la production de pigments (caractères culturels), d'hémolyse et la dégradation du mannitol n'ont pas toujours lieu; ce sont des indices auxquels on ne peut se fier pour identifier le germe de façon certaine. Il faut donc procéder à son identification par l'étude de différentes propriétés biologiques et biochimiques (Couture, 1990)

Ce qui caractérise mieux l'espèce *S. aureus*, c'est la production d'une staphylocoagulase (Tableau 3) (Fauchere & Avril J.L, 2002).

Cependant, certaines souches de *S. aureus* peuvent ne pas produire de coagulase libre en raison d'une mutation. Ainsi, une DNase thermostable permet de déterminer si le germe isolé est un *S. aureus* (Couture, 1990).

Tableau 3: Caractères distinctifs de *Staphylococcus aureus* (Fauchere J.L & Avril J.L, 2002).

	Espèce <i>S. aureus</i>	Autres espèces de staphylocoques
Aspects des colonies	Pigment doré	Blanches
Milieu de Chapman	Acidification du mannitol (jaune)	Pas d'acidification du mannitol (rouge) sauf <i>S. epidermidis</i>

2.3.5. Facteurs de virulence et physiopathologie

S. aureus exprime de nombreux facteurs de virulence : protéines de surface qui initialisent la colonisation des tissus de l'hôte, facteurs inhibant la phagocytose, toxines qui lèsent les cellules et provoquent les syndromes pathologiques (Buckingham et al, 2004).

2.3.5.1. Facteurs intervenant dans la colonisation, l'adhésion, l'invasion, diffusion

La protéine A

Elle se lie au fragment Fc des immunoglobulines et inhibe l'opsonophagocytose. Elle peut jouer le rôle d'une adhésive au début de l'infection intravasculaire.

La protéine de liaison au collagène

L'attachement au collagène est nécessaire et suffisant pour l'adhésion de *S. aureus* au cartilage in vitro. Ce récepteur du collagène pourrait constituer un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires à *S. aureus* (**Buckingham et al, 2004**).

La protéine de liaison à la fibronectine

Les récepteurs pour la fibronectine contribuent à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques et aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Ils ont ainsi un rôle important dans l'initialisation des infections sur corps étrangers.

La protéine de liaison au fibrinogène (clumping factor)

C'est une protéine de surface qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Elle constitue un facteur de virulence pour les plaies et les infections sur corps étrangers.

Les siderophores

Le fer est indispensable à la croissance des staphylocoques et l'une des méthodes de défense de l'hôte est la diminution de la fraction disponible du fer (fixation à la lactoferrine et à la transferrine). *S. aureus* s'adapte en sécrétant des siderophores capables de capter et de transporter le fer dans la bactérie. La quantité produite dépend de l'origine pathologique des souches. Le niveau de la production de siderophores a été corrélé avec la forte expression de certaines protéines. Certaines souches virulentes de *S. aureus* pourraient produire 2 types de siderophores :

Un premier dont la production serait limitée par des gènes chromosomiques et un second synthétise par des plasmides a des quantités beaucoup plus élevées (**Cox et al, 1995**).

La coagulase

La coagulase n'est pas une enzyme mais une protéine extracellulaire qui se lie a la prothrombine de l'hôte. La thrombine ainsi activée transforme le fibrinogène en fibrine. C'est un marqueur de l'identification de *S. aureus* (test de la coagulase en tube). Il n'existe pas d'argument évident indiquant un rôle de la coagulase dans la virulence des souches (**Baggett et al, 2004**). Cependant, on peut considérer logiquement qu'elle intervient dans la constitution des thrombophlébites staphylococciques et que le caillot permet aux bactéries qu'il contient de se protéger contre les défenses de l'hôte.

La staphylokinase

Son action fibrinolytique explique les micro-embols essaimant à distance, a l'origine de la constitution de métastases infectieuses (**Collignon et al, 1998**).

La FAME

Une enzyme modifiant les acides gras (fatty acid modifying enzyme) est exprimée par 80% des souches de *S. aureus*. Elle semble constituer un facteur de virulence important dans les abcès par modification des lipides antibactériens de l'hôte (**Katayama et al, 2000**).

2.3.5.2. La résistance à la phagocytose

Les exopolysaccharides capsulaires

La production locale par *S. aureus* d'exopolysaccharides provoque la formation d'un biofilm, engluant les bactéries et constituant ainsi une forme de résistance au site de colonisation. Des polysaccharides capsulaires sont retrouvés chez 90% des souches cliniques de *S. aureus*.

L'apoptose des cellules épithéliales

Après avoir adhère aux protéines de surface d'une cellule épithéliale, *S. aureus* est ingère. Dès la première heure suivant l'ingestion, la bactérie entraîne des modifications morphologiques du noyau cellulaire avec fragmentation de l'ADN. Elle reste viable dans la cellule pendant 72 heures, sans signe de multiplication. La cellule épithéliale, 24 à 48 heures après avoir phagocyte *S. aureus*, héberge une sous-population de colonies naines de staphylocoques (**Merriner et al, 2000**).

2.3.5.3. Toxines à activité membranaire

Ces toxines ne sont pas toutes retrouvées chez les souches de *S. aureus* responsables d'infections humaines. De plus, leur rôle comme facteur de virulence n'est pas toujours connu. Parmi elles, la leucocidine de Panton-Valentine (LPV) est en revanche associée à un fort pouvoir pathogène.

La LPV

C'est une toxine synergohyménotrope, a deux composants (un composant de classe S (LukS-PV) et un composant de classe E (LukE-PV)) non associés mais agissant en synergie. Les gènes codant pour cette protéine ont été clonés et séquencés en 1995 (Quenon et al, 2004). Ils sont contigus, co-transcrits, et localisés sur une particule phagique wPVL.

2.3.5.4. Enterotoxines, TSST1 (toxine du choc staphylococcique) et exfoliatines

Ces différentes toxines sont impliquées dans les toxémies staphylococciques : choc toxique staphylococcique pour la TSST1, syndrome d'exfoliation généralisé (ou syndrome de la peau ébouillantée) pour les exfoliatines, toxi-infections alimentaires pour les enterotoxines.

2.3.5.5. Activité superantigénique

Les superantigènes sont des molécules présentant une liaison directe à grande affinité avec les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II des cellules présentant l'antigène, induisant ainsi l'activation polyclonale des lymphocytes T V β . La TSST1 et plusieurs types d'entérotoxines ont une activité superantigénique. Cette activité est plus controversée pour les exfoliatines (Velasco et al, 2005).

2.3.5.6. Rôle du système agr dans la régulation des facteurs de virulence

L'expression coordonnée des facteurs de virulence en fonction des signaux extracellulaire est contrôlée par un régulateur, le système agr (accessory gene regulator). A faible densité bactérienne, le système n'est pas actif, permettant l'expression des facteurs de virulence impliqués dans l'adhésion. La multiplication bactérienne s'accompagne de l'activation du système agr, avec une diminution de l'expression des facteurs d'adhésion et une stimulation de l'expression des facteurs d'invasion et de dissémination de l'infection. Ainsi, le système agr fonctionnerait comme un quorum sensor, informant la bactérie sur la densité de staphylocoques dans son environnement (Ayliffe, 1997).

2.3.5.7. La réponse inflammatoire

Plusieurs constituants des staphylocoques (les exopolysaccharides des types capsulaires 5 et 6, le peptidoglycane, les protéines de membrane et les exoprotéines) peuvent activer les monocytes, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles, induisant la production de cytokines.

2.4. Pouvoir pathogène

2.4.1. De l'habitat à la colonisation

Les staphylocoques sont des bactéries de la flore commensale cutanée et muqueuse des mammifères et des oiseaux.

Chez l'homme, les staphylocoques font partie de la flore résidente cutanée qui joue un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constitue une barrière contre l'implantation de bactéries de la flore transitoire. Cependant, l'habitat préférentiel de *S. aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. D'après Williams (**Wylie et al, 2005**), il existe 3 statuts de portage nasal de *S. aureus*. Environ 20% de la population est porteuse de manière permanente (porteurs persistants), environ 60% sont porteurs de manière intermittente, avec des souches qui varient au cours du temps, et 20% ne sont pratiquement jamais porteurs. La densité du portage est comprise entre 10^3 et 10^4 /cm² (**Heikkila & Saris, 2003**). La raison pour laquelle certaines personnes hébergent une souche de *S. aureus* est mal connue. Les patients porteurs au niveau nasal sont fréquemment colonisés sur la peau (en particulier sur les plaies cutanées, les escarres), mais parfois également dans le tube digestif.

2.4.2. De la colonisation à l'infection

De nombreuses études réalisées chez des patients en hémodialyse (**Zimakoff et al, 1992**), en dialyse péritonéale (**Madan et al, 2002**) ou infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (**Nimmo et al, 2000**) ont montré que les patients porteurs de *S. aureus* avaient plus de risque de développer une infection à *S. aureus* que les autres patients. Dans un hôpital de Barcelone, Corbella et al. (**Cosseron et al, 1998**) ont montré qu'après 14 jours d'hospitalisation dans un service de soins intensifs, le risque d'infection à *S. aureus* était 60 fois plus élevé chez les patients porteurs nasals à l'admission. Plus récemment, une autre étude (**Khatib et al, 1999**) conduite dans un service de réanimation a montré que 24% des patients préalablement colonisés contractaient une infection contre 2% des patients non colonisés. Parmi les facteurs de risque potentiels d'infection à *S. aureus* étudiés en analyse multivariée, la colonisation nasale préalable est apparue comme

le plus important, devant la présence d'une tumeur solide, l'hospitalisation depuis plus d'une semaine avant l'admission en réanimation et un traitement récent par des fluoroquinolones. Dans cette même étude, 53% des patients intubés colonisés ont développé une colonisation trachéale à *S. aureus* contre 4,9% des patients intubés non colonisés.

Concernant le SARM plus spécifiquement, 758 patients admis dans 5 services d'un hôpital militaire du Texas ont été prélevés à l'admission, puis une fois par semaine au cours de leur hospitalisation, et au moment de leur sortie de l'hôpital. Une infection à SARM est survenue chez 19% des patients colonisés à l'admission, 25% des patients ayant acquis une colonisation à SARM au cours de leur hospitalisation, et seulement 2% des patients non porteurs (**Dos Santos KRN et al, 1996**). Ainsi, l'identification d'une colonisation à *S. aureus*, et plus encore à SARM, permet d'identifier une population à haut risque qui pourrait bénéficier de mesures permettant de diminuer le risque d'infection.

2.5. Mode de transmission

Dans les heures qui suivent la naissance, les staphylocoques de l'environnement immédiat (peau et muqueuse maternelle) colonisent l'ombilic, la peau, le périnée et le tube digestif du nouveau-né [40]. Le réservoir principal des staphylocoques à coagulase positive est l'homme, bien que l'on trouve fréquemment le germe dans la nature. La présence ubiquitaire du staphylocoque tient à sa grande résistance aux facteurs agressifs du milieu et explique que le mode de contagion soit direct et indirect (**Figure 4**).

À partir de ces différents gîtes, le staphylocoque va pouvoir diffuser vers le milieu intérieur à l'hôte en déclenchant l'apparition d'une maladie [(Avril et al, 2003), (Le Minor et al, 1990)].

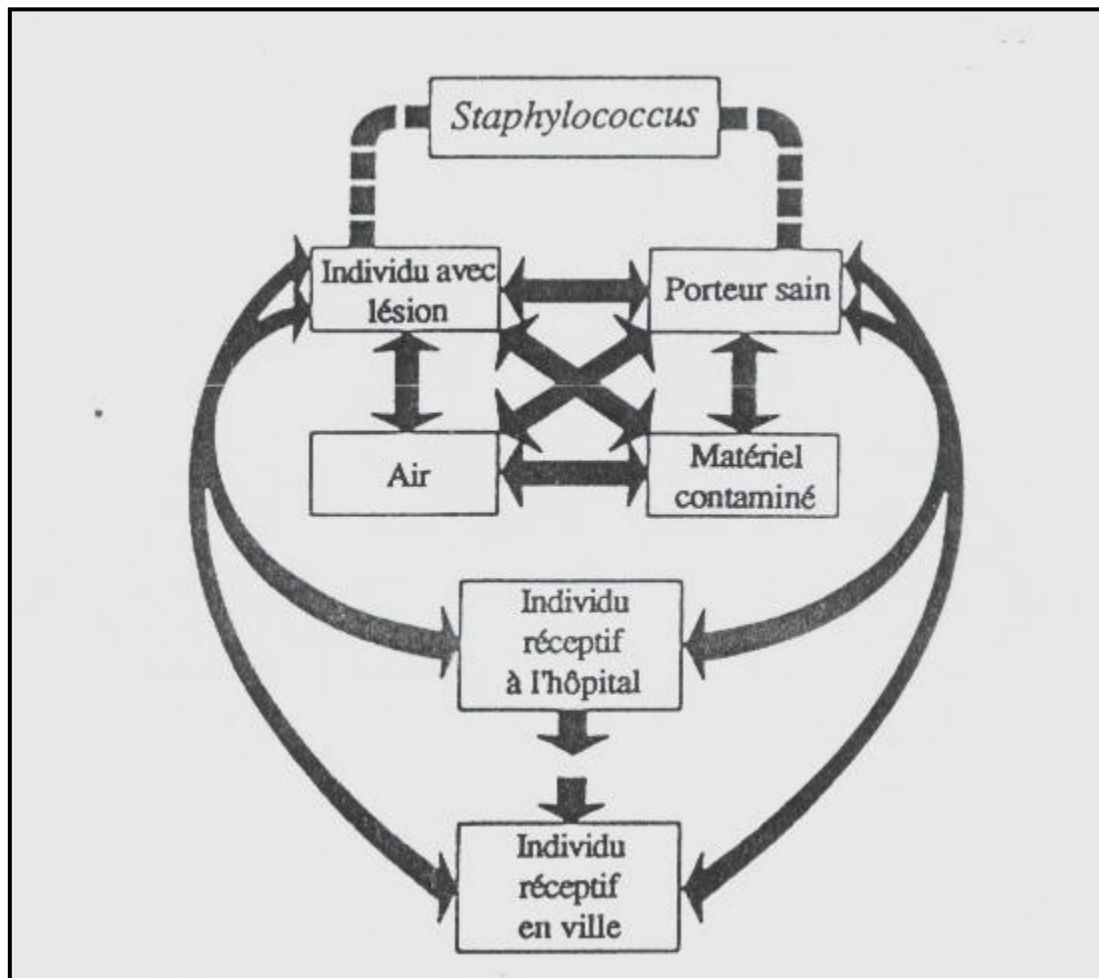


Figure 4: Voies de transmission des staphylocoques (Avril J.L et al, 2003).

De nombreux facteurs modifient la prévalence de ce portage [(Forfar et al, 1968), (Kirmani et al, 1978), (Standiford et al, 1994), (Tuazon et al, 1974), (Tuazon et al, 1975)].

- âge: le portage est plus important chez l'adulte.
- profession: les infirmiers et les médecins ont un portage plus élevé que les adultes du même âge.
- injections répétées: diabétiques insulino-dépendants, toxicomanie intraveineuse (IV).
- pathologie cutanée: eczéma, escarres.
- durée d'hospitalisation: plus l'hospitalisation est longue plus les risques d'infection à *S. aureus* sont importants.

- antibiothérapie récente: déséquilibre de la flore saprophyte.

Les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et répandues dans le monde entier **(Breche P et al, 1988)**. Elles sont d'origine endogène mais la transmission directe manuportée d'homme à homme (possible à partir d'un sujet colonisé ou d'une lésion staphylococcique ouverte, cutanée ou muqueuse) reste relativement fréquente, de même que la transmission indirecte par le matériel ou l'environnement contaminé bien qu'il soit difficile d'établir le lien épidémiologique entre la source et le sujet infecté **[(Breche et al, 1988), (Le Minor et al, 1990)]**.

De plus, l'utilisation d'antibiotiques sélectifs explique les staphylococcies qui apparaissent parfois sous la forme de graves épidémies surtout hospitalières (unités de soins intensifs, maternités, services à haut risque), provoquées souvent par des souches multirésistantes **[(Aly R & Levit S, 1987), (EL Kouri D et al, 1998), (Ferron A, 1984)]**.

2.6 Support génétique de la virulence

Il existe un très grand nombre de gènes liés à la virulence : au moins 40 gènes codant pour des toxines, 20 codant pour des facteurs d'adhésion et 44 régulant la transcription de produits associés à la virulence. Les gènes codant pour les toxines sont regroupés dans des îlots de pathogénicité qui sont des éléments génétiques mobiles **(Kuroda et al, 2001)**. Près de 75% des souches cliniques de *S. aureus* ont des gènes codant pour des toxines **(Becker et al, 2003)**.

La synthèse des facteurs de virulence est biphasique. A la phase initiale de la croissance bactérienne, ce sont surtout les gènes codant pour des adhésines qui sont activés.

Secondairement, les gènes des toxines prennent le relais. Cette activation séquentielle est sous la dépendance du système de régulation de la virulence appelé agr (accessory gene regulator) **[(Bronner et al, 2004), (Dufour et al, 2002)]**. Le système agr met en jeu un mécanisme de déclenchement par seuil («quorum sensing») : il code pour un peptide (peptide auto-inducteur) qui est sécrété dans l'espace extracellulaire et son accumulation agit comme un signal sur la densité cellulaire conduisant à l'activation du système agr **(Yarwood & Schlievert, 2003)**.

Le système agr possède un polymorphisme génétique avec quatre groupes alléliques identifiés **[(Jarraud et al, 2000), (Ji et al, 1997)]**. Ce polymorphisme pourrait expliquer la diversité des infections entraînées par *S. aureus*. Par exemple, le système agr type IV

est retrouvé dans les souches productrices d'exfoliatines alors que les souches produisant TSST-1 ont un système agr de type III (Jarraud et al, 2002).

2.6.1 Support génétique de la résistance aux antibiotiques

S. aureus a développé des résistances quasiment à tous les antibiotiques mis sur le marché dont les classes d'antistaphylococciques majeurs (**Figure 5**). Les mécanismes impliqués comprennent la synthèse d'enzymes inactivatrices, la modification de la cible des antibiotiques, des systèmes d'efflux qui diminuent la concentration de l'antibiotique dans la bactérie.

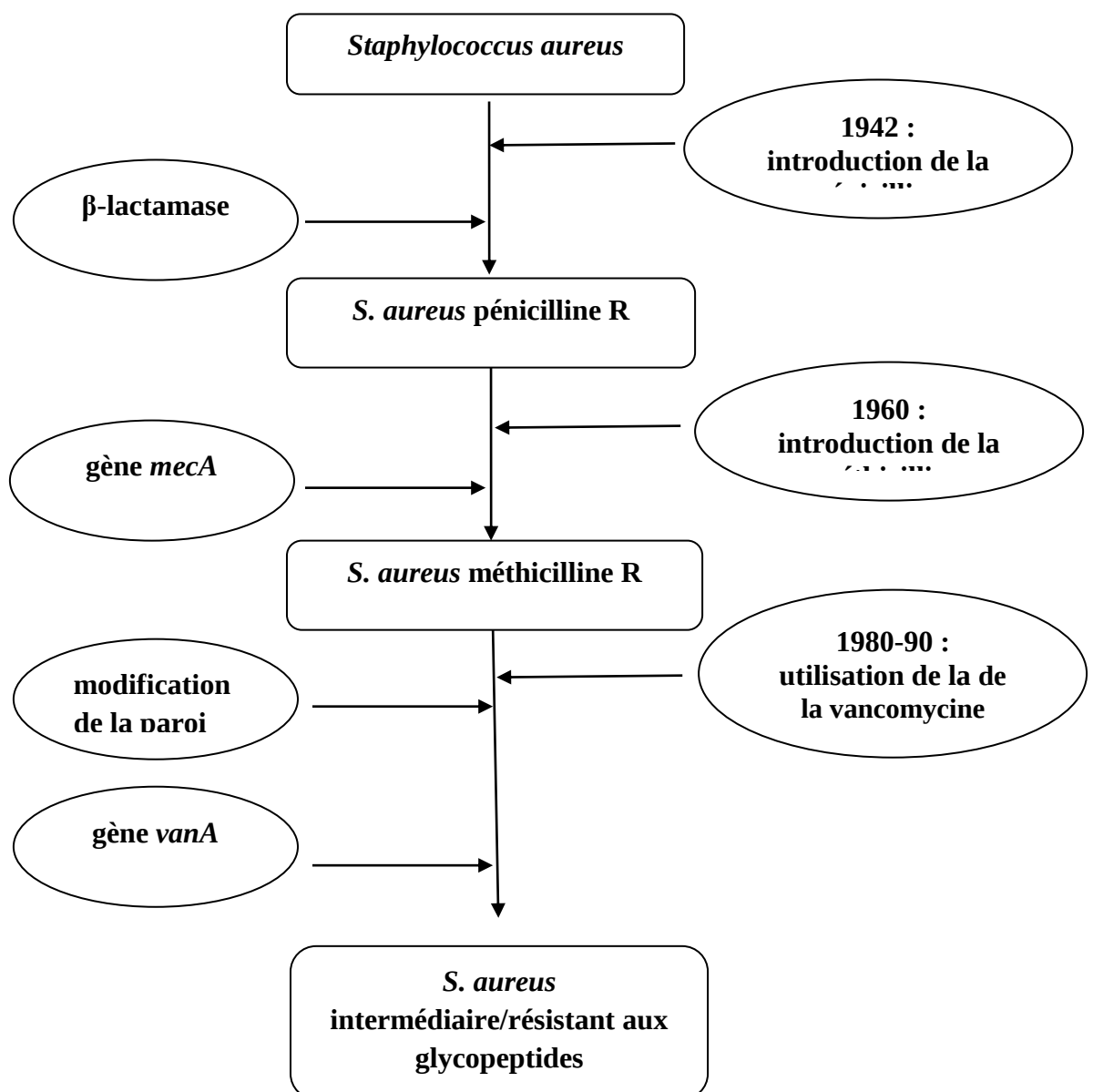


Figure 5: Utilisation des antibiotiques et acquisition des résistances par *S. aureus* (Hardy K.J et al, 2004).

2.7 Résistance aux antibiotiques

2.7.1 La résistance naturelle

La résistance naturelle d'une bactérie est une caractéristique propre à une espèce bactérienne, qui est partagée par toutes les souches normales de cette espèce. Elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification, elle se traduit habituellement par des CMI supérieures à la valeur critique basse de concentration (c) de l'antibiotique concerné **(CA SFM, 2009)**.

2.7.2 La résistance acquise

La résistance acquise est une caractéristique de certaines souches au sein de l'espèce considérée. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de matériel génétique étranger **(Gaudy, C & Buxeraud, 2005)**.

2.8 Mécanisme de résistance

La dynamique évolutive de cette résistance a été caractérisée par une diffusion importante au sein des écosystèmes hospitaliers. On dit qu'une souche bactérienne est résistante à un antibiotique lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de tolérer une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'obtenir in vivo à la suite d'un traitement **(Lowy, 2003)**.

Classiquement on distingue trois phénotypes de résistance aux β -lactamines chez *S. aureus* selon que les souches sont sensibles ou non à la pénicilline et à la méticilline :

- souches pénicilline sensibles et méticilline sensibles (péniS-métiS) **(Lowy, 2003)**.
- souches pénicilline résistantes et méticilline sensibles (péniR- métiS), ces souches produisent une pénicillinase acquise, plasmidique et inductible qui leur confère une résistance aux pénicillines G et V, elles restent sensibles aux autres β -lactamines et aux inhibiteurs des β -lactamases **[(Nauciel & Vilde, 2005), (Lowy, 2003)]**.
- souches péniR-métiR : ces souches, en plus de la production d'une pénicillinase, produisent une PLP modifiée (PLP2a) qui présente une affinité très diminuée pour la méticilline, ce type de résistance est chromosomique, inductible ou constitutive et implique une résistance croisée à toutes les β -lactamines **[(Nauciel & Vilde, 2005), (Lowy, 2003)]**.

3 Les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline « SARM »

3.1. Historique

D'abord identifié dans les années 1960, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline a été initialement considéré comme un pathogène nosocomial. Toutefois, ces dernières années, un nombre croissant de souches de SARM ont été isolés dans le monde entier provenant de patients atteints d'infections communautaires (**Lowy, 1998**).

Le SARM a d'abord été signalé dans le milieu hospitalier, mais les souches résistantes se sont également manifestées au sein de la collectivité. Les souches responsables de l'évolution de la résistance au sein de la collectivité sont généralement susceptibles à une plus large gamme d'antibiotiques, mais au cours des dernières années, la distinction entre les souches d'origine hospitalière et d'origine communautaire est plus floue vu le déplacement des organismes à l'intérieur et à l'extérieur du milieu des soins de santé. Selon les résultats de 2006 du Programme canadien de surveillance des infections nosocomiales (PCSIN), le taux d'incidence global du SARM était de 8,04 par 1000 admissions (2,7 admis pour infection et 5,34 pour la colonisation). Des 5787 nouveaux cas signalés en 2006, 77 % étaient associés au milieu des soins de santé (soit des hôpitaux ou des établissements de soins de longue durée) et 15 % étaient d'origine communautaire (**Lowy, 1998**).

Deux principaux types de SARM désormais circulé dans la communauté: des souches hospitalières (H-SARM) que les patients infectés avec facteurs de risque tels que l'hospitalisation récente, la chirurgie, les maladies chroniques sous-jacentes, ou une immunosuppression et des souches provenant de novo dans la communauté (C-SARM) et les patients sont infectés sans facteurs de risque établis (**Journal of clinical microbiology, 2002**).

SARM-C, souches qui ont tendance à être plus sensibles aux antibiotiques que les souches de SARM-H, mais les souches SARM-C des États-Unis ont été signalées pour être résistantes à l'Erythromycine et aux Fluoroquinolones en 2005. Ces souches sont également porteuses des gènes de virulence spécifiques associés à la peau et les infections des tissus mous, y compris les gènes de la Leucocidine de Pantone-Valentine (PVL) (**Journal of clinical microbiology, 2002**).

D'Autres facteurs de virulence, comme les toxines super antigéniques, avaient été détectées aussi dans certaines souches de SARM-C. Ces même souches SARM-C souches qui ont une résistance à la méthicilline ont un gène de résistance petite cassette (CCN type *mec* IV ou V), tandis que les souches H-SARM les plus grandes ont une cassette (CSC type *mec* I ou II) (**Journal of clinical microbiologie, 2002**).

3.2. Résistance à la méticilline

Une souche est dite « résistante à la méticilline » lorsqu'elle présente une résistance aux pénicillines du groupe M, et par extension à toutes les β -lactamines. Elle se définit par une concentration minimale inhibitrice supérieure à 2 mg/l pour l'oxacilline, la pénicilline M de référence (**CA SFM, 2010**). Les souches SARM sont le plus souvent résistantes à d'autres classes d'antibiotiques (**Speller DC et al, 1989**), elles sont considérées comme des bactéries multirésistantes, et la résistance à la méticilline est depuis lors utilisée, comme marqueur de multirésistance (**Grohs P, 2009**). Bien qu'il n'existe pas de définitions de la multirésistance universellement acceptée, certains auteurs qualifient les microorganismes multirésistants par leur aptitude à résister à une ou plusieurs classes d'antibiotiques (**Siegel J et al, 2007**), d'autres requièrent pour cette multirésistance au moins trois molécules d'antibiotiques (**Kesah Cet al 2003**).

Les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) sont responsables d'environ 30 % des infections nosocomiales. Les SARM diffusent de façon épidémique et il existe un clone majoritaire français dont les caractéristiques moléculaires sont proches du clone V. D'autres clones de SARM hospitaliers peuvent être plus rarement isolés comme le clone ibérique correspondant aux souches résistantes à la gentamicine ou des souches proches du clone pédiatrique. Les SARM hospitaliers sont aussi responsables d'infections communautaires chez des patients ayant des facteurs de risque comme des antécédents d'hospitalisation (**Tristan A et al, 2005**).

Le développement des outils de biologie moléculaire a permis de réaliser des études d'épidémiologie globale (ou macro-épidémiologie), de donner des noms aux grands clones pandémiques de SARM et de montrer leur diffusion au niveau national et international (**Oliveira D.C et al, 2002**).

L'appartenance d'une souche de SARM à un clone est démontrée en caractérisant la souche successivement par :

- Le séquençage de 7 gènes (en anglais, MLST pour *multilocus sequence typing*) (**Robinson D.A et al, 2004**).

- La caractérisation du nombre et de la structure des répétitions présentes dans la séquence codante de la protéine A de *S. aureus* (*spa typing*) (**Harmsen D et al, 2003**).
- La caractérisation de la cassette contenant le gène de résistance *mec A* à la méticilline (*SCCmec* pour *staphylococcal chromosomal cassette*) [(**Oliveira D.C et al, 2002**), (**Ito T, 2004**)].
- Le type d'allèle *agr* de chacun des grands clones pandémiques (**Jarraud S et al, 2002**).

3.3. Mécanismes de résistance à la méticilline

Les mécanismes et les gènes de résistance des staphylocoques dorés et des staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont les mêmes. En revanche, la fréquence des résistances diffère : elle est plus élevée pour les SCN, au moins ceux que l'on isole dans les infections humaines (*Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus haemolyticus*) (**Leclercq, 2002**). *Staphylococcus aureus* a su progressivement s'adapter au développement de l'antibiothérapie en créant des mécanismes de résistance vis-à-vis de la plupart des produits (**Descloux E et al, 2007**).

La résistance à la méticilline chez les staphylocoques est principalement due à la présence du gène *mec A* présent dans une cassette *SCC mec* (**Hiramatsu K et al, 2002**), c'est un élément génétique mobile intégré dans le chromosome. Ce gène code pour une transpeptidase appelée *PLP2a*, impliquée dans la synthèse du peptidoglycane et qui a une faible affinité pour la bêtalactamine (**Chambers, 1997**).

La résistance à l'oxacilline (ou résistance à la méticilline) traduit la présence d'une cible des β -lactamines nouvelle et insensible à ces antibiotiques (**Leclercq, 2002**). L'origine de la méticillinorésistance chez *Staphylococcus aureus* est triple :

➤ **Synthèse d'une nouvelle PLP** : c'est la principale. Elle est le fait de la présence d'un gène *mecA* qui contrôle la synthèse de PLP additionnelles « anormales » ayant une très faible affinité (**Figure 6**) Pour toutes les β -lactamines. De très fortes variations d'expression de la méticillinorésistance sont observées d'une souche à l'autre et selon les conditions de culture (**Gueudet T & Lemblé C, 2004**). L'origine de ce gène *mec* reste encore inconnue (**Scanvic-Hameg A et al, 2002**). On parle d'expression hétérogène de la résistance. Quatre classes ont été décrites par Tomasz en fonction de la proportion de mutants résistants au sein de la souche étudiée : une classe homogène, classe 4 (toutes les bactéries expriment le même haut niveau de résistance), et trois classes hétérogènes, classe 1, 2 et 3 (il existe dans la population bactérienne des sous-populations plus ou moins résistantes (**Bemer-Melchior. P & Drugeon. H.B, 2001**)).

➤ **Production d'enzymes** : l'hyperproduction de β -lactamases aboutit à un bas niveau de résistance à l'oxacilline. Ces souches sont nommées BORSA (*Borderline Oxacilline Resistant Staphylococcus aureus*). Cette résistance est restaurée in vitro par les inhibiteurs de β -lactamases (**Gueudet T & Lemblé C, 2004**). La β -lactamase est une enzyme inducible codée par le gène *bla Z* porté par un plasmide (**Katayama, Y et al, 2003**). C'est une enzyme qui hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines, les rendant inactives (**Quincampoix, J C & Mainardi J L, 2001**). L'expression du *blaZ* est régulée par deux gènes, *blaR1-blaI* situés en amont et transcrits en direction opposée à *blaZ* (**Katayama, Y et al, 2003**).

➤ **Modification des PLP** : appelée aussi résistance intrinsèque, la résistance par modification de la cible moléculaire des β -lactamines est la plus fréquente (**Hamdad, F et al, 2006**), les PLP sont normales, elles ne sont pas néosynthétisées mais leur affinité pour les β -lactamines est diminuée, modifiée (souche MODSA pour *Modified Staphylococcus aureus*). Ces souches sont rares (**Gueudet T & Lemblé C, 2004**). *Staphylococcus aureus* possède quatre isoformes natives de protéines liant les pénicillines (PLP), une famille de protéases à sérine intervenant dans la synthèse du peptidoglycane. Elles sont la cible des β -lactamines qui empêchent ainsi la constitution de la paroi bactérienne, conduisant à la mort de la bactérie (**Forestier E et al, 2006**).

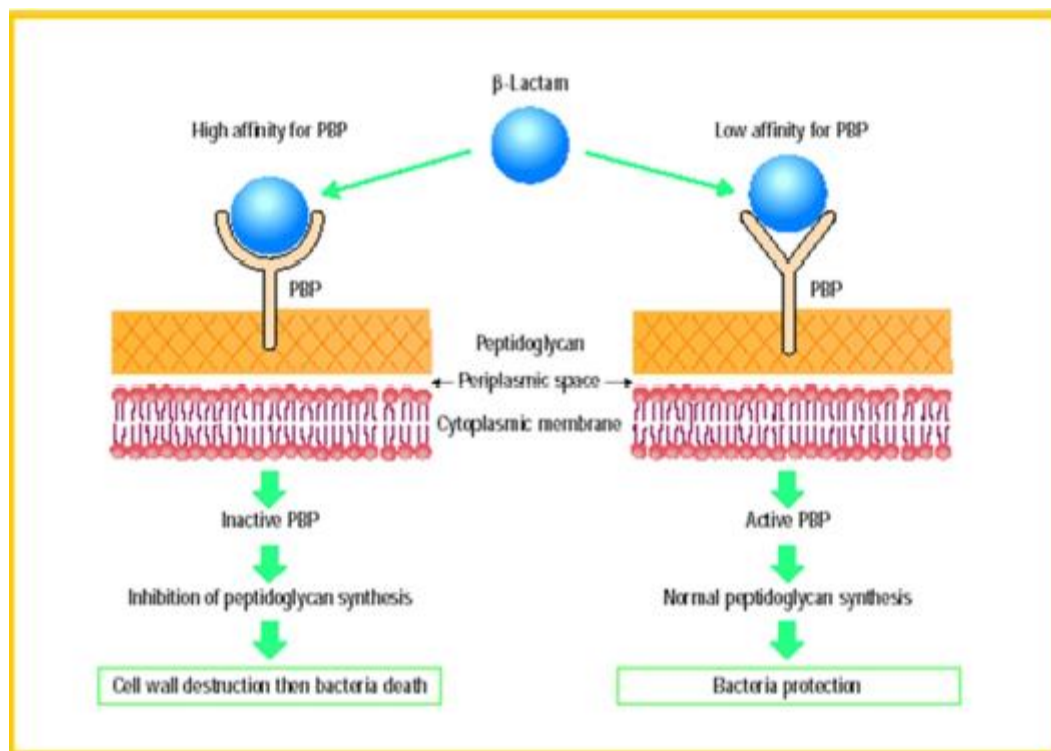


Figure 6: Mécanisme de résistance de *S. aureus* à la méticilline par PLP2

La connaissance des mécanismes de résistance et leur compréhension doivent permettre une meilleure utilisation des antibiotiques dont le but est multiple :

- Permettre en premier lieu d'être actif sur les bactéries impliquées dans les infections.
- Limiter l'émergence des souches résistantes.
- Eviter l'apparition de nouveaux mécanismes de résistance **(Gaudy, C & Buxeraud, J, 2005).**

3.4. Support de résistance

La résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus* est acquise par l'insertion dans le chromosome d'un élément génétique mobile appelé SCC *mec* (pour *staphylococcal cassette chromosome mec*) abritant le gène *mecA*, **[(Katayama T et al, 1999), (Hiramatsu, 2001)].**

Le SCC *mec* correspond à un fragment d'ADN de 21 à 67 kb intégré dans le chromosome des SARM au niveau d'un site unique appelé *attB_{sc}* localisé près de l'origine de réplication du chromosome bactérien **[(Ito T et al, 2001), (Kuroda M et al, 2001)].** Cette région est un lieu de prédilection pour l'ajout de séquences d'insertion et de transposons, en particulier ceux codant pour la résistance aux antibiotiques **(Shlaes Det al, 1997).**

Pour ses mouvements, le SCC *mec* porte une paire de gènes codant pour les recombinases A et B appelés « *cassette chromosomal recombinase genes A and B* » (*ccrAB* ou *ccrA* et *ccrB*). Ces recombinases appartiennent à la famille des « invertases-resolvases » et sont capables de mobiliser cet élément génétique **(Ito T, et al, 1999).**

Cinq classes du complexe gène *mec* et cinq allotypes du complexe gène *ccr* ont été identifiés (figure 6), Ils diffèrent par leur taille et leur composition génétique **(Jemili-Ben Jomaa et al, 2007).**

Le site d'intégration de l'extrémité 3' des éléments SCC *mec* dans le génome de *Staphylococcus aureus* est situé au niveau d'une séquence hautement conservée : le gène *orfX* **(Ito T, et al, 1999).** Il s'agit d'un cadre de lecture ouvert (ORF ou *open reading frame*) de fonction inconnue **(Hougardyet al, 2006).**

Le gène *mecA* a été découvert et cloné en 1986. Cette séquence d'ADN n'est pas retrouvée dans les souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la pénicilline. L'hypothèse d'une transposition à partir de souches de staphylocoques à coagulase négative est le plus souvent évoquée **(Forestier E et al, 2006).**

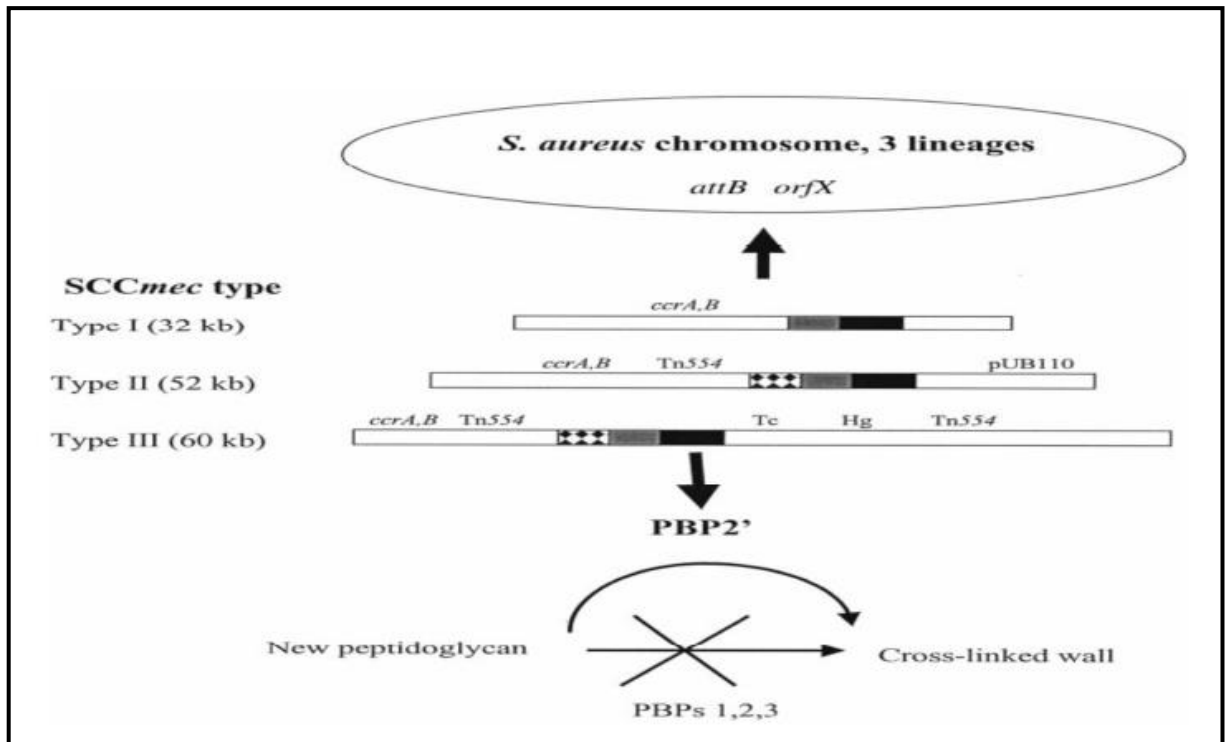


Figure 7: Bases génétiques et biochimiques de la résistance de *S. aureus* à la méthicilline (Hiramatsu K et al, 1999)

3.5. Les causes d'infection par SARM

Généralement, les infections à SARM ne se développent pas chez les personnes en bonne santé. Elles sont plus courantes chez celles qui sont déjà hospitalisées car la bactérie trouve souvent un point d'entrée dans le corps, tel qu'une plaie chirurgicale ou un tube d'intraveineuse, une brûlure ou une coupure ouverte, celles qui ont un problème de peau grave telle que le psoriasis, celles qui ont un système immunitaire affaibli (personnes âgées, personnes ayant une maladie de longue durée telle que le cancer, etc.), celles qui ont un cathéter ou une perfusion, celles qui ont été opérées récemment (Muller et al, 1987).

3.6. Les Symptômes de l'infection à SARM

Les symptômes d'une infection à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline sont les mêmes que ceux présents lors d'une infection par un autre type de *Staphylococcus aureus*. La peau est rouge et enflammée autour de la plaie. Dans les cas graves, les symptômes suivants peuvent être présents : fièvre, léthargie et maux de tête. Le SARM peut causer des infections urinaires, des pneumonies, le syndrome du choc toxique et même la mort (Louis Auquier, Elsevier).

Bien que SARM soit résistant à de nombreux antibiotiques et que l'infection qu'il provoque puisse être difficile à traiter, il existe quelques antibiotiques qui peuvent guérir une infection à SARM. Les patients qui sont uniquement colonisés par SARM n'ont habituellement pas besoin de traitement (**Journal of clinical microbiology, 2002**).

3.7. Transmission des SARM

Le SARM se transmet principalement d'une personne à l'autre par contact ou par contamination de l'environnement. Il peut être présent sur les mains du soignant qui a touché des matières excrétées ou des articles contaminés par la personne atteinte, comme des serviettes, des draps et des pansements. Le SARM peut vivre dans les mains contaminées du personnel soignant. C'est pourquoi la meilleure protection est le lavage des mains du personnel soignant (**Mesures de prévention et de contrôle des infections à *staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, 2006**).

Le risque de transmission du SARM d'une personne porteuse à des membres de sa famille, incluant les enfants et les femmes enceintes, est très faible (**Grundmann et al, 2006**).

Les membres du personnel hospitalier représentent un second réservoir à partir duquel *S. aureus* peut être transmis aux patients. Ils peuvent être soit des porteurs occasionnels, soit des porteurs permanents. Une autre source potentielle de contamination peut être les blouses du personnel ou les surfaces de travail. *S. aureus* peut survivre plusieurs jours sur des surfaces souillées (**Grundmann et al, 2006**).

L'utilisation fréquente et prolongée ou assidue d'antibiotiques peut accroître le risque d'infection. Ce risque est également élevé chez les utilisateurs de drogues injectables et les personnes atteintes de maladies chroniques ou dont le système immunitaire est affaibli (**Grundmann et al, 2006**).

Les contacts familiaux, comme les étreintes, ne posent pas de risques, toutefois, il faut se laver les mains avant de quitter l'établissement de santé, la chambre ou la maison où se trouve le patient. Également, avant de manipuler des liquides organiques ou de toucher des sujets infectés, il importe de mettre des gants et, après les avoir enlevés, de se laver les mains, avant de quitter la chambre ou la maison du patient. En outre, avant qu'une personne infectée ne quitte l'hôpital, il faudrait demander à l'infirmière ou au médecin

quelles sont les précautions à prendre une fois à la maison (**Mesures de prévention et de contrôle des infections à *staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, 2006**).

3.8. Diagnostic des *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline

Les infections par le SARM sont diagnostiquées par des analyses de sang, d'urine ou d'un échantillon de tissu provenant de la zone infectée afin d'y détecter la présence de la bactérie (**Maziade, 2006**).

Si la bactérie du SARM est trouvée, de nouveaux tests seront effectués pour savoir à quels antibiotiques la bactérie ne résiste pas et, par conséquent, lesquels peuvent être utilisés pour les traiter. Aujourd'hui, de nombreux hôpitaux testent toutes les personnes hospitalisées pour savoir si elles sont colonisées par le SARM. Ils peuvent analyser des prélèvements de peau et de nez, ainsi que des échantillons d'urine et de sang pour essayer d'y trouver la bactérie (**Queen's Printer and Controller of HMSO 2008**).

3.9. Traitement des SARM

IL est important de supprimer la bactérie. Une crème antibiotique spéciale sera appliquée à la peau ou à l'intérieur du nez pour y retirer la bactérie. Dans le cas d'infection par le SARM, des antibiotiques encore efficaces (auxquels la bactérie n'est pas déjà résistante) seront aussi utilisés (**Drugeon Henri, 2008**).

La plupart des infections dues au SARM peuvent être traitées avec les antibiotiques vancomycine ou linézolide, qui sont généralement administrés par injection intraveineuse (**Tenover et al, 2001**).

La plupart des infections dues au SARM nécessitent un traitement à l'hôpital ; le traitement par antibiotiques peut continuer pendant plusieurs semaines (**Auquier, Elsevier**).

4. Les staphylococcus aureus de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides

4.1. Définition

Les souches GISA (pour Vancomycin Intermediate S. aureus) ou VISA (pour Glycopeptide Intermediate S. aureus) ont une sensibilité diminuée aux glycopeptides (vancomycine ou téicoplanine) définie par une CMI $> 4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (**Johnson et al, 1999**). La dénomination VISA est plus spécifique des USA, la téicoplanine n'y étant pas utilisée. Certains auteurs ont utilisé le terme de VRSA (pour Vancomycin Resistant S. aureus) pour définir des souches VISA, mais ce terme est inapproprié, aucune souche clinique de S. aureus résistante à la vancomycine n'ayant jamais été rapportée. De même, le terme GRSA (pour Glycopeptide Resistant S. aureus) correspond à des souches résistantes à la vancomycine ou la téicoplanine. La définition de la sensibilité n'a pas toujours été la même entre les recommandations française (CA-SFM98) et américaine (NCCLS 99) (**Johnson et al, 1999**). Actuellement, d'après les recommandations récentes de la CA-SFM (**Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2000**), la méthode de référence permettant de classer les souches de staphylocoque doré de sensibilité diminuée aux glycopeptides est la détermination de la CMI de la souche à vancomycine et de la téicoplanine par la méthode de dilution en milieu gélosé de Mueller-Hinton (**Johnson et al, 1999**). Les concentrations critiques suivantes doivent maintenant être adoptées pour la vancomycine et la téicoplanine :

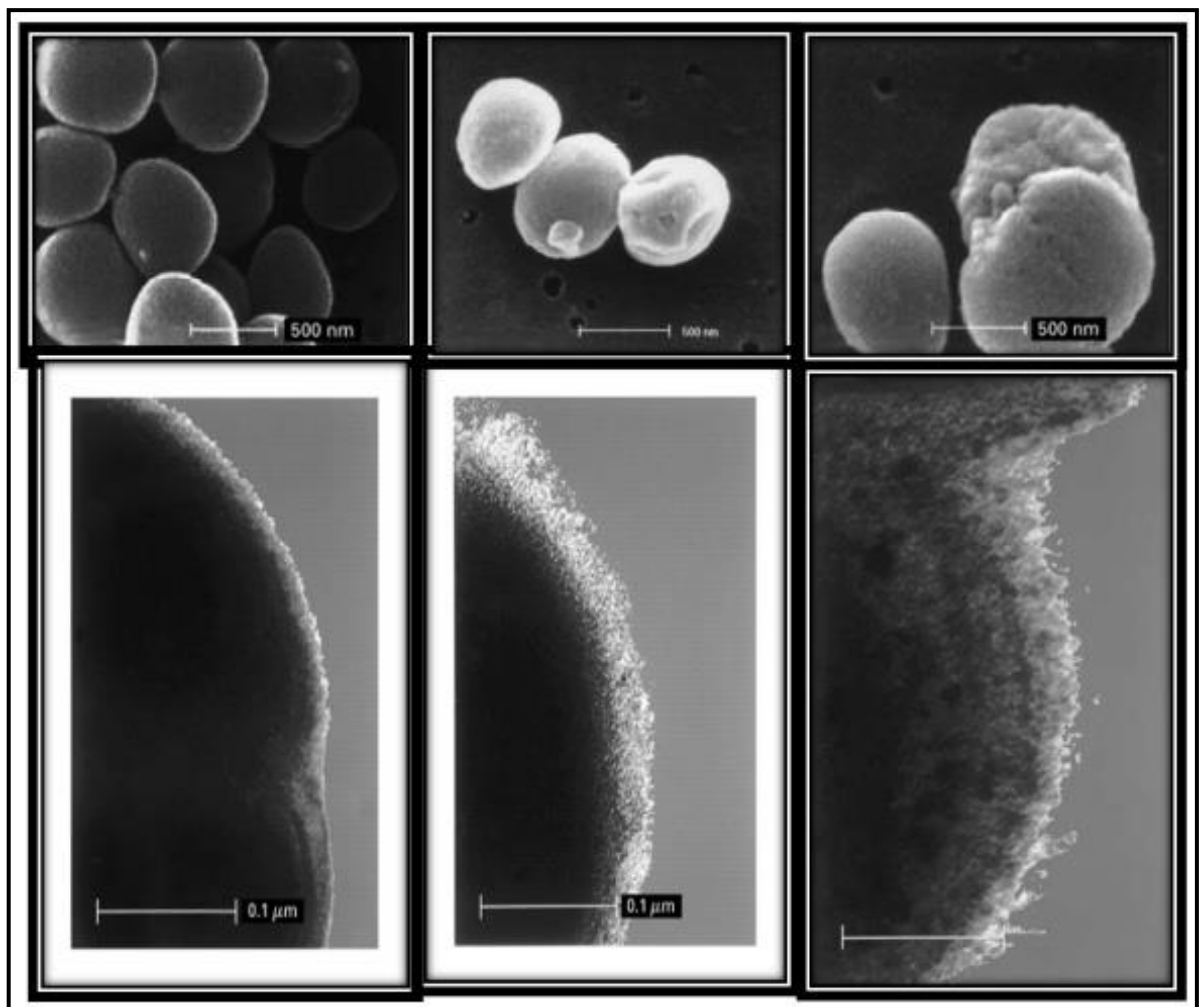
- $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ au plus : sensible.
- De 8 à $16 \mu\text{g.mL}^{-1}$: intermédiaire.
- Au-delà de $16 \mu\text{g.mL}^{-1}$: résistant (**Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2000**).

4.2. Le mécanisme de résistance

Le mécanisme de résistance chez les GISA et chez les hétéro-GISA demeure quant à lui mal compris. Ces souches présentent de multiples mutations qui entraînent des anomalies de synthèse et de composition du peptidoglycane avec un épaissement de la paroi cellulaire (**Figure 9**) (**Cosgrove M et al, 2004**). Cette accélération de la synthèse du peptidoglycane entraîne une augmentation du nombre de sites D-alanine-D-alanine disponibles pour fixer la vancomycine, ces résidus servent de « fausses cibles » pour

séquestrer les molécules de vancomycine qui ne peuvent pas pénétrer à travers la paroi cellulaire et restent bloquées « phénomène de trapping » (**Appelbaum, 2006**).

Une quantité supérieure de ces antibiotiques sera donc nécessaire pour atteindre les sites actifs au niveau de la membrane cytoplasmique, l'accélération de la synthèse et du renouvellement de la paroi cellulaire de ces souches semble nécessiter une augmentation de la quantité de NAM (N-acétyl muramique) disponible et une accélération du captage du NAG (N-acétylglucosamine) (Cette augmentation des besoins en précurseurs de la paroi bactérienne entraînent une consommation accrue de glutamine (**Hanaki, 1998**). La disponibilité de cette dernière deviendrait alors insuffisante pour fournir un groupement NH_4^+ à l'acide D glutamique (**Cui L et al, 2000**). Le défaut d'amidation qui en résulte semble être responsable d'un degré de maillage plus faible du peptidoglycane (**Boyle Vavra S et l, 2001**).



1

2

3

Figure 8: Comparaison de la paroi d'une cellule de *Staphylococcus aureus* sensible (1) et une autre résistante à la vancomycine (2, 3) (Image prise par microscopie électronique à transmission grossissement : $\times 30000$) (Smith et al, 1999)

L'exposition prolongée à la vancomycine semble constituer l'élément essentiel de l'acquisition in vivo du phénotype de résistance [(Hiramatsu K et al, 1997), (Ploy MC et al, 1998)]. Il est à noter que cette résistance est instable et peut être réversible (Joly–Guillou, 2004).

Le risque de développement de résistance est plus important avec la téicoplanine. La plupart des souches GISA décrites présentent des CMI plus élevées à la téicoplanine qu'à la vancomycine. C'est pourquoi, la téicoplanine est utilisée pour détecter les niveaux bas de résistance aux glycopeptides (Pierard Det al, 2004).

4.3. Détection des souches au laboratoire

Il est important d'identifier correctement les souches GISA mais, le meilleur moyen de détection n'est pas encore bien défini. En France, et d'après la CA-SFM (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2000), les critères de suspicion de sensibilité diminuée aux glycopeptides sont les suivants :

- Il s'agit de souches presque constamment résistantes de façon simultanée à la méticilline et à la gentamicine (Hiramatsu et al, 1997).
- En routine (méthode de diffusion en milieu gélosé), on les suspecte lorsque :
 - Le diamètre de la zone d'inhibition est < 17 mm autour du disque de l'un des 2 glycopeptides.
 - Le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de téicoplanine est inférieur d'au moins 3 mm à celui de la vancomycine (diminution de la sensibilité plus importante avec la téicoplanine).
 - Quelques colonies sont présentes dans la zone d'inhibition de l'un de 2 glycopeptides.
 - Il existe un phénomène d'interaction (synergie ou antagonisme) entre l'un des 2 glycopeptides et un disque d'oxacilline à 5 µg.
- Dans un second temps, on réalise un screen-test sur gélose Mueller-Hinton contenant 5 mg.L⁻¹ de téicoplanine, ensemencée par dépôt de 10 µL d'une suspension de 6.10⁸ UFC.mL⁻¹, après incubation de 35 à 37°C. La sensibilité diminuée aux glycopeptides est suspectée si on détecte la présence d'au moins une colonie de 24 à 48 heures (Johnson et al, 1999).
- Confirmation par détermination des CMI de vancomycine et de téicoplanine par dilution en milieu gélosé de Mueller-Hinton (Johnson et al, 1999).

4.4. Prévention SAMR et GISA

Les Tableaux 4 et 5 rappellent les recommandations américaines quand les premiers cas de GISA ont été détectés aux USA [(Recommandations for preventing the spread of vancomycin resistance, 1995), (Interim guidelines for prevention and control of staphylococcal infection associated with reduced susceptibility to vancomycin, 1997)]. Elles sont adaptées à toute situation où il existe un risque d'infection à staphylocoque doré de sensibilité diminuée aux glycopeptides. Elles consistent principalement à ne pas méconnaître les populations hétérogènes, à prendre des mesures d'hygiène pour éviter la transmission transversale, à limiter l'usage des glycopeptides.

4.4.1. Mesures d'hygiène adaptées

Elles sont comparables aux mesures prises avec les SDMR (**Tableau 4**). Elles consistent principalement à dépister la présence de GISA chez les patients à risque, à isoler le patient colonisé ou infecté dans une chambre seule et le signaler à l'aide d'un pictogramme, réduire le nombre de personnes en contact avec lui, utiliser des précautions de contact (lavage antiseptique des mains, port de gants, surblouses, plus ou moins masques en cas d'infection respiratoire, matériel de soin réservé au patient)... Ces mesures sont indispensables pour lutter contre une transmission transversale de GISA et doivent être appliquées avec rigueur. Une étude rétrospective française (**Denes et al, 2001**) montre en effet, que parmi 42 patients porteurs de souches GISA isolées en 2000 dans un hôpital de Limoges, seuls 31 % avaient reçu des glycopeptides antérieurement, suggérant une dissémination nosocomiale des souches.

4.4.2. Optimisation de l'utilisation des glycopeptides

Il s'agit de traiter correctement les infections à SDMR, en utilisant les glycopeptides à des doses et des concentrations suffisantes, en éradiquant les corps étrangers et les foyers collectés de façon efficace. Bien que non validées cliniquement, des concentrations résiduelles toujours supérieures à 10-15 µg.mL⁻¹ et des pics supérieurs à 30 µg.mL⁻¹ paraissent souhaitables. Il n'y a pas de démonstration de bénéfice clinique de la perfusion continue en termes d'efficacité. (**Denes et al, 2001**)

D'autre part, il faut tenir compte des situations dans lesquelles l'utilisation de la vancomycine doit être évitée ou limitée (**Tableau 5**). Enfin, en cas de nécessité d'utilisation d'un glycopeptide, l'usage de la téicoplanine doit être restrictif, son pouvoir sélectionnant paraissant plus important que celui de la vancomycine.

Tableau 4: Recommandations américaines pour la prévention de la dissémination de souches de staphylocoque résistantes aux glycopeptides (Interim guidelines for prevention and control of staphylococcal infection associated with reduced susceptibility to vancomycin, 1997)

Laboratoire
S'assurer de la présence d'un isolat pur de staphylocoque dore. • Utiliser une des méthodes suivantes pour déterminer la CMI dans un délai d'incubation de 24 heures. - Microdilution. - Dilution en milieu gélose. - Méthode du gradient de diffusion. • Retester les isolats associés à une CMI $\geq 4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ et ceux provenant de patients chez qui on ne note pas d'amélioration sous glycopeptides. • Rapporter tous les isolats de staphylocoque dore ayant CMI $\geq 4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ au département de santé et au CDC.
Contrôle de l'infection
Isolement du patient dans une chambre seule et réduction du nombre de personnes en contact avec le patient. • Débuter investigations cliniques et biologiques avec l'assistance du département de santé et du CDC. • Eduquer le personnel de santé quant aux GISA et aux précautions pour la maîtrise de l'infection. • Contrôler et faire respecter les précautions de contact. • Rechercher transmission horizontale en dépistant la présence de germes (mains, narines) chez : - personnes en contact physique avec le patient - patients hospitalisés dans la même chambre • Prendre des mesures de précautions (surblouse, gants, masque, savon bactéricide). • Vérifier le respect des procédures. • Consulter le département de santé et le CDC avant de transférer le patient ou de le faire sortir. • Informer le personnel suivant de la présence d'un patient porteur d'une souche GISA : - médecin ayant accepté le patient. - personnel des urgences. - personnel ayant admis le patient dans le service.

Tableau 5: Recommandations américaines pour les situations dans lesquelles la vancomycine doit être évitée (Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance, 1995)

Prophylaxie de routine
Chirurgie chez patients allergiques aux β -lactamines • Nouveau-nés prématurés • Patients dialyses • Neutropénies • Patients porteurs de cathéters centraux
Traitement empirique
• Neutropénies fébriles non a haut risque d'infection a germes gram+ résistants • Nouveau-nés prématurés fébriles
Décontamination du tube digestif
Indication a un traitement
• Une seule hémoculture positive a staphylocoque coagulase négative • Colonisation a staphylocoque dore méthicilline resistant • Colite a Clostridium difficile (en première intention) • Infections a gram+ non liées a des germes résistants

Matériel et Méthodes

1. Matériels :

1.1 Milieux de culture et produits

Milieux de culture liquides

Bouillon nutritif (BN).

Milieux de culture solides

Gélose Chapman.

Gélose nutritive (GN).

Mueller Hinton.

Tests biochimiques

Eau oxygénée à 10 volumes.

Tubes à hémolyse.

Antibiotiques en disques

Pénicilline G, Oxacilline, Céfoxitine, Streptomycine, Gentamycine, Kanamycine, Tobramycine, Erythromycine, Spiramycine, Lincomycine, Clindamycine, Vancomycine. Ces antibiotiques appartiennent à différentes famille.

2. Méthodes

2.1 Origine de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués à l'hôpital d'Ahmed Medaghri Saida, au niveau des services :

- Service de néphrologie.
- Hémodialyse.
- service de réanimation
- Service de chirurgie (femme, homme et pédiatre).
- Services de traumatologie.

2.2 Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective dont le but est le dépistage des patients porteurs du SARM et GISA à l'admission dans différents services.

Notre étude a été menée de décembre de 2015 à juin 2016

2.3 Lieu d'étude

Cette étude a été menée dans l'Hôpital d'Ahmed Medaghri de Saida en collaboration avec différents services.

2.4 Critères d'inclusion

Ont été inclus dans l'étude, tous les malades qui ont séjourné dans la période d'étude dans les services citées de tout âge, dépassant 48 h d'hospitalisation.

2.5 Critères d'exclusion

Ont été éliminés tous les hospitalisés qui n'ont pas répondu aux critères d'inclusion.

2.6 Recueil des données

Pour chaque malade lors de l'admission, on a rempli une fiche qui porte les informations suivantes : nom, prénom, sexe, âge, services d'hospitalisation.

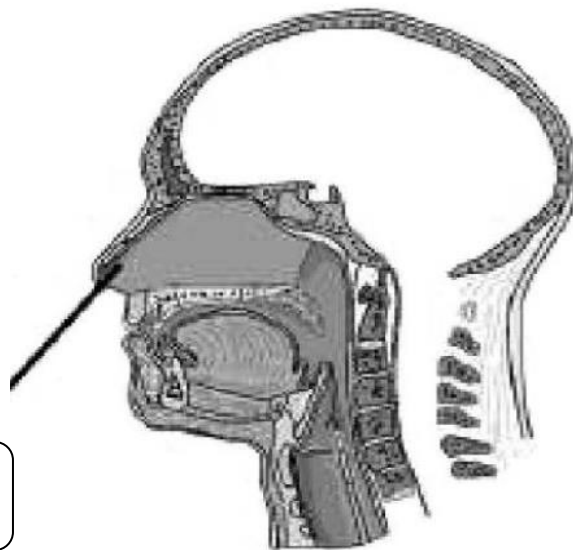
2.7 Les prélèvements

2.7.1 Prélèvement nasal

Les prélèvements sont réalisés par écouvillonnage nasal des patients

On suit les étapes suivantes :

- ✓ On prélève par un écouvillon sec, ou humide si narine sèche.
- ✓ On insère l'écouvillon dans la narine antérieure du patient (1-2 cm) et on recueille les sécrétions nasales en effectuant 5 rotations complètes de l'écouvillon.
- ✓ On répète la même procédure dans l'autre narine du patient sans changer d'écouvillon.
- ✓ Et on place l'écouvillon dans un étui de transport.



Profondeur 1 à 2
cm

Figure 9: Profondeur d'insertion de l'écouvillon dans la narine antérieure du patient (Guide de prévention et de contrôle à l'intention des établissements de soins, Juin 2006).

2.7.2 Prélèvement de cathéter

2.7.2.1 Critères d'inclusion

Tout nouveau cathéter veineux maintenu plus de 48h

- Posé dans des conditions d'asepsie chirurgicale quelque soit le type de cathéter (périphérique, central), à une ou plusieurs lumières et quel que soit le site.
- Toute nouvelle sonde vésicale maintenue plus de 48h et posée dans des conditions d'asepsie de soin.

2.7.2.2 Prélèvement distal protégé

Pour le diagnostic des infections du cathéter nous avons utilisé dans cette étude une méthode qui nécessite l'ablation du cathéter.

L'ablation du cathéter doit se faire stérilement, et son extrémité distale (la totalité de la partie insérée pour les cathéters courts, 5cm pour les cathéters longs), coupée et immergée dans 9ml de bouillon nutritif dans des tubes, et adressée au laboratoire incubé pendant 24h à 37 °C.

Après l'incubation

- agité pendant 1mn sur vortex pour détacher du cathéter le produit pathogène.
- ensemencée 10µl sur le milieu de culture.

2.8 Isolement et purification

L'isolement a été réalisé par repiquage successif sur bouillon nutritif et sur le milieu Chapman, incubés 18 à 24 h à 37°C. *Staphylococcus aureus* donne des colonies jaunes crémeuses bombées de 1 à 2 µm de diamètre dégradant le mannitol en acide lactique sur Chapman (abaissement du pH = acidification du milieu).

2.9. Identification

2.9.1. Examen macroscopique

- **Sur Milieu de Chapman**

Sur le milieu de Chapman, les colonies jaunes entourées d'une zone jaune, mannitol+ sont des *S. aureus*, *S. saprophyticus*...

.Les colonies entourées d'une zone rouge ou pourpre, mannitol- sont des *S. epidermidis*, *S. hominis*...

2.9.2. Examens microscopiques

Coloration de Gram

Elle permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne. L'avantage est de donner des résultats rapides.

Un frottis : fixation de chaleur

Sur une lame on a déposé une goutte d'eau , on a ajouté une goutte de la colonie isolée à l'aide d'une anse de platine , étaler et fixer à la chaleur environ 10 à 15 min à 40°C

Coloration

- Recouvrir l'étalement fixé de cristal violet oxalaté (réactif prêt à l'emploi).
- Laisser agir une minute. Rejeter le violet.
- Recouvrir alors l'étalement de lugol (réactif prêt à l'emploi). Laisser 15 à 20 secondes.
- Rejeter et remplacer par la même solution (deux fois et pendant 20 secondes à chaque fois).
- Laver à l'eau.

Différentiation

- Décolorer par l'alcool-acétone, en le versant goutte à goutte sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes).
- Laver immédiatement à l'eau.

Contre coloration

- Recolorer par une solution de safranine (réactif prêt à l'emploi). Laisser agir 30 secondes.
- Laver à l'eau.
- Sécher la préparation entre deux feuilles de papier filtre.
- Examiner au microscope à l'immersion (x 1000).

Lecture

Les bactéries à Gram positif sont colorées en violet, les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose. Donc On a observé que c'est des cocci à G+ assemblés en amas formant grappe de raisin.

2.10. Identification biochimique

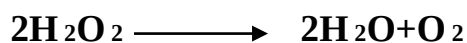
En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques:

2.10.1. Recherche de la catalase

Principe

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes H_2O_2 dont l'accumulation a un effet létal pour les bactéries.

La catalase a la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) avec dégagement d' O_2 sous forme gazeuse selon la réaction suivante.



Technique

A partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.

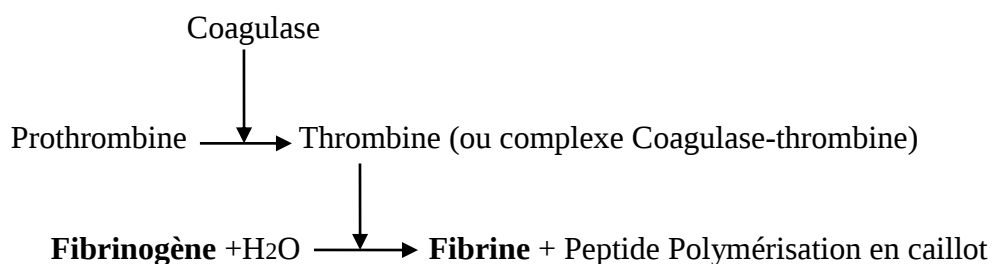
Lecture

La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d' O_2 .

2.10.2. Test coagulase

Recherche de la coagulase libre

L'activité de la coagulase de *staphylococcus aureus* sur le plasma humain a été prise comme un critère principal pour différencier les espèces de genre *staphylococcus* à coagulase positif des autres espèces du genre *staphylococcus* à coagulase négatif (SCN). La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable, la staphylocoagulase ou coagulase. La staphylocoagulase agit en liaison avec la prothrombine et en absence de calcium.



Parmi les *staphylococcus*, pratiquement seul *Staphylococcus aureus* la possède, certaines souches de *S. aureus* peuvent en être dépourvues (10 à 15 % en milieu hospitalier), la perte de la coagulase étant souvent reliée à un traitement antibiotique.

Dans l'organisme, l'action de la coagulase est à l'origine de microcaillots de fibrine à l'intérieur desquels les bactéries peuvent proliférer à l'abri des défenses de l'organisme. La recherche de la coagulase de *Staphylococcus* est compliquée par la présence d'un récepteur au fibrinogène provoquant l'agglutination de la souche placée dans un plasma du lapin oxalaté (on parle de coagulase « liée »).

Technique

- Réaliser une culture en bouillon nutritif.
- Etuver 24h à 37°C.
- Mettre dans un tube à hémolyse 4 gouttes de bouillon agité et 4 gouttes de plasma du lapin.
- Placer le tube dans l'incubateur à 37°C durant 4 à 6h.
- Une coagulation pourra être observée par une prise en masse du liquide.

Lecture

Si le plasma coagule en moins de 24h, le germe possède une coagulase. La seule mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de staphylocoque ne suffit cependant pas à affirmer qu'il s'agit d'un staphylocoque doré, dans de rares cas, un staphylocoque doré peut avoir perdu sa coagulase.

2.11. Identification par plaque API 20 Staph (BioMérieux)

Créée en 1970, la gamme API, a représenté une vraie révolution dans le domaine de la bactériologie en miniaturisant et en standardisant les techniques conventionnelles, jusqu'alors très complexes à réaliser et à lire (**BioMérieux France**)

➤ Technique

Ensemencement d'une galerie Api

Préparation de la galerie

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

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API Staph Médium ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélose.
- Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être inoculée extemporanément.

Inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Médiumensemencé. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Renfermer la boîte d'incubation
- Incuber à $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 18-24 heures.

Lecture de la galerie

- Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :
 - Test VP : VP 1 et VP 2.
 - Test N1T : N1T 1 et N1T 2.
 - Test PAL : ZYM A et ZYM B.

Détermination du profil numérique

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

Identification

Elle est réalisée à l'aide du Catalogue Analytique ou du logiciel d'identification.



Figure 10: Identification de *S. aureus* et de *S. epidermidis* API® Staph

2.12. Conservation des souches

Les souches sont conservées dans des tubes de gélose nutritive inclinés à une température de 4°C (ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue donc dans des conditions peu favorables pour leur multiplication).

2.13. Antibiogramme

Préparation de l'inoculum

L'antibiogramme a été réalisé sur la gélose de Mueller-Hinton. L'épaisseur de la gélose doit être strictement de 4 mm répartie uniformément quelle que soit la dimension de la forme de la boîte de Pétri utilisée.

➤ Matériel

- Eau distillée.
- Piquette pasteur.

Technique

- Repiquer une colonie à partir d'une culture pure développée de 24 heures sur un milieu d'isolement dans 10 ml de bouillon nutritif
- Incuber à 37° C pendant 18 heures sous agitation.
- Grâce à un colorimètre, mesurer la densité optique de l'inoculum et ajuster en ajoutant la culture s'il est très faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est très

fort, la densité optique doit être entre 0.08 et 0.1 à 625 nm équivalente à 108UFC /ml (0,5 Mc Farland).

- Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la turbidité de l'inoculum, tremper un écouvillon dans cette suspension.
- Presser fermement contre la paroi intérieure du tube juste au-dessus du niveau du liquide, tourner l'écouvillon pour enlever le liquide excédentaire.
- Etaler à trois reprises sur la surface entière de la gélose, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application afin d'obtenir une distribution égale de l'inoculum.
- Appliquer les disques d'antibiotiques sur les boîtes de Pétri dès que possible à moins de 15 minutes après l'ensemencement à l'aide d'une pince stérile.

Application des disques d'antibiotiques

Déposer les disques (maximum 6 pour une boîte de 90mm) à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince stérile (**Bocquier, 2011**). Ils sont espacés de 24 mm, centre à centre (**Chaala, 2013**). Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince stérile ou à l'aide d'un distributeur. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont ensuite incubées immédiatement pendant 18 heures à 37°C.

III.7.4.3 les disques utilisés

Ces différents antibiotiques que nous avons testés :

- ✓ Pénicilline G
- ✓ Oxacilline
- ✓ Céfoxitine
- ✓ Streptomycine
- ✓ Gentamycine
- ✓ Kanamycine
- ✓ Tobramycine
- ✓ Erythromycine
- ✓ Spiramycine
- ✓ Lincomycine
- ✓ Clindamycine
- ✓ Vancomycine

Lecture et interprétation

Mesurer avec précision les diamètres de chaque zone d'inhibition en mm, et classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant dans le tableau de lecture, puis la bactérie est classée dans l'une des catégories: sensible, intermédiaire ou résistante.

Tableau 6: Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés (CASFM, 2010)

Antibiotiques Testés	Symbole	Charge du disque	Concentration critique (mg/l)		Diamètres critiques (mm)	
			S	R	S	R
Bétalactamine : Pénicilline Oxacilline	P OX	6µg 5µg	≤0.25 ≤2	16 >2	≥8 ≥20	≤29 ≤20
Aminosides Gentamicine Kanamycine	GN K	15µg 30 UI	≤2 ≤8	>4 >16	≤16 ≤15	≥18 ≥17
Macrolides Erythromycines Lincomycines	E L	15µg 15µg	≤1 ≤2	>4 > 8	≥17 ≥17	≤22 ≤21
Glycopéptides Vancomycine	VA	30µg	≤4	> 8	≥17	-
Autres Chloramhénicol Fosfomycine Acide fusidique Co-trimoxazole Rifampicine	C FF FA COT RA	30µg 50µg 10µg 1,25/23,75 µg 30µg	≤8 ≤2 ≤32 — ≤0,06	>16 >16 >32 — > 0,5	≥19 ≥15 ≥14 ≥28 ≥29	< 23 < 22 < 14 < 32.5 < 24

OX : oxacilline, P : Pénicilline, K : Kanamycine, GM : Gentamycine, TM : Tobramycine, E : Erythromycine, FOS : Fosfomycine, VA : Vancomycine, L : Lincomicyne, FA ; Acide fusidique, COT ; Co-trimoxazole, C : Chloramhénicol

Résultats et Discussion

1. Prélèvement nasal et du cathéter

Sur les 42 prélèvements analysés de patients hospitalisés après un délai de quarante-huit heures, 52% se sont révélés positifs (développement bactérien), soit un taux de 48% alors que sont négatifs, nous considérons comme négatifs, les prélèvements qui ne présentent aucun signe de culture au bouillon nutritif (**Figure 11**), ou bien ne montrent pas de noircissement après culture sur milieu on a trouvé 34% résultats positives pour les prélèvements nasales et 18% pour le prélèvements du cathéters alors ces résultats nous informe que le nez et plus préférable pour ce groupe bactérien .

La contamination peut avoir deux origines : soit au niveau du patient donc au cours du prélèvement lui-même, soit au cours d'un autre acte médicale et paramédical. Dans les deux situations, la principale cause et le manque d'hygiène qui engendre l'inoculation des bactéries de l'environnement qui ne sont pas en relation avec l'infection mais qui peuvent coloniser le malade (dans le cas de la contamination chez celui-ci) et provoquer chez lui des infections nosocomiales.

Tableau 7: répartition des prélèvements selon leur culture

Prélèvements	Nb prélèvements	Pourcen tage
Positifs	22	52%
Négatifs	20	48%
Total	42	100%

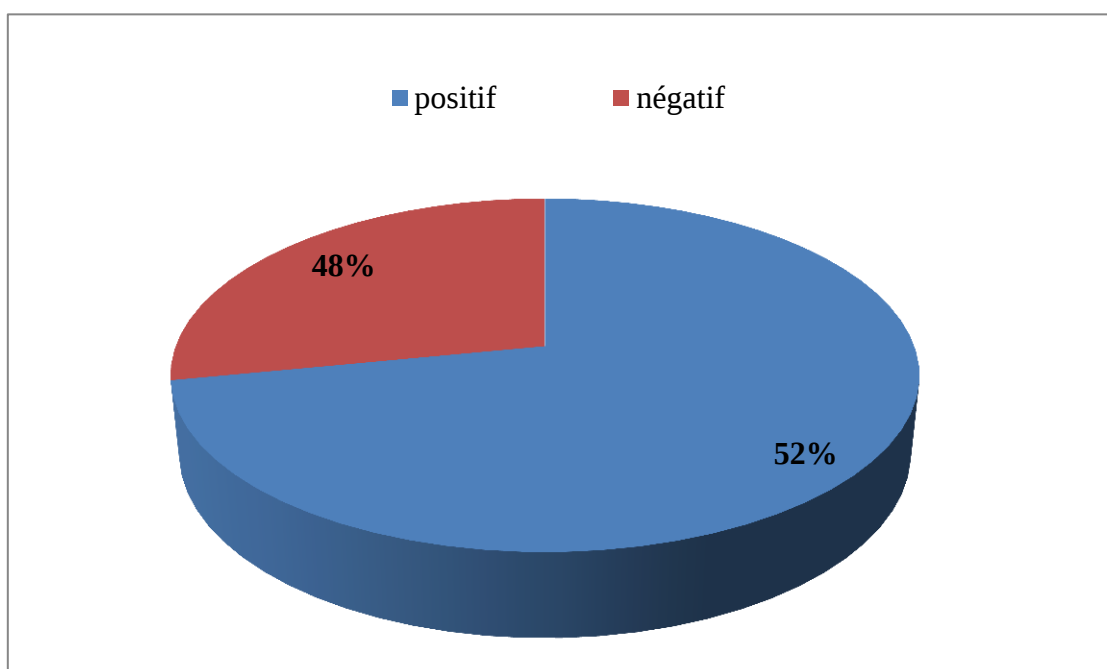


Figure 11: Répartition des prélèvements selon leur culture

Nous avons constaté lors des prélèvements que les personnels soignants ne changent pas de gant, ne ferment pas la porte ni les fenêtres ce qui pourraient engendrer un risque infectieux et être un facteur de transmission croisée lors de l'hospitalisation des patients.

Cathéters analysés

Le tableau ci-dessous illustre la nature des matériaux qui constituent les cathéters utilisés au niveau des différents services chirurgie (femme, homme et pédiatre), traumatologie, réanimation, néphrologie hémodialyse et Médecine interne, on signale que ces derniers ne sont imprégnés ni de sel d'argent, ni d'antibiotique, ni d'héparine (anticoagulant).

Tableau 8: Nature des matériaux qui constituent les dispositifs implantables

Cathéter	Matériaux
Cathéter veineux périphérique	Silicone
Cathéter veineux centraux	Polyuréthane

Selon le Comité Technique National des Infections Nosocomiales (1999) les biomatériaux les moins impliqués dans le risque infectieux sur cathéter sont ceux qui sont les moins thrombogènes, les moins hydrophobes et ceux qui favorisent le moins d'adhérence microbienne. La nature des matériaux qui constituent les cathéters utilisés au

niveau des différents services sont la silicone pour les cathéters périphériques et le Polyuréthane pour les cathéters centraux,

Des examens en microscopie électronique ont en effet montré une adhésivité préférentielle des bactéries au niveau des irrégularités de surface des cathéters que celle-ci soit d'origine (matériaux de mauvaise qualité) ou qu'elle soit provoquée par l'effet corrosif de certaines chimiothérapies (Vaudaux et al, 1989).

2. Identifications du genre *Staphylococcus*

Un total de souche a été isolées à partir de 42 prélèvements dont 20 cultures été positives et 22 répondent aux caractéristiques macroscopique et microscopique du genre *staphylococcus*. Le développement bactérien sur le milieu Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (Entérocoques) peuvent y cultiver. Sur ce milieu, les colonies de staphylococcus apparaissent souvent pigmentées et entourés d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleur blanche, Les colonies sont arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre après 48h d'incubation à 37C° (figure12)



Figure 12: Aspect macroscopique des colonies de *S.aureus* sur milieu Chapman

2.1. La coloration de Gram

La coloration de Gram réalisée à partir du milieu de Chapman confirme la présence de cocci à Gram positif en diplocoque et en grappes de raisin (figure 13)

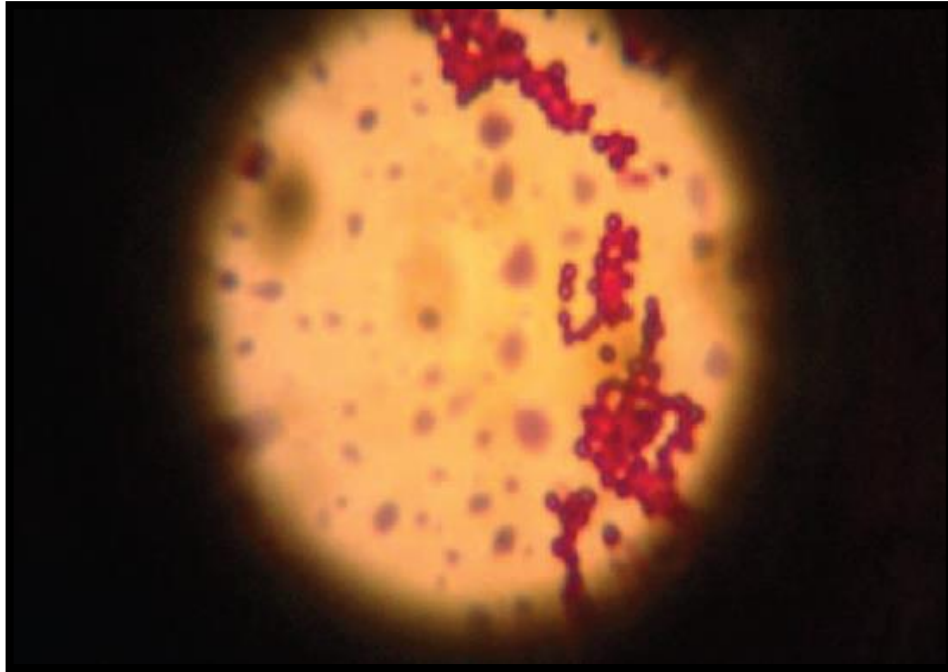


Figure 13 : Aspect microscopique de *Staphylococcus aureus* (1000x)

2.2. Identification biochimique :

2.2.1. Test catalase et coagulase :

Sur 22 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, 20 souches ont été assignées à l'espèce *S.aureus* par la mise en évidence de la catalase qui les différencie des Streptocoques et la coagulase libre qui les distinguent des Staphylocoques à coagulase négative (Figure 14)



(A)



(B)

Figure 14: Mise en évidence de catalase (A) et coagulase (B) libre chez *S.aureus*

Résultats et Discussions

Ce qui représente un taux de 54.54% sur l'ensemble des souches de staphylocoques isolées et 28.57% sur la totalité des prélèvements examinés

Tableau 9: fréquence d'isolement de S.aureus

prélèvements	Culture du genre staphylococcus	Nombre de souche de S.aureus	% de S.aureus par rapport aux prélèvements	% de S.aureus par rapport aux Cultures du genre staphylococcus
42	22	12	28.57%	54.54%

2.3. Identification biochimique par API staph biomérieux

Les galeries API Staph miniaturisées reposant sur des tests enzymatiques (zymogramme) et des tests d'acidification ou d'utilisation des sucres (auxanogramme).

L'identification par ces galeries a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques de *staphylococcus aureus*, notre étude bactériologique nous a permis d'isoler 20 souches à Gram positif, immobile, anaérobies facultatives, possédant une catalase et une coagulase, et donnant des colonies jaunes dorées sur milieu Chapman, de biotypes (6336153,6736153) ce qui a permis de les assigner à l'espèce *Staphylococcus aureus* (Figure 15)

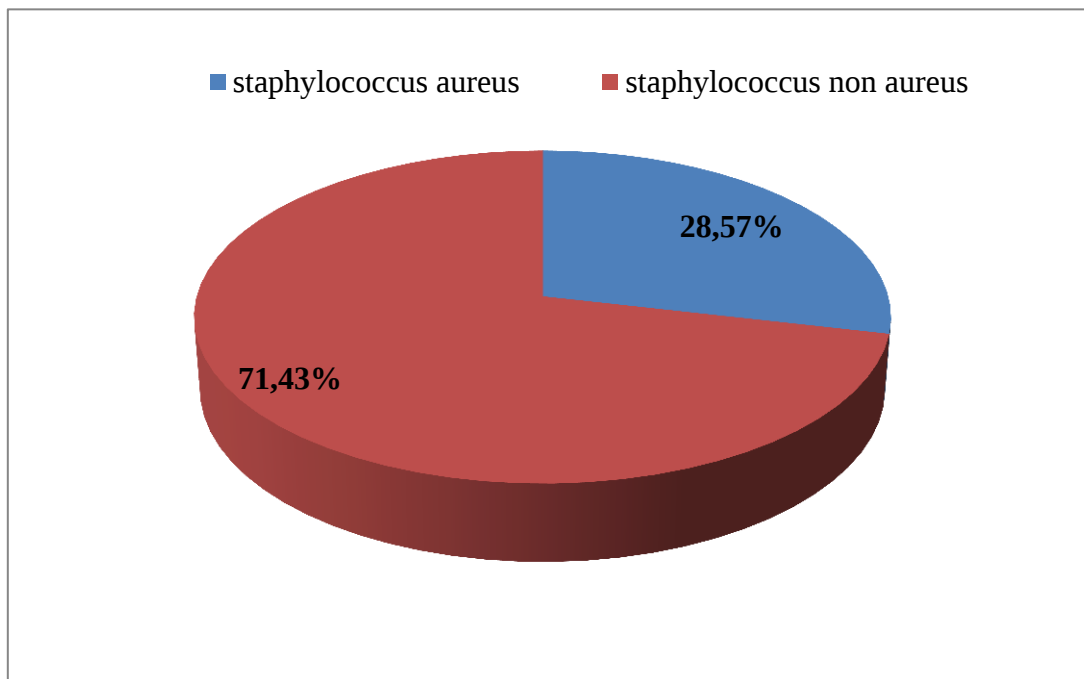


Figure 15: Représentation graphique du nombre des souches de *Staphylococcus aureus*

3. Sensibilité aux antibiotiques

L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des espèces isolées à partir des dispositifs médicaux, aux niveaux des services d'hémodialyse, réanimation, chirurgie générale (femme, homme et pédiatre), traumatologie de l'hôpital Ahmed Medaghri à Saida, s'avère d'une importance primordiale, vu qu'elle oriente le choix des traitements et permet de réduire la pression de sélection exercée par les antibiotiques. Sur 12 espèces identifiées, nous avons effectué des antibiogrammes, Les tests d'évaluation de la résistance aux antibiotiques ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique en gélose à partir de disques d'antibiotiques, on va étudier le taux de sensibilité et de résistance des souches de *staphylococcus aureus* vis-à-vis aux plusieurs antibiotiques on a étudiés seulement les *Staphylococcus* à coagulase positive

Les espèces étudiées de *S. aureus* ont présenté un taux élevé de résistance de l'oxacilline (OX). Pour les glycopeptides (Vancomycine), Gentamycine (G), et l'Erythromycine (E) et le Kanamycine (K). Les souches sont sensibles à ces antibiotiques, et une résistance importante vis-à-vis des ATB appartenant à la famille de β -lactamines

3.1. Les β -lactamines

La résistance à certaines β -lactamines comme la pénicilline ou l'amoxicilline. Selon daurel et Leclercq (2008) (Daurel C & Leclercq R, 2008), la sensibilité des souches de

S.aureus sauvages aux β -lactamines varie selon la molécule, 80 % à 95 % des souches produisent une pénicillinase qui inactive la pénicilline G et l'ampicilline, rendant leurs indications obsolètes dans le cadre d'une infection à *S. aureus*. Une hyperproduction de pénicillinase peut être responsable de l'hydrolyse des pénicillines M, céphalosporines et des carbapénèmes. Les inhibiteurs de pénicillinase restaurent *in vitro* l'activité des β -lactamines sur ces souches (**Bismuth R & Leclercq R, 2000**), certaines souches se sont démarquées par une vitesse et une importante production de β -lactamines.

3.2. La résistance à l'oxacilline

En Afrique, la prévalence des SARM évolue dans les deux sens, elle a été de l'ordre de 36% au Benin en 2006 (**Ahoyo A.T et al, 2006**), avant de diminuer en 2008 enregistrant un taux de 14.5% (**Baba-Moussa L, et al, 2008**).

Alors qu'en Algérie le taux de SARM ne cesse d'augmenter allant de 4.5% en 2002 (**Baba-Moussa L, et al, 2008**), pour atteindre 33.2% en 2004 (**Baba-Moussa L, et al, 2008**), et 45% en 2006 (**Bekkhoucha S N et al, 2009**), les souches de *S. aureus* qui sont résistantes aux pénicillines du groupe M, sont connues par leur habilité à résister à plusieurs autres groupes d'antibiotiques et tout particulièrement aux aminoglycosides, aux cyclines, à l'acide fusidique, aux fluoroquinolones, et même aux glycopeptides [(**Neu HC, 1992**), (**Udo EE et al, 1993**)].

3.3. Les aminosides

Une sensibilité totale des souches a la gentamycine alors que L'analyse des résultats de la résistance à la gentamicine des SARM en Algérie montre que son taux est globalement en progression : il était de l'ordre de 7% en 2006 (**Ramdani-Bouguessa Net al, 2006**). Actuellement, il se situe à 34% (**Antri K et al, 2010**), Dans les pays voisins la tendance est également à la hausse, elle était à 16.4% au Maroc (**Ben Jemaa Z et al, 2004**), et a atteint 59% en 2007 [188], pour revenir à 53.84 % en 2009 [181]. En Tunisie la résistance des SARM se stabilise autour de 18% [(**Ben Jemaa Z et al, 2004**), (**Saidani Met al, 2006**), (**Mastouri M**)].

3.4. Les macrolides

Clindamycine

La clindamycine a été pondéralement active sur les souches testées. En effet, cette molécule est dotée de propriétés anti staphylococciques intéressantes.

Erythromycine

Les résultats montrent que la résistance à la Clindamycine a été souvent associée à celle de l'érythromycine ce qui nous incite à penser au même mécanisme de résistance se qui confère la résistance aux Macrolides.

3.5. La vancomycine

Une résistance totale à cet antibiotique, La vancomycine représente toujours actuellement l'un des traitements les plus probants face aux infections à *S. aureus* résistant à la méticilline, mais cette utilisation systématique a conduit à l'émergence de souches *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA) évoquant une crainte de développer un aspect épidémique. L'antibiogramme a révélé que trois souches se sont distinguées par leur résistance à la vancomycine.

Tableau 10: Les différents résultats de l'étude de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus*

	VA	E	CL N	GE N	S	SP	OX	K	TOB	CTX	L
Souche 1 de référence	15mm	20	15	18	17	R	R	R	R	-	-
souche 2	18	18	R	R	R	R	R	19	R	R	R
Souche 3	19	18	R	29	14	R	15	R	R	R	R
Souche 4	20	18	R	25	15	R	14	R	R	R	R
Souche 5	17	27	12	29	12	R	7	9	5	8	11
Souche 6	18	26	13	25	R	18	15	13	8	5	9
Souche 7	15	22	9	14	9	13	10	17	12	5	7
Souche 8	20	15	4	5	7	11	24	10	24	8	7
Souche 9	20	6	8	25	11	23	14	20	12	10	12
Souche10	20	33	8	25	7	15	12	16	14	14	11
Souche11	20	30	11	19	13	20	9	14	15	11	16
Souche12	14	26	16	17	7	21	13	15	14	13	22

S : sensible, R : résistante.

3.6. Evolution de la résistance de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

Staphylococcus aureus a développé différents types de résistances aux antistaphylococciques, plus de 80% des souches produisent une pénicillinase. L'oxacilline reste active contre ces souches, mais des staphylocoques hospitaliers et plus récemment communautaires ont développé une résistance croisée entre l'oxacilline et les autres bêta-lactamines par production d'une protéine liant les pénicillines (PLP) de faible affinité, la PLP 2a. Cette dernière résistance est plus facilement décelée par le test de la céfoxitine (Mansouri et al, 1997).

Trois enzymes sont responsables de l'inactivation des aminosides, chacune conférant un spectre spécifique de résistance. Les glycopeptides, vancomycine et teicoplanine sont des alternatives à l'oxacilline en cas de résistance ou d'intolérance (Revue Francophone des laboratoires, 2008).

La résistance aux macrolides est surtout liée à la production de méthylase qui modifie le ribosome cible de ces ATB. Deux phénotypes inductibles et constitutifs sont distingués par la méthode de diffusion en gélose (Revue Francophone des laboratoires, 2008).

La résistance aux Quinolones est liée à des mutations de la cible de ces ATB, les topoisomérases. De nouveaux anti staphylococciques ont été récemment commercialisés le linézolide, la daptomycine et la tigécycline. Des résistances encore rares sont déjà rapportées (Mansouri et al, 1997).

Actuellement, la résistance à la méthicilline est associée dans environ 90% des cas de SARM hospitaliers à la résistance aux aminosides kanamycine, tobramycine. En revanche, les SARM communautaires sont résistants aux ATB, et même à la méthicilline et à la kanamycine, à l'aide de fusidique et souvent aux tétracyclines (Revue Francophone des laboratoires, 2008).

Tableau 11: Évolution de la résistance à la méthicilline de *S. aureus* (Lepelletier, 2004)

Année		référence
1959	Introduction de la méthicilline	80% résistance pénicilline
1961	1 ^{ère} souche de SARM	UK (United Kingdom)
1968	Diffusion épidémique Limitée à 2 à 6 %	Europe, Australie, Inde 1 ^{ère} épidémie USA
1970-1980	20 à 40 %	France
1997	1 ^{ère} souche VISA	Japon
1990-2000	Apparition SARM communautaires	Augmentation
2002	1 ^{ère} souche VISA	USA
1990-2003	Prévalence des SARM 30 à 50 %	Stabilisation en Europe

Une souche est dite « résistante à la méthicilline » lorsqu'elle présente une résistance aux pénicillines du groupe M et par extension à toutes les β -lactamines. Elle se définit par une concentration minimale inhibitrice supérieure à 2 mg/l pour l'oxacilline, la pénicilline M de référence (**Forestier et al, 2007**). Les isolats de SARM sont le plus souvent résistants à d'autres classes d'antibiotiques (**Speller et al, 1989**), ils sont considérés comme des bactéries multi résistantes, et la résistance à la méthicilline est depuis lors utilisée comme marqueur de multi résistance (**Grohs, 2008**).

Les antibiotiques appartenant à la classe des β -lactamines s'attaquent à des enzymes appelés PBPs (penicillin binding proteins), qui sont ancrés à la surface bactérienne et qui participent à la biosynthèse du peptidoglycane (**Enright et al, 2000**).

3.7. Épidémiologie des SARM

Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) représente un défi majeur en santé publique dans de nombreux établissements de soins à travers le monde. Les SARM sont une cause fréquente d'épidémies par transmission inter-humaine et sont devenus endémiques dans beaucoup de régions où ils alourdissent le bilan de la morbidité, de la mortalité et le coût des soins associés aux infections nosocomiales. Les données rapportées par le système européen de surveillance de la résistance antimicrobienne (**EARSS, European Antimicrobial Resistance Surveillance System**),

mis en place récemment, suggèrent que la résistance des isolats de *S. aureus* à la méthicilline est plus fréquente dans les pays du sud de l'Europe que dans ceux du nord (**Mylotte et al, 1987**).

Deux rapports de surveillance nationaux montrent que le taux de *S. aureus* résistants à la méthicilline a augmenté au cours des dix dernières années (**Wagenvoort et al, 1999**).

Même dans les pays où l'incidence des SARM est faible, comme aux Pays-Bas, les hôpitaux de long et moyen séjours peuvent devenir un réservoir pour les SARM et par là même favoriser la diffusion dans la population, comme cela a été rapporté au Royaume-Uni et aux Etats-Unis (**Rubin et al, 1999**).

En Allemagne, la surveillance par typage moléculaire indique que de nouveaux clones épidémiques de SARM qui, paradoxalement, sont résistants à un nombre moindre de classes d'antibiotiques que les clones endémiques précédents, se diffusent dans un plus grand nombre d'hôpitaux. De même, une diffusion de souches sensibles à la gentamicine a été rapportée en Belgique et en France, en dépit d'une légère baisse de l'incidence des SARM à la suite de la mise en place de mesures de contrôle au milieu des années quatre-vingt dix (**Monnet, 2000**).

Les populations de SARM évoluent donc rapidement, se diffusant d'une région à l'autre. L'émergence d'un niveau élevé de résistance à la mupirocine (un médicament à usage local efficace pour limiter la colonisation des sujets porteurs) et d'une sensibilité diminuée aux glycopeptides (utilisés comme traitement d'attaque dans les infections à SARM) est inquiétante. Ces types de résistance ont récemment fait l'objet d'articles dans plusieurs pays dont la France, le Royaume-Uni et la Belgique, et risquent d'être sous-reconnues du fait du manque de sensibilité des méthodes de détection utilisées en laboratoire (**Maziade, 2006**).

Ces tendances soulignent la nécessité d'améliorer et d'harmoniser les méthodes de détection de résistance aux antibiotiques, les programmes de surveillance et les politiques de contrôle dans le cadre d'un plan d'action européen plus large. La position de Jim Wagenvoort en faveur d'une stratégie de recherche et de destruction des SARM devrait être applaudie, car cette approche a permis de tenir les SARM en échec aux Pays-Bas (**Wagenvoort et al, 1996**).

Résultats et Discussions

Les méthodes de confinement donnent également des résultats encourageants dans des établissements où les SARM sévissent à l'état endémique. Les mesures de maîtrise ne doivent pas se limiter aux seuls SARM. Elles doivent également répondre à des défis plus larges comme le bon usage des antibiotiques, le respect par l'ensemble des personnels soignants des précautions standard pour la prévention des infections, et le développement d'approches innovatrices **(Wagenvoort et al, 1996)**.

Les données épidémiologiques sur les SARM en Afrique sont rares. La prédominance des SARM a été déterminée dans huit pays africains entre 1996 et 1997 et a été relativement élevée au Nigeria, au Kenya et au Cameroun (21 à 30%) et inférieure à 10% en Tunisie et en Algérie **(Kesah et al, 2003)**.

En Algérie, le taux a augmenté à 14% en 2001 **(Ramdani et al, 2001)**.

Les hôpitaux Algériens ont prouvé une augmentation dramatique de SARM prédominantes de ces dernières années **(Bekkhoucha et al, 2008)**

Conclusion

Conclusion

Notre étude a montré une prévalence importante de SARM et de GISA au niveau des différents services d'hôpital Ahmed Medaghri de Saida (Algérie). Ces souches qui sont souvent associées à des complications assez graves. Expriment une multirésistance qui touche plusieurs molécules allant des β -lactamines, des aminosides et atteignant même la vancomycine. Ces résistances sont souvent de haut niveau au vue des CMI enregistrées. Ces souches qui pourraient être les premières isolées en Algérie se caractérisent par différentes CMI.

Cette situation semble être le reflet d'une utilisation irrationnelle d'antibiotiques et l'absence d'une politique nationale bien définie. A l'origine de la diffusion de ces souches, le transfert horizontale via le personnel soignant ou à travers différents supports contaminés. Ces souches ont complété leur patrimoine génétique soit par mutations ou par acquisition de nouvelles structures (plasmides), ce qui leur a permis d'accumuler les mécanismes de résistance.

L'utilisation d'association d'antibiotiques telle que la vancomycine combinée à la gentamicine pourrait être un réflex bénéfique contre les souches de sensibilité diminuée à la vancomycine. Les infections causées par les GRSA ne sont pas une fatalité, car elles sont en partie évitables par des mesures de préventions permettant d'inhiber la dissémination des SARM, d'explorer et de surveiller l'évolution de cette résistance. Le relevé de ces infections et l'analyse des données épidémiologiques devraient être à la base de toute action de lutte et de prévention en assurant une meilleure efficacité. Cette efficacité est largement tributaire de la sensibilisation de l'ensemble des acteurs en milieu hospitalier aux risques et aux conséquences de l'infection nosocomiale.

La prévention de ces infections passe impérativement par le respect de certaines mesures :

- Une Prise de conscience de l'autorité sanitaire ainsi que le personnel soignant du risque généré par ces résistances.
- Une utilisation rationnelle des antibiotiques basée sur une lecture interprétative de l'antibiogramme dans des conditions critiques, le choix thérapeutique devrait être fondée sur des données de sensibilité spécifique à chaque service.
- L'instauration d'une politique stratégique et efficace pour l'amélioration des conditions d'hygiène, il s'agit de l'implications de tous les acteurs de la santé :

Conclusion

décideurs, médecins, microbiologistes, personnels soignants, hygiénistes, pour assurer une formation et une sensibilisation. Ce sont autant d'éléments qui doivent inciter les épidémiologistes et les gestionnaires à accorder une place de choix dans leurs préoccupations à la lutte et à la prévention des infections nosocomiales et à oeuvrer ensemble et en concertation à la mise en place de programmes de prévention et à leur évaluation périodique.

- Promouvoir la recherche en matière de caractérisation de la résistance. Concernant les SARM, créer une base d'enregistrement de données qui permettra de suivre la circulation des différents clones.
- Des précautions rigoureuses doivent être entreprises en vue de réduire les risques de transmission de ces microorganismes, elles doivent être appliquées à l'ensemble des patients. Quel que soit le statut infectieux, et lors de tous risque de contact avec n'importe quel produit biologique, mais également lors de contact avec une peau lésée, des muqueuses du patient ou toutes surfaces inanimées. Il est également impératif de procéder à un isolement systématique des patients à risque dès l'entrée dans un service.
- Le lavage des mains demeure la première ligne de défense. Ce geste doit être aussi efficace que redondant moyennant des solutions hydro-alcooliques avant et après chaque soin sur un même patient, ce qui pourrait limiter les infections nosocomiales.

En perspectives de ce travail, il serait intéressant de pouvoir approfondir l'aspect génétique de cette résistance tout en explorant les mécanismes intervenant dans la régulation.

Références bibliographiques

1. Ahoyo AT.,Baba Moussa L.,Makoutode M ., Gbohoun A.,BossouR.,Dramane K.,Sanni A .,Prevost G.(2006) -incidence de staphylococcus aureus résistant à la miticilline dans le service de neonatologie du centre hospitalier departement de Zou et des Collines au Benin.Archive de pediatrie,Vol 13, pp.1391-1396.
2. Aires de Sousa M., Santod Sanches I., Ferro M., Vaz M., Saraiva Z. and Tendeiro T. et al. (1998). Intercontinental spread of a multidrug resistant methicillin-resistant Staphylococcus aureus clone. J. Clin. Microbiol. 36: 2590–2596.
3. Aly R. and Levit S. (1987). Adherence of S. aureus to squamous epithelium: role of fibronectin and teichoic acid. Rev Infect Dis. 9 (suppl 4): 341-S350.
4. Antri K, Rouzic N, Boubekri I, Dauwalder O, Beloufa A, Ziane H. High prevalence of community and hospital acquired infections of methicillin-resistant Staphylococcus aureus containing Panton-Valentine leukocidin gene in Algiers. Pathologie Biologie 2010 ; 58: e15–e20.
5. Appelbaum PC. Microbiology of Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus. Clinical Infectious Diseases 2006; 45:S165–7
6. Appelbaum PC. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). International Journal of Antimicrobial Agents 2007; 30: 398–408.
7. Archer GL, Bosilevac JM. Signaling antibiotic resistance in staphylococci. Science (2001) 291: 1915-1916.
8. Avril J.L., Dabernat H., Denis F. and Monteil H. (2003). Bactériologie clinique. 3ème édition. ellipses, Paris. 8-28.
9. Ayliffe G. (1997). The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clin. Infect. Dis. (suppl 1): S74–S79.
10. Baba T., Takeuchi F. and Kuroda M. et al. (2002). Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. Lancet. 359: 1819-1827.
11. Baba-Moussa L, Anani L, Scheftel JM, Couturier M, Riegel P, Haïkou N, et al. Virulence factors produced by strains of Staphylococcus aureus isolated from urinary tract infections. J Hosp Infect 2008; 68:32–8.
12. Baggett HC, Hennessy TW, Rudolph K, et al. Community-onset methicillin-resistant Staphylococcus aureus associated with antibiotic use and the cytotoxin Panton- Valentine leukocidin during a furunculosis outbreak in rural Alaska. J Infect Dis 2004;189:1565-1573.

13. Becker K., Friedrich A.W. and Lubritz G. et al. (2003). Prevalence of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens. *J Clin Microbiol.* 41: 1434-1439.
14. Bekkhoucha .SN ,Cady.A ,Gautier P ,Itim F ,Donnio PY . A prtrait of *Staphylococcus aureus* from the other side of the Mediterranean Sea :molecular characteristics of isolates from Western Algeria *Eur JClin Microbiol Infect Dis* Doi 10. 2008;1007//s 10096-008-0660-x
15. Bekkhoucha S N, Cady A, Gautier P, Itim F, Donnio PY. A portrait of *Staphylococcusaureus* from the other side of the Mediterranean sea: molecular characteristics of isolates from Western Algeria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28:553–5.
16. Bemer-Melchior. P, Drugeon. H.B. Choix de la concentration en NaCl pour optimizer la detection de la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus* par la méthode de diffusion en gélose. *Pathol Biol* 2001; 49 : 216-21.
17. Ben Jemaa Z, Mahdjoubi F, Ben Hadj H'mida Y, Hammami N, Ben Ayed M, Hammami A. Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la region de Sfax (1993-1998). *Path Biol* 2004 ; 52 :82-88.
18. Berger-Bachi B. Expression of resistance to methicillin. *Trends Microbiol* (1994) 2: 389-393
19. Bismuth .R, Leclercq R. *Staphylococcus aureus* et antibiotiques, in *Précis de Bactériologie clinique*. Ed ESKA 2000 ; P 611-616.
20. Bismuth R, Leclercq R. *Staphylococcus aureus* et antibiotiques. In: *Précis de bactériologie clinique* (ed. Freyney J RF, Hansen W, Bollet C), (2000) ESKA, Paris: 611-918.
21. Bootsma M.C., Dieckmann O. and Bonten M.J. (2006). Controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: quantifying the effects of interventions and rapid diagnostic testing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103: 5620–5625.
22. Borrel T. L'homme et son environnement: les infections nosocomiales. *Génie-Biologie*. 2000, 1ère édition. 3.
23. Botterel F, Faibis F, Chevalier C, Deliss C, Fiacre A, Dubois A. Intérêts et limites de la
24. Boyle–Vavra S, Labischinski H, Ehlert K, Daurn R. A spectrum of changes occurs

inpeptidoglycan composition of glycopeptide intermediate clinical *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents chemoter* 2001; 45:280-287

25. Brachman PS et al. Nosocomial surgical infections: incidence and cost. *Surg Clin North Am*, 1980, 60:15–25.

26. Breche P., Gaillard J. and Simonet M. (1988). Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie“ Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 267-277.

27. Bronner S., Monteil H. and Prevost G. (2004). Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev*. 28: 183

28. Buckingham SC, McDougal LK, Cathey LD, et al. Emergence of community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee

29. Butrau-Lemaire M, Botto H. Nosocomial urinary infections. *Prog Urol* 1997; 7(4): 674-82

30. CA SFM. (2009). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

31. CASFM (2010). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

32. Centers for disease control and prevention. (2001). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin or soft tissue infections in a state prison-Mississippi, 2000. *Morb. Mortal. Wkly. Rep*. 50: 919–922.

33. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1997;10: 781–91.

34. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med* (2003) 348: 1342-1347.

35. Children's Hospital. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:619-624.

36. Collignon P, Gorbett I, Vickery A, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Australia. *Lancet* 1998;352:146-147.

37. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2000-2001. Soussy CJ et al. Société Française de Microbiologie, novembre 2000

38. Comité technique des infections nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. Paris: CTIN; 1999. Communiqué 2010.

39. Cooper B.S., Medley G.F. and Stone S.P. et al. (2004). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals and the community: stealth dynamics and control

catastrophes. Proc Natl Acad Sci U S A. 103: 5620–5625.

40. Cosgrove M, Carroll K, Perl T. Staphylococcus aureus with Reduced Susceptibility to Vancomycin. Clinical Infectio Disease 2004; 39:539–45

41. Cosseron-Zerbib M, Roque Afonso AM, Naas T, et al. A control program for MRSA(methicillin-resistant Staphylococcus aureus) containment in a paediatric intensive care unit: evaluation and impact on infections caused by other micro-organisms. JHosp Infect 1998;40:225-235.

42. Couture B. (1990). Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15-32.

43. Cox RA, Conquest C, Mallaghan C, et al. A major outbreak of methicillin-resistant Staphylococcus aureus caused by a new phage type (EMRSA-16). J Hosp Infect 1995;29:87-106.

44. Cruse PJE, Ford R. The epidemiology of wound infection. A 10 year prospective study of 62,939 wounds. Surg Clin North Am, 1980, 60:27–40.

45. Cui L, Murakami H, Kuwahara-Arai K, Hanaki H, Hiramatsu K. Contribution of a thickened cell wall and its gultamine nonamidated component to the vancomycin resistance expressed by Staphylococcus aureus Mu50. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2276–285.

46. Danchaivijitr S, Tangtrakool T, Chokloikaew S. The second Thai national prevalence study on nosocomial infections 1992. J Med Assoc Thai, 1995, 78 Suppl 2:S67–S72

47. Daurel C, Leclercq R. l'antibiogramme de Staphylococcus aureus. Revue francophone des laboratoires ; 2008, N°407 : 81-90.

48. De Lencastre H., Severina E., Milch H., Konkoly T. and Tomasz A. (1997).Wide geographic distribution of a unique methicillin-resistant Staphylococcus aureus clone in Hungarian hospitals. Clin. Microbiol. Infect. 3: 289–296.

49. Denes E, Mounier M, Denis F, Ploy MC. Clinical features of patients with VISA strain. 41st Interscience Conference Abstract on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, Il, 2001. Abstract K-1229

50. Descloux E., Mohammedi I., Gilleta Y., François B., Etienne J. Pneumonie nécrosante à Staphylococcus aureus communautaire résistant à la méticilline et producteur de leucocidine de Panton-Valentine chez un adulte. Réanimation 2007 ; 16 : 256–258.

51. Dia N.M, Ka R, Dieng C, Diagne R, Dia M.L, Fortes L. Résultats de l'enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHNU de Fann (Dakar, Sénégal). Med Mal inf

2008 ; 38 :270-274

52. Dos Santos KRN, Fonseca LS, Filho PPG. Emergence of high-level mupirocine resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Brazilian university hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17:813-816.

53. Drancourt M, Adekambi T. L'eau en établissement de soins : les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Commission Européenne 2004 ; 4-38.

54. Drancourt M, Adekambi T. L'eau en établissement de soins : les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Commission Européenne 2004 ; 4-38.

55. Drugeon Henri B. La colonisation par SARM : Un effet secondaire de l'utilisation des antibiotiques, Source : M/S. Médecine. Science. 2008 ; vol. 24 ; no HS3 : 18 - 23.

56. Dufour P., Gillet Y. and Bes M. et al. (2002). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis.* 35: 819-824.

57. Eady E.J. and Cove E. (2003). *Staphylococcal resistance revisited community acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections.* *Curr. Opin. Infect. Dis.* 16: 103–124.

58. EL Kouri D., Pottier M.A., Trewick D., Le Gallou F., Baron D., and Potel G. (1998). Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl Méd Chir*, (Elsevier, Paris), Maladies Infectieuses, 8-007-A-10,8p.

59. EL Kouri D., Pottier M.A., Trewick D., Le Gallou F., Baron D., and Potel G. (1998). Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl Méd Chir*, (Elsevier, Paris), Maladies Infectieuses, 8-007-A-10,8p.

60. Ellenberg E. Analyse terminologique des définitions données à l'infection nosocomiale et proposition d'une définition. *La revue de médecine interne* 2005; 26 : 572–577.

61. Elouennass M, Sahnoun I, Zrara A, Bajjou T, Elhamzaoui S. Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002–2005). *Méd Mal Inf* 2008 ; 38 : 18–24.

62. Emmerson AM et al. The second national prevalence survey of infection in hospitals — overview of the results. *J Hosp Infect*, 1996, 32:175–190. 2010.

63. Emmerson AM et al. The second national prevalence survey of infection in hospitals — overview of the results. *J Hosp Infect*, 1996, 32:175–190.

64. Enquete nationale de prevalence des infections nosocomiales. Mai–Juin 1996. Comite

technique national des infections nosocomiales. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, 1997, No 36.

65. Eykin SJ. (1996). Staphylococci. In: DJ Weatherall. JG Ledingham eds. Oxford text book of medicine. Oxford medical publications. 533-542.

66. Eyquem A., Alouf J. and Montagnier L. (1998). Traité de Microbiologie clinique «Staphylocoques» Nevine EL SOLH. PICCIN NUOVA, Italie. 567-591.

67. Fabry J et al. Cost of nosocomial infections: analysis of 512 digestive surgery patients. World J Surg, 1982, 6:362–365.

68. Fasquelle R. (1974). Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36.

69. Fasquelle R. and Barbier P. (1951). Ann. Inst. Pasteur., 80, 127. Fasquelle R. (1974). Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36.

70. Fauchere J.L. and Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. ellipses, Paris. 213-217

71. Ferron A. (1984). Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12ème édition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94.

72. Fitzgerald J.R., Sturdevant D.E., Mackie S.M., Gill S.R. and Musser J.M. (2001). Evolution arygenomics of Staphylococcus aureus: insights into the origin of methicillin-resistant strains and the toxic shock syndrome epidemic. Proc Natl Acad Sci U S A. 98: 8821-8826.

73. Forestier E, Rémy V, Mohsen, Zadeha M , Lesens O , Jaulhac B, Christmann D; Hansmanna Y. La Revue de medicine interne.2007 ; 28 :746 -55

74. Forestier E., Rémy, V., Mohseni-Zadeh, M., Lesens, O., Jaulhac B., Christmann D. Staphylococcus aureus résistant à la méticilline : aspects épidémiologiques et thérapeutiques récents. Rev Med Interne 2006; 11:014.

75. Forfar J.O., Gould J.C. and Maccabe A.F. (1968). Effect of hexachlorophene on incidence of staphylococcal and gram negative infection in the new born. Lancet. 2: 177-179.

76. Francis JS, Doherty MC, Lopatin U. Severe community-onset pneumonia in healthyadults caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying the Pantón-Valentine leukocidin gene. Clin Infect Dis 2005;40:100-107.

77. Garbacz K., Piechowicz L., Wiśniewska K. and Galiński J. (2001). Charakterystyka defektywnych szczepów MRSA nie wytwarzających koagulazy lub czynnika zlepnego. Med.

Dosw. Mikrobiol. 53: 311–319.

78. Garner JS et al. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. Am J Infect Control, 1988, 16:128–140.

79. Garnier F., Chainier D., Walsh T., Karlsson A., Blomström A., Grelaud C., Mounier M., Denis F. and Ploy M.C. (2006). Surveillance des souches de *Staphylococcus aureus* de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides pendant 1 an dans un hôpital Français. J Antimicrob Chemother. 57: 146-149.

80. Garrity G.M., Johnson K.L., Bell J. and Searles D.B. (2002). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, second ed. Springer-verlag, New York.

81. Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. and Tindall B.J. Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 March 6, 2007” Part 9- the Bacteria: Phylum” Firmicutes”: Class “Bacilli”.

82. Gastmeier P et al. Prevalence of nosocomial infections in representative German hospitals. J Hosp Infect, 1998, 38:37–49.

83. Gaudy, C et Buxeraud, J. Antibiotiques pharmacologie et thérapeutiques, Elsevier SAS, 2005 ; P.21-22.

84. Gayvallet-Montredon N, Sauvestre C, Bergeret M, Gendrel D, Raymond J. Bactériémies

85. Ghuysen JM. Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. Trends Microbiol (1994) 2: 372-380.

86. Gikas A et al. Repeated multi-centre prevalence surveys of hospital-acquired infection in Greek hospitals. J Hosp Infect, 1999, 41:11–18.

87. Girard R. Guide technique d'hygiène hospitalière. Alger, Institut de la Santé publique et Lyon, Fondation Marcel Merieux, 1990

88. Gould I.M. (2005). The clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect. 61: 277–282.

89. Gram H. (1884). Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt-und Trockenpräparaten. Fortschritte der Medizin 2.

90. Grohs P. Evolution de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux Antibiotiques : la méthicilline est -elle encore un marqueur de multiresistance, Pathologie Biologie.2008 ;05 :10

91. Grohs P. Évolution de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques : méticilline est-elle encore un marqueur de multirésistance ? Pathologie Biologie 2009 ; 57 :

1–8.

92. Groom A.V., Wolsey D.H., Naimi T.S., Smith K., Johnson S. and Boxrud D. (2001). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rural American Indian Community. JAMA. 286: 1201-1205.

93. Grundmann H, Buenos-de-Sousa M, Boyce J, et al. L'émergence et la résurgence du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline comme une menace de santé publique. Lancet .2006; 368:874-85.

94. Gueudet, T., Lemblé C. Détection de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus aureus* : comparaison de cinq techniques utilisables en routine Pathologie Biologie 2004 ; 52 :617–621.

95. Guide de prévention et de contrôle à l'intention des établissements de soins. Mesures de Prévention et de contrôle des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) au Québec, Juin 2006).

96. Hajjar J et al. Réseau ISO Sud-Est: un an de surveillance des infections du site opératoire. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, 1996, No 42.

97. Hamdad, F., Donda, F., Laurans, G., Canarelli, B., Rousseau, F., Biendo, M., Thomas D. Performances des différentes méthodes de détection de la résistance à l'oxacilline de souches atypiques de *Staphylococcus aureus*, Pathologie Biologie 2006 ; 54 : 447–452.

98. Hamza R. Epidémiologie des infections associées aux soins. Revue tunisienne d'infectiologie 2010 ; Vol 4 : 1-4.

99. Hamza R. Epidémiologie des infections associées aux soins. Revue tunisienne d'infectiologie 2010 ; Vol 4 : 1-4.

100. Hanaki H. Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50, Journal of Antimicrobial Chemotherapy 1998; 42: 199.

101. Hardy K.J., Hawkey P.M., Gao F. and Oppenheim B.A. (2004). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. Br J Anesth. 92: 121-130.

102. Harmsen D., Claus H., Witte W, Rothganger J., Turnwald D, Vogel U., Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management, J. Clin. Microbiol. 2003; 41 : 5442-5448.

103. Hartman BJ, Tomasz A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with betalactam resistance in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol (1984) 158: 513-516.

- 104.** Heikkila MP, Saris PE. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J Appl Microbiol* 2003;95:471-478.
- 105.** Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al. Dissemination in Japanese hospital of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997;350:1670-3
- 106.** Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* (2001) 9: 486-493.
- 107.** Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:135-6
- 108.** Hiramatsu K, Ito T, Hanaki H. Evolution of methicillin and glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus* In: Finch RG, Williams RJ, eds. *Bailliere's Clinical Infectious Disease*. London: Bailliere Tindall, 1999: 221–42.
- 109.** Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H, Ito T. Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol* 2002; 292:67–74.
- 110.** Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* : a new model of antibiotic resistance. *The Lancet Infectious Diseases* 2001, 1: 147-155
- 111.** Hiramatsu K., Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, Fukuchi Y, Kobayashi I. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997; 350:1670-1673.
- 112.** Holden M.T., Feil E.J. and Lindsay J.A. et al. (2004). Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains : evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101: 9786-9791.
- 113.** Horan T, Gaynes R, Martone W, Jarvis W, Emori T. Definitions of nosocomial surgical site infections: A modification of CDC definitions of surgical wound infections. 1992. 13 : 8-60
- 114.** Horan TC et al. Nosocomial infections in surgical patients in the United States, 1986–1992 (NNIS). *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1993, 14:73–80.
- 115.** Hougardy, N., Louahabi, A., Goffineta, P. Détection directe et rapide du portage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline par extraction automatisée de l'acide nucléique et PCR en temps réel, *Pathologie Biologie* 2006 ; 54 : 477–481.
- 116.** <http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/medecine/>
- 117.** Interim guidelines for prevention and control of staphylococcal infection associated

with reduced susceptibility to vancomycin. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46:626-628,635

118. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, et al. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:1323–36.

119. Ito T, Katayama Y, Hiramatsu K. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire mec DNA of pre-methicillin-resistant *S. aureus* N3. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43 : 1449– 58.

120. Ito T., Max .X., Takeuchi E, Okuma K, Yuzawa H., Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC, *Antimicrob. Agents Chemether.* 2004; 48 : 2637-2651.

121. Jarraud S, Mouget C., Thioulouse J., Lina G., Meugnier H., Forey E, Nesme X., Etienne J., Vandenesch E, Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease, *Infect. Immun.* 2002; 70 : 631-641.

122. Jarraud S., Lyon G.J. and Figueiredo A.M. et al. (2000). Exfoliatin-producing strains define a fourth agr specificity group in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 182: 6517-6522.

123. Jarraud S., Mougél C. and Thioulouse J. et al. (2002). Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect Immun.* 70: 631-641.

124. Jemili-Ben Jomaa, M., Boutiba-Ben Boubaker, I., Ben Redjeb, S. Identifications des cassettes chromosomiques mec codant pour la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus* isolés à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis, *Pathologie Biologie* 2006; 54 : 453–455.

125. Jevons M. (1961). Celbenin-resistant staphylococci. *BMJ.* 1: 124–125.

126. Ji G., Beavis R. and Novick R.P. (1997). Bacterial interference caused by autoinducing peptide variants. *Science.* 276: 2027-2030.

127. Johnson AP, Uttley AHC, Woodford N, George RC. Resistance to vancomycin and teicoplanin: an emerging clinical problem. *Clin Microbiol Rev* 1990;3:280-91

128. Joly–Guillou M. Le point sur les staphylocoques dorés de moindre sensibilité aux glycopeptides *Réanimation* 2004 ; 13:185-189.

- 129.** Journal of clinical microbiology .2002, vol 40, no 8: 2766 -71
- 130.** Katayama T, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, Staphylococcus Cassette Chromosome mec, encode methicillin resistant in S. aureus. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43:1549–55.
- 131.** Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, Staphylococcus cassette chromosome mec encodes methicillin resistance in Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:1549-1555.
- 132.** Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother (2000) 44: 1549-1555. 200.
- 133.** Katayama, Y., Zhang, H., Hong, D., Chambers, H. Jumping the barrier to b-lactam resistance in Staphylococcus aureus. J Bacteriol 2003;185 : 5465–72.
- 134.** Kesah C , Ben Redjeb S ,Odugbemi TO , Boye CS ,Dosso M , Ndinya Achola JO , KoullaShiro S , Benbachir M , Rahal K and M Borg. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in eight African hospitals and Malta.clin.Microbial.Infect.2003; 9:153- 56
- 135.** Kesah C., Ben Redjeb S., Odugbemi T. O., Boye C. S.B., Dosso M., Ndinya Achola J. O, et al. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in eight African hospitals and Malta. Clin Microbiol Infect 2003; 9: 153–156.
- 136.** Khatib M, Jamaledine G, Abdallah A, et al. Hand washing and use of gloves while managing patients receiving mechanical ventilation in the ICU. Chest 1999;27:309-314.
- 137.** Kim JM et al. Multicentre surveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea. Am J Infect Control, 2000, 28:454–458.
- 138.** Kirkland KB et al. The impact of surgical-site infections in the 1990's: attributable mortality, excess length of hospitalization and extra costs. Infect Control Hosp Epidemiol, 1999, 20:725–730.
- 139.** Kirmani N., Tuazon C.U., Murray H.W., Parrish A.E. and Sheagaren J.N. (1978). Staphylococcus aureus carriage rate of patients receiving long term hemodialysis. Arch Intern Med. 138: 1657-1659.
- 140.** Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H, Kobayashi I, et al. Whole genome sequencing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Lancet 2001; 357:1225–40.
- 141.** Labischinski H. Consequences of the interaction of beta-lactam antibiotics with

penicillin binding proteins from sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Med Microbiol Immunol (Berl)* (1992) 181: 241-265.

142. Lanark Shire , NHS Board . 2008

143. Le Minor L. and Veron M. (1990). *Bactériologie Médicale «Staphylococcus et Micrococcus»* J.Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773-794.

144. Leclercq R. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. *Ann Fr Anesth Réanim* 2002 ; 21 : 375-83.

145. Lindsay J.A and Holden M.T. (2004). *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome. *Trends Microbiol.* 12: 378-385.

146. Louis AuquierGuy De Thé David Challoner. *Confronting infections, antibiotic resistance and bioterrorism around the world.* Elsevier : 212.

147. Lowy F. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med.* 339: 520–532.

148. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* (2003): 1265-1273.

149. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med.* 1998;339:520-32
Lucet,J. Les mesures d'isolement en reanimation:Pour. *Réan Urg.*2000 ;9 :70-4 M

150. Lucet J-C, Astagnau P. Transmission des infections nosocomiales. Principes et prévention. In : Brucker G. infections nosocomiale et environnement hospitalier. Edition Médecine-Sciences. Flammarion, 1998: 6-10.

151. Madan AK, Raafat A, Hunt JP, et al. Barrier precautions in trauma: is knowledge enough? *J Trauma* 2002;52:540-543.

152. Mainardi JL, Shlaes DM, Goering RV, et al. Decreased teicoplanin susceptibility of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1995;171:1646-50

153. Mansouri S, M Khaleghi. Profil de résistance antibactérienne et la fréquence des *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. *Iran J Med* .1997; 22:93.

154. Martres P., Thibault M. and Lemann F. (2003). Surveillance des bactéries multirésistantes : diminution significative du taux et de l'incidence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) dans un centre hospitalier général entre 1999-2001. *Pathol. Biol.* 51: pp. 474–478.

155. Mastouri M, Nour M, Ben Nejma M, Bouallegue O. et al. Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Pathologie Biologie* ; 54 : 33–36.

- 156.** Mayon-White R et al. An international survey of the prevalence of hospital-acquired infection. *J Hosp Infect*, 1988, 11 (suppl A):43–48.
- 157.** Mayon-White R et al. An international survey of the prevalence of hospital-acquired infection. *J Hosp Infect*, 1988, 11 (suppl A):43–48.
- 158.** Maziade P.J. Réduction des infections au SARM par un projet systématique de lavage des mains des patients du Centre Hospitalier Pierre Le Gardeur. *Mesures de Performances en Santé* 2ème édition ;2006 :19-20.
- 159.** Merrer J, Santoli F, Appere-De-Vecchi C, et al. « Colonization pressure » and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000;21:718-723.
- 160.** Mesures de prévention et de contrôle des infections à *staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, 2006, vol 12, numéro 5 ISSN 2-893-42-027-7).
- 161.** Montesinos I., Saldo E., Delgado T., Cuervo T. and Sierra A. (2002). Epidemiology genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by Pulsed-Field Gel Electrophoresis at a University Hospital and Comparison with Antibiotyping and Protein A and Coagulase Gene Polymorphisms. *J Clin Microbiol.* 40: 2119-25.
- 162.** Muller A, M Thouverez, Talon D, Bertrand X. Contribution de la pression de sélection antibiotique dans l'acquisition de *staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) dans un centre hospitalier universitaire . *Pathologie Biologie* .2003 ; 51 :454
- 163.** Mylotte JM, McDermott C, Spooner JA. Prospective study of 114 consecutive episodes of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Rev Infect Dis* .1987; 9: 891-907
- 164.** Naimi T., LeDell K., Boxrud D., Groom A., Steward C. and Johnson S. et al. (2001). Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota, 1996-1998. *Clin. infect. Dis.* 33: 990–996.
- 165.** Naimi T., LeDell K., Como-Sabetti K., Borchardt S., Boxrud D. and Etienne J. et al. (2003). Comparison of community-and healthy care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*. 290: 2976–2984.
- 166.** Nauciel C. (2005). *ABREGES connaissances et pratique « Bactériologie médicale »*. 2ème édition. MASSON, Paris. 83-85.
- 167.** Nauciel C; Vilde J-L. *Bactériologie médicale*. (2005). Edition Masson.
- 168.** Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. *Science* 1992; 257: 1064–72.
- 169.** Nimmo G, Schooneveldt J, O’Kane G, et al. Community acquisition of gentamicin-sensitive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Southeast Queensland,

Australia. J Clin Microbiol 2000;38:3926-3931.

170. Nosocomial infections rates for interhospital comparison: limitations and possible solutions — A report from NNIS System. Infect Control Hosp Epidemiol, 1991, 12:609–621. nosocomiales en pédiatrie. Arch pédiatr 2002; 7 :679-84.

171. Ogston A. (1882). Micrococcus poisoning. J Anat. 17: 24-58.

172. Oliveira D.C., Tomasz A., de Lencastre H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of meticillin-resistant Staphylococcus aureus, Lancet Infect. Dis. 2002; 3:180-189.

173. Orrett FA, Brooks PJ, Richardson EG. Nosocomial infections in a rural regional hospital in a developing country: infection rates by site, service, cost, and infection control practices. Infect Control Hosp Epidemiol, 1998, 19:136–140.

174. Pasteur L. (1877). A propos de deux maladies soignées à l'hôpital Saint-Louis pour, pustule maligne.

175. Pierard D, Vandenbussche H, Verschraegen I, Lauwers S. screening for Staphylococcus aureus with a reduced susceptibility to vancomycin in: a Belgian hospital. Pathol.Biol 2004; 52:486-488.

176. Pittet D et al. Prevalence and risk factors for nosocomial infections in four university hospitals in Switzerland. Infect Control Hosp Epidemiol, 1999, 20:37–42.

177. Pittet D, Sax H. Alerte rouge: staphylocoques dorés de sensibilité diminuée à la vancomycine. Genève. Juin 2000. Vol 7. N°2.

178. Ploy MC, Grelaud C, Martin C et al. First clinical isolate of vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus in a French hospital. Lancet 1998;351:1212

179. Prabhakar P et al. Nosocomial surgical infections: incidence and cost in a developing country. Am J Infect Control, 1983, 11:51–56.

180. Prescott L.M, Harley J.P, Klein D. Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université

181. Queen's Printer and Controller of HMSO 2008

182. Quenon JL, Eveillard M, Vivien A, et al. Evaluation of current practices in surgical antimicrobial prophylaxis in primary total hip prosthesis- a multicentre survey in private and public French hospitals. J Hosp Infect 2004;56:202-207.

183. Quincampoix JC, Mainardi JL. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Réanimation (2001) 10 : 267-275.

184. Quincampoix, J C et Mainardi J L. Mécanismes de résistance des cocci à Gram

positif. Réanimation 2001; 10 : 267-75.

185. Ramdani-Bouguessa N, Bes M, Meugnier H, et al. La détection de souches résistant à la méthicilline *Staphylococcus aureus* résistantes à plusieurs antibiotiques et l'exercice de Panton-Valentine leucocidine de gènes dans un hôpital d'Alger. *Antimicrob Agents Chemother* . 2006; 50: 1083-5.

186. Raymond J, Aujard Y, European Study Group. Nosocomial Infections in Pediatric Patients: A European, Multicenter Prospective Study. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2000, 21:260-263.

187. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance: recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1995;44(RR-12):1-13

188. *Revue Francophone des laboratoires*.2008; vol 38, N° 407 : 81-90

189. Robinson D.A., Enright M.C., Multilocus sequence typing and the evolution of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *Clin. Microbiol Infect* 2004; 10: 92-9.

190. Rosato AE, Kreiswirth BN, Craig WA, et al. *mecA-blaZ* corepressors in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* (2003) 47: 1460-1463.

191. Rosenbach F.J. (1884). *Microorganismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen*, Wiesbaden.

192. Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Green JA, Moiduddin A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. *Emerg Infect Dis* .1999; 5: 9- 17.

193. Saidani M, Boutiba I, Ghazzi R, Kammoun A, Ben Redjeb. Profil bactériologique des bactériémies à germs multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Med Mal Inf* 2006 ; 36 :163- 166.

194. Santos Sanches I., Ramirez M., Troni H., Abecassis M., Padua M. and Tomasz A. et al. (1995). Evidence of the geographic spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone between Portugal and Spain. *J. Clin. Microbiol.* 33: 1243–1246.

195. Scanvic-Hameg A., May-Michelangeli, L., Le Turdu, F. Apport du kit Servitex *Staphylocoque MRSA* dans le diagnostic rapide des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline, *Méd Mal Infect* 2002; 32 : 107-14.

196. Scheel O, Stormark M. National prevalence survey in hospital infections in Norway. *J Hosp Infect*, 1999, 41:331–335.

197. Shlaes D, Gerding D, John J, Craig W, Bornstein D, Duncan R, et al. guidelines for

the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. Clin Infect Dis 1997; 25:584–99

198. Siegel J, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. Am J Infect Control 2007; 35:S165–93.

199. Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. N Engl J Med 1999;340:517-523

200. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, et al. Emergence of vancomycin resistance in staphylococcus aureus. N Engl J Med 1999;340:493-501

201. Smith, T.L, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, et al . Emergence of vancomycine resistance in Staphylococcus aureus. Glycopeptide-Intermediate Staphylococcus aureus Working Group. New Engl. J. Med. 1999; 340 (7): 493–501.

202. Speller DC, Johnson AP, James D, Marples RR, Charlett A, George RC. Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of Staphylococcus aureus from blood and cerebrospinal fluid. England and Wales. Lancet 1989; 350:323-5

203. Spicer W.J. (2003). Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29.

204. Standiford T.J., Arenberg D.A. and Danforth J.M. (1994). Lipoteichoic acid induces secretion of IL-8 from human blood monocytes: a cellular and molecular analysis. Infect Immun. 62: 119-125. surveillance des infections nosocomiales à partir du laboratoire de microbiologie : Expérience du CHG de Meaux. Pathol Biol 2004 ; 52 : 469-473.

205. Tenover FC, Biddle JW, Lancaster MV. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in Staphylococcus aureus. Emerg Infect Dis. 2001;7:327-32.

206. Tomasz A, Nachman S, Leaf H. Stable classes of phenotypic expression in methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. Antimicrob Agents Chemother (1991) 35: 124-129.

207. Tristan A, Durand G, Durupt F, Ferry T, Res M, Reverdy M-E, Meugnier H, Vandenesch F, Etienne J. SARM : Données épidémiologiques récentes et évolution de la résistance. Revue Francophone des Laboratoires, novembre 2005, N ° 376.

208. Tuazon C.U., Perez A., Kishaba T. and Sheagren J.N. (1974). Increased Staphylococcal carrier rate among narcotic addicts. J Infect Dis. 129: 725-727.

209. Tuazon C.U., Perez A., Kishaba T. and Sheagren J.N. (1975). Staphylococcus aureus among insulin-injecting diabetic patients: an increased carrier rate. JAMA. 231: 1272.

210. Udo EE, Grubb WB. Genetic analysis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus

from a Nigerian hospital. *J Med Microbiol* 1993; 38: 203–8.

211. Utsui Y, Yokota T. Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* (1985) 28: 397-403.

212. Valinteliene R, Jurkuvenas V, Jepsen OB. Prevalence of hospital-acquired infection in a Lithuanian hospital. *J Hosp Infect*, 1996, 34:321–329.

213. Vandenesch F., Naimi T., Enright MC., Lina G., Nimmo GR. and Heffernan H., et al. (2003). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Pantone Valentine leukocidin genes: World-Wide emergences. *Emerg Infect Dis*. 9 (8): 978-984.

214. Vasque J, Rossello J, Arribas JL. Prevalence of nosocomial infections in Spain: EPINE study 1990–1997. EPINE Working Group. *J Hosp Infect*, 1999, 43 Suppl:S105–S111.

215. Velasco D, del Mar Tomas M, et al. Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:379-382.

216. Wagenvoort JHT, Werink TJ, Gronenschild JMH, Davies BJ. Optimization of detection and yield of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Phage type III-29. *Infect Control Hosp Epidemiol* .1996, 17: 208-9.

217. Wagenvoort JHT. Resistente Bakterien: ein schwerwiegendes Problem für die Krankenhaushygiene im vereinten Europa. *Hygiene Medizin* .1999; 24: 65-70.

218. Walsh TR, Howe RA. The prevalence and mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Microbiol* (2002) 56: 657-675.

219. Weigel LM, Clewell DB, Gill SR, et al. Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus*. *Science* (2003) 302: 1569-1571.

220. Wylie JL, Deborah L, Nowicki L. Molecular epidemiology of community- and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Manitoba, Canada. *J Clin Microbiol* 2005;43:2830-2836.

221. Yarwood J.M. and Schlievert P.M. (2003). Quorum Sensing in *Staphylococcus* infections. *J Clin Invest*. 112: 1620-1625.

222. Zimakoff J, Kjelsberg AB, Larsen SO, et al. A multicenter questionnaire investigation of attitudes toward hand hygiene, assessed by the staff in fifteen hospitals in Denmark and Norway. *Am J Infect Control* 1992; 20: 58-64.

Annexes

Annexes 1: Milieux de culture

Milieu de Chapman

Composition:

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

- Extrait de viande (bovin ou porcin).....1g
- Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....10g
- Chlorure de sodium.....75g
- Mannitol.....10g
- Agar.....15g
- Rouge de phénol.....0,025g
- pH=7,6

Préparation :

- 111g par litre d'eau distillée.
- stérilisation à l'autoclave :
 - 15 minutes à 120°C.

Gélose nutritive pour la conservation

Composition :

- Peptone.....10.0g
- Extrait de viande.....5g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar.....10.0g
- pH=7.3

Préparation :

- prêt à l'emploi en petits tubes fins.

Gélose Mueller-Hinton

Composition :

- Infusion de viande de bœuf..... 300ml
- Peptone de caséine.....17.5g
- Amidon de maïs.....1.5g
- Agar.....10.0g
- pH= 7.4

Préparation :

- 37g par litre d'eau distillée.
- Stérilisation à l'autoclave :
 - 116°C, 15min.

Bouillon nutritif

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone10,0g
- Extrait de viande.....5,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7,2 \pm 0,2$.

Préparation :

- 20g par litre d'eau distillée.
- Stérilisation à l'autoclave à
 - 15 min à 121°C.

Annexes 2: Réactifs et solution

1. Sérum physiologique :

Chlorure de Sodium.....9g

Eau distillée 1000 ml

2. Plasma de lapin :

Composition :

Plasma de lapin lyophilisé..... 1 flacon: 10 ml

Diluant (oxalate de sodium)..... 1 ampoule: 10 ml

Préparation :

10 ml de solvant additionné stérilement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé.

Agiter pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse.

3. Réactifs de la coloration de Gram

Violet de gentiane:

Phénol..... 2.0 g

Violet de gentiane..... 1.0 g

Éthanol à 90°..... 10 ml

Eau distillée..... 100 ml

Lugol:

Iodure de potassium..... 2.0 g

Iode métalloïde..... 1.0 g

Eau distillée 300 ml

Alcool (éthanol)

Fuschine de ziehl:

Fuchine basique..... 1.0g

Phénol..... 5.0 g

Éthanol à 90°.....10 ml

Eau distillée100 m

Annexes 3: Coloration de gram

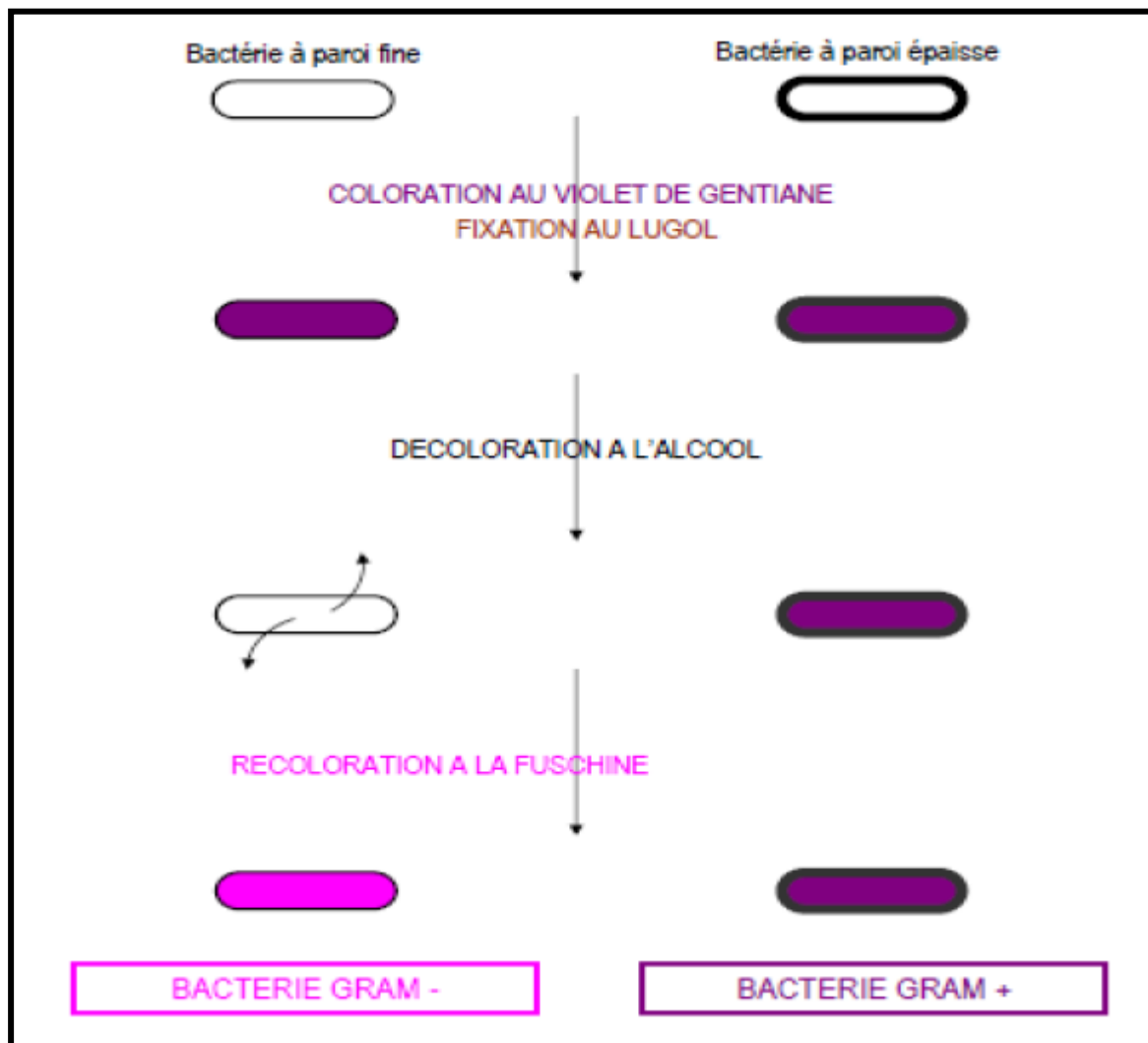


Figure 16: Coloration de Gram (Prescott, 2009).

Annexes

Annexes 4: Tableaux

Tableau 12: Tableau d'identification du catalogue analytique API Staph

Test	Substrats	QTE (mg/cup)	Réactions/enzymes	Résultat	
				Négatif	Positif
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1.56	(Témoin négatif) (D-GLUcose)		
FRU	D-fructose	1.4	Acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1.4	Acidification (D-MANnose)		
MAL	D-maltose	1.4	Acidification (D-MALtose)		
LAC	D-lactose (origin bovine)	1.4	Acidification (D-LACtose)	rouge	jaune
TRE	D-trehalose	1.32	Acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1.36	Acidification (D-MANnitol)		
XLT	Xylitol	1.4	Acidification (XYLitol)		
MEL	D-melibiose	1.32	Acidification (D-MELibiose)		
NIT	Nitrate de potassium	0.38	Réduction des nitrate en nitrites	NIT 1 + NIT 2/10 min	

Annexes

				Incolore – rose pâle	rouge
PAL	B-naphtyl phosphate	0.0244	Phosphatase Alcaline	ZYM A + ZYM B/10 min	
				Jaune	Violet
VP	Sodium pyruvate	1.904	Production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2/10min	
				Incolore-rose pale	violet-rose
RAF	D-raffinose	1.56	Acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1.4	Acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1.32	Acidification (SACcharose)		
MDG	Methyl- α D- Glucopyranoside	1.28	Acidification (Methyl- α DGlucopyranoside)		
NAG	N-acétyl- glucosamide	1.28	Acidification (N-Acétyl- Glucosamide)		
ADH	L-arginine	1.904	Arginine DiHydrolase	jaune	Orange-rouge
URE	Urée	0.76	UREase	Jaune	Rouge-violet

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

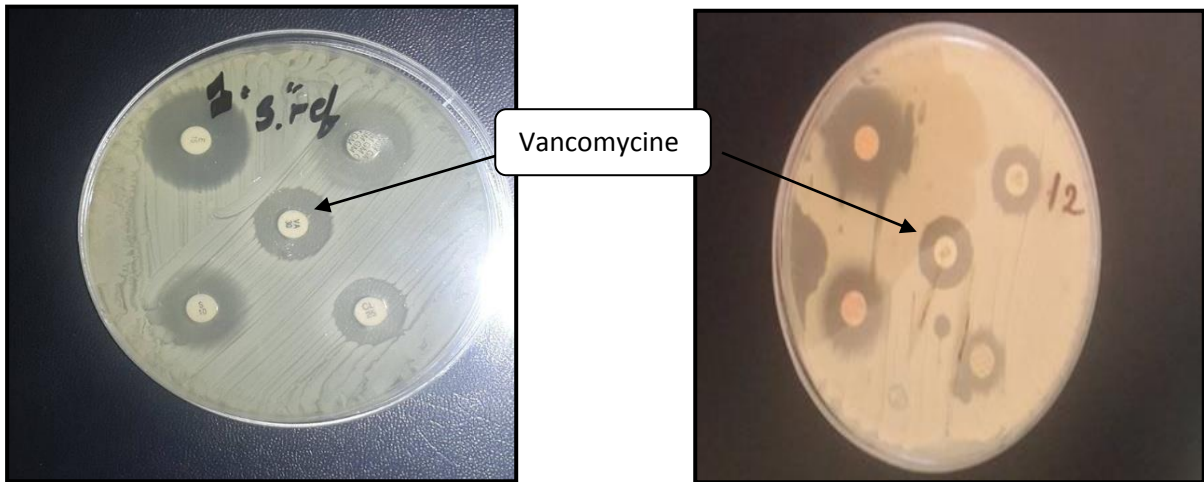
- Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.
- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

Annexes

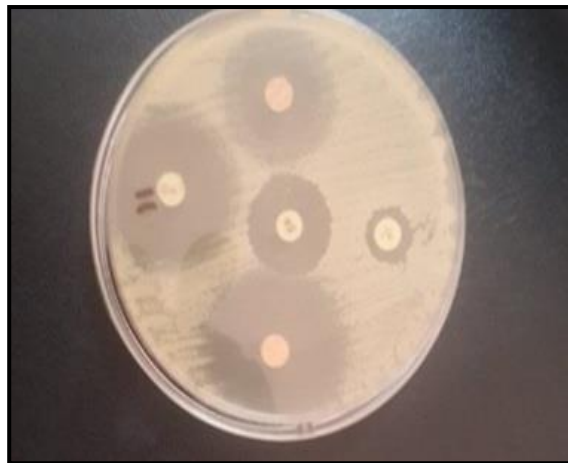
Tableau 13: Tableau de lecture les API® Staph (biomerieux SA, 2009)

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

Annexes 5: Photos personnelles



Aspect de la résistance à la
vancomycine



Aspect de la résistance aux plusieurs
antibiotiques

Références bibliographiques
