

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie et sécurité alimentaire

Présenté par :

BAGHDAD Raounak

OMARI Khadidja

TAYEB Djamila

Thème

**Occurrence de *staphylococcus aureus* isolés
des infections utérines chez les femmes à
Tiaret**

Soutenu publiquement le :

27/06/2019

Jury:

Président: Mme MEZOUAR D .

Encadreur: Mme CHAALAL W.

Examineur Mme ABDI F . Z .

Grade :

MCB Faculté SNV Tiaret

MCB Faculté SNV Tiaret

MCA Faculté SNV Tiaret

Année universitaire : 2018 / 2019

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Résumé

Introduction

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I .1 .Le genre <i>Staphylococcus</i>	4
I .1 .1 Historique.....	4
I .1.2 Ecologie.....	4
I .1 .3 Caractères généraux	4
I . 2. L'espèce <i>Staphylococcus aureus</i>	5
I .2.1 Caractères morphologiques.....	5
I .2 .2 Caractères biochimiques.....	5
I.1.3 Caractères Cultureux.....	5
I . 3. Les facteurs de Virulence.....	5
I .3.1 Les adhésines.....	5
I .3. 2 Les exoprotéines et toxines.....	5
I.4. Le Pouvoir pathogène.....	5
I.4.1 Chez l'homme.....	5
I.4.1.1 Infections suppuratives.....	5
I.4.1.2 Septicémie.....	5
I.4.1.3 Infections toxiques.....	6
I .4.2 Chez L'animal	6
I.5. L'émergence de la résistance aux antibiotiques	6
I.5.1. La résistance à la méthiciline.....	6
I.5.2. La résistance aux autres antibiotiques	6

I.6. Les infections génitales chez la femme (hautes, bases).....	6
--	---

Chapitre II : Matériels et méthode

II .1 Objectifs de l'étude	9
II.2 Lieu d'étude et durée de l'étude.....	9
II.3 Protocole expérimentale.....	9
II.4 Prélèvement	10
II.5 Transport	10
II.6 Isolement et purification	10
II.7 Identification	10
II.7.1 La coloration de Gram	10
II.7.2 Les tests biochimiques	11
II.7.3 L'identification par la spectrométrie de masse de types MALDI-TOF.....	16
II.7. 4 L'antibiogramme	18

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Prélèvement.....	21
III.2 Culture des prélèvements	21
III.3 Isolement des souches de <i>Staphylococcus SPP</i> à partir de cultures positives...22	
III.4 Identification biochimique de l'espèce <i>S .aureus</i>	23
III.5 Test de sensibilité aux antibiotiques	25
III.6 Phénotype de résistance des souches <i>S .aureus</i>	30
III .7 Mode d'action des familles d'antibiotiques	30
Conclusion	33
Annexe	35
Références bibliographiques	38

Liste des abréviations

ADH : Arginine Dihydrolase .

BHIB : Brain Heart Infusion Broth.

LDC : Lysine Décarboxylase .

N: Nombre.

ODC : Omithine Décarboxylase .

ONPG : Ortho-nitrophényle-B-galactosidase.

pH: potentiel d'hydrogène .

R : Résistant .

S : Sensible.

TSI : Triple Sugar Iron.

PLP : Protéines Liant la Pénicilline.

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

g : gramme.

cm : Centimètre.

°C : Degré Celsius.

ml : Millimètre.

ug : Microgramme.

ul : Microlitre.

B-lactamines : Béta-Lactamines.

S .aureus : *Staphylococcus aureus*.

IVG : Interruption volontaire de grossesse.

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
1	Les caractères biochimiques	5
2	Disques d'antibiotiques testés	19
3	Fréquence d'isolement de staphylococcus spp	22
4	Identification des <i>S.aureus</i> par MALDI-TOF de type MICROFLEX	25
5	Sensibilité des isolats de <i>S.aureus</i> aux familles d'antibiotiques	27

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Protocol expérimental de l'isolement et l'identification de <i>S.aureus</i>	9
2	Aspect des souches de <i>S. aureus</i> sur gélose au sang de mouton	17
3	Spectrométrie de Masse MALDI-TOF	17
4	Répartition des prélèvements selon leur culture	21
5	Culture sur bouillon nutritif	21
6	Gélose Chapman	22
7	Aspect des colonies de <i>S.aureus</i> incubées	22
8	Catalase de la souche testée	23
9	Coagulase libre de la souche testée	23
10	DNase de la souche testée	24
11	Galerie API staph avant incubation des souches testée	24
12	Résultat des caractères biochimiques par Galeries API	24
13	Résistance à la pénicilline	27
14	Résistance à l'Amoxicilline	27
15	Résistance à l' Erythromycine	28
16	Résistance à la Tobramycine	28
17	Résistance à la kanamycine	28
18	Résistance à l'Acide fusidique	28

ANNEXES

N°	Titre	Page
1	La composition des milieux	35
2	Diamètres d'inhibition acceptables des différents antibiotiques Testés	36
3	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition par les souches de <i>S. aureus</i>	37

Résumé

Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* impliquées dans les infections utérines chez les femmes de Tiaret.

Les infections à *Staphylococcus aureus* sont la deuxième cause d'infections nosocomiales qui sont en augmentation régulière. En effet cet agent possède une grande capacité d'adaptation aux antibiotiques par la mise en jeu de mécanismes de résistance variés, l'augmentation de cette résistance aux antibiotiques est un sujet de préoccupation importante qui pose des problèmes thérapeutiques vu l'émergence des souches multi-résistantes. Les tests *in vitro*, de sensibilité des germes aux antibiotiques sont une étape fondamentale, préalable à la mise en œuvre de toute antibiothérapie anti-staphylococcique.

Objectif : Nous sommes proposés dans cette étude de déterminer l'occurrence des *S.aureus* dans les prélèvements vaginaux de la femme ainsi de jauger leur sensibilité aux antibiotiques .

Méthode : La première partie de notre étude est consacrée à l'isolement des *S.aureus* à partir des prélèvements vaginaux des femmes ainsi à leur identification réalisée par les tests :DNase, catalase , coagulase et Api Staph confirmée par Maldi-Tof.

Dans la deuxième partie, nous évoquons le matériel et les méthodes utilisés pour évaluer le niveau de sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir des prélèvements vaginaux des femmes.

Résultat : Sur 50 échantillons analysés 3prélèvements étaient contaminés par *S.aureus* avec un taux de 6%, ces souches présentent une résistance aux bêta-lactamines (l'amoxicilline et la pénicilline), aux aminosides (la kanamycine et la tobramycine), aux macrolides (l'érythromycine) et à l'acide fusidique (100%).

Nous discutons par la suite ces résultats selon les objectifs précédemment déterminés.

Conclusion : La multi-résistance des souches *S.aureus* est devenu une préoccupation majeur, cela nécessite la prévention comme seul moyen limitant le risque des infections staphylococciques par la mise en œuvre des règles d'hygiène.

Mots clé : *Staphylococcus aureus* ,prélèvements vaginaux , infections utérines , antibiorésistance.

Summary

Occurrence and profile of antibiotic resistance *Staphylococcus aureus* involved in uterine infections

Staphylococcus aureus infections are the second leading cause of nosocomial infections, which are steadily increasing because this agent has a high capacity for adaptation to antibiotics through the use of varying resistance.

The increase in this resistance to antibiotics is a major concern that raises therapeutic problems given the emergence of multi-resistant strains.

In vitro, tests of sensibility of germs to antibiotics are a fundamental step, prior to the implementation of any antimicrobial therapy.

Objectives: In this study, we proposed to determine the occurrence of *S.aureus* in the vaginal samples of women, and to judge their sensibility to antibiotics.

Methods: The first part of our study is dedicated to the isolation of *S.aureus* from the vaginal samples of women and their identification carried out by the tests :DNase, catalase, coagulase and APi Staph confirmed by Maldi-Tof.

In the second part, we discuss the material and methods used to assess the level of sensibility of isolated isolaural strains from vaginal swabs of women.

Result: Out of 50 analyzes, 3 samples were contaminated by *S.aureus* with a rate of 6%, these stains are resistant to betalactamines (amoxicilline and penicilline), to aminoglycosides (kanamycine and tobramycine), to macrolides (erythromycine) and to fusidic acid.

Conclusion: The multi-resistance of *S.aureus* strains has become a major concern, this requires the prevention as the only way to limit the risk of staphylococcal infections by implementing hygiene and asepsis rules.

Key words: *Staphylococcus aureus*, vaginal swabs, uterine infections, antibiotic resistance.

الملخص

نمط و تردد المقاومة للبكتيريا العنقودية الذهبية للالتهابات الرحم عند المرأة

تعد عدوى المكورات العنقودية الذهبية السبب الرئيسي الثاني لالتهابات المستشفيات، والتي تزداد باطراد لان هذا العامل لديه قدرة عالية على التكيف مع المضادات الحيوية من خلال استخدام مقاومة متفاوتة.

ان الزيادة في هذه المقاومة للمضادات الحيوية هي مصدر قلق كبير يؤثر بشكل علاجي نظرا لظهور سلالات متعددة المقاومة.

تعتبر التحاليل المخبرية الحساسة للجراثيم مضادات حيوية خطوة اساسية قبل تطبيق كل علاج بالمضاد الحيوي للمكورات العنقودية.

الاهداف: اقترحنا في هذه الدراسة تحديد حدوث المكورات العنقودية الذهبية في العينات المهبلية للمرأة اضافة الى الحكم حساسيتها للمضادات الحيوية.

المنهجية: يكرس الجزء الاول من دراستنا لعزل المكورات العنقودية الذهبية من العينات المهبلية للمرأة بإجراء اختبارات:

ال Api Staph, ال catalase, coagulase, ال DNase, المؤكدة باختبار MALDI TOF

في الاخير قمنا بدراسة مقاومة هذه السلالات المضادات الحيوية بغرض تحديد حساسيتها لها .

في الجزء الثاني ناقش المواد والاساليب المستخدمة لتقييم مستوى حساسية السلالات المعزولة من العينات المهبلية للمرأة.

النتائج: من بين 50 عينة محللة تم تلوث 3 عينات بالمكورات العنقودية الذهبية بالنسبة 6 ، هذه السلالات لديها مقاومة لل:

Bétalactamines aminosides , macrolides, acide fusidique

قمنا بمناقشة هذه النتائج حسب الاهداف المحددة مسبقا

الاستنتاج: اصبحت المقاومة المتعددة للسلالات المكورات العنقودية الذهبية مصدر قلق كبير ، وهذا يتطلب الوقاية باعتبارها الطريقة الوحيدة للحد من مخاطر الالتهابات العنقودية من خلال تطبيق قواعد النظافة والتعقيم .

الكلمات المفتاحية: البكتيريا العنقودية ، المضادات الحيوية ، التهابات الرحم ، العينات المهبلية.

Remerciements

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie à l'université Ibn Khaldoun - Tiaret .

En préambule à ce mémoire, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire .

*Nous tenons à remercier tout d'abord chaleureusement **Mme Chaafal** en tant que promotrice de mémoire, c'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce travail .*

*Nous voudrions remercier **Mme Boubker** chef de spécialité.*

Nous aimerons exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous les membres de jury :

Mme Mezouar

Mme Abdi

Enfin , nous ne saurons oublier tout le personnel du laboratoire de microbiologie.

Dédicace

Je dédie ce travail

*A Dieu, tout puissant qui m'a donné la force, la santé et le courage de
réaliser ce précieux travail.*

*A mes parents Et qui m'ont supportés vaillamment pas à pas tout au
long de ma vie.*

A mes frères : Abd'Elmour , Abd'El kader

A mes sœurs : Sara , Manel , Soumia , Fatima , Randa et Nourellyakín.

*A toute ma famille et toute personnes que j'aime surtout mes chères
amies Rahíl et Ouassíla*

Sans oublier mon chère ami Ben Taher . A

Raounak.

Dédicaces

Je dédie ce travail

*A Dieu , tout puissant qui m'a donné la force , la santé et le courage de
réaliser ce précieux travail.*

*A mes parents qui m'ont supporté vaillamment pas à pas tout au long
de ma vie.*

A mes frères : Hocine et Mohamed.

A mes sœurs : Nacira et Meriem.

*A toute ma famille et toute personnes que j'aime (Hakim. Linda,
Khalida, Houaria et Halima).*

Khadija

Dédicaces

Je dédie ce travail

*A dieu, tout puissant qui m'a donné la force, la santé et le courage de
réaliser ce précieux travail.*

*A mes parents : qui m'ont supporté vaillamment pas à pas tout au
long de ma vie.*

A ma mère : Aicha.

A mon frère : Mokhtar.

A mes sœurs.

*A toute ma famille et toute personnes que j'aime : Lamia , Souad ,
Ikram*

Djamila

Introduction

Introduction

A l'état normal, le milieu vaginal comporte pour son équilibre des germes nommés : la flore de « Döderlein » constituée principalement par le *Lactobacillus*.

Cette flore maintient l'acidité vaginale (pH=4,4 à 5,5) permettant la défense anti-infectieuse (Giraud *et al.* 2002).

Tous ce qui pourra perturber cet équilibre favorisera le développement d'une flore pathogène : les germes provenant de la peau du périnée et de l'anus peuvent coloniser le vagin et deviennent commensaux ou saprophytes passant à la pathogénicité du fait du déséquilibre de l'écosystème vaginal, manque d'hygiène, irritation médicamenteuse, hyper ou hyperestrogenie et antibiothérapie(Giraud *et al.* 2002).

L'utérus peut être contaminé suite à des manœuvres endo-utérines (pose de stérilets, IVG) ,les infections à ce niveau sont caractérisées microbiologiquement par la multiplicité des agents potentiellement impliqués qui dépendent des circonstances de survenue (Labaune,2011).

Parmi les bactéries en cause, on trouve le *S.aureus* : l'agent pathogène le moins fréquent mais le plus important responsable de pathologies diverses et parfois redoutables, le traitement de ces infections repose actuellement sur l'utilisation d'antibiotiques (anti-staphylococciques) (Diora, 2006).

Cependant, ces souches possèdent un fort pouvoir adaptatif et développent différents mécanismes de résistance aux antibiotiques utilisés ; dont les souches *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline sont longtemps restes le prototype du pathogène exclusivement nosocomial (Tattevin, 2011).

Ceci impose aux praticiens outre une maîtrise parfaite de la physiopathologie de ces infections bactériennes, une croissance précise et sans cesse actualisée de l'évolution de la sensibilité de ces souches aux différents antibiotiques utilisés (Dumitrescu *et al.* 2010)

introduction

Le but de notre travail était d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques des *S.aureus* isolées des infections utérines chez la femme au niveau de la wilaya de Tiaret .

A cet effet, nous sommes fixés comme objectifs :

- ✓ Isolement et identification des souches *S.aureus* à partir des prélèvements vaginaux de la femme.
- ✓ Etudier la résistance de ces souches vis-à-vis certains antibiotiques.

Chapitre I
Partie bibliographique

I.1. Le genre *Staphylococcus*

I.1.1 Historique

-En 1880, Pasteur découvre le Staphylocoque dans le pus de furoncle (Le Guyon , 1960).

- Plus tard, en 1883, Ogston donne le nom staphylocoque décrivant ce genre présent sous forme de grappe de raisin (Staphylos).

-En 1884, Rosenbach a pu obtenir des cultures pures de ces bactéries puis les diviser en 2 Groupes selon la pigmentation des colonies : blanches ou dorées (Dobernat *et al* , 1997).

I.1.2 Ecologie

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires.

*Leur réservoir naturel est l'homme et les animaux à sang chaud, elles sont :

1-Commensales car elles colonisent la peau et souvent les fosses nasales dont : 20% sont des sujets non porteurs permanents, 60% sont des porteurs intermittents et entre 10 à 20 % sont des porteurs permanents .

Ces porteurs ne présentent pas de signes (porteurs sains).

2-Pathogènes car elles peuvent être à l'origine d'infection graves humaines et animales.

Cependant, les staphylocoques sont très répandus dans l'environnement (l'air, eau, sol) (Federichi , 2005) .

I-1 -3 Classification et taxonomie

Le genre *Staphylococcus* fait partie de la famille de micrococcaceae. Ce genre comprend actuellement 36 espèces et sous espèces classées selon leur capacité de coaguler le plasma de lapin en espèces à coagulase positive et espèces à coagulase négative.

Au sein de ce genre, *Staphylococcus aureus* occupe une place privilégiée du point de vue pathogénique : l'espèce la plus pathogènes (Leclerc *et al* , 1989).

I.2.L'espèce *Staphylococcus aureus*

I.2.1. Les caractères morphologiques

Les Staphylococcus aureus sont des cocci à gram+, immobiles et sporulés (Grosjean *et al.*1986).

I.2.2. Les caractères cultureux

Staphylococcus aureus est une bactérie aéro-anaérobie facultatif mésophile (37°C de croissance optimale).

- Sur milieu liquide : son développement est rapide aboutissant à la formation d'un trouble uniforme, puis d'un dépôt glaireux au fond du tube (Le Guyon. R , 1960) .
- Sur milieu solide : sur les milieux usuels, les colonies sont souvent jaunes orangés de 1-2 mm de diamètre (Dobernat *et al.* 1997).

I.2.3 Les caractères biochimiques (Edouard *et al.* 2011)

DNase	Catalase	Coagulase	Glucose	Mannitol
+	+	+	+	+

I.3. Les Facteurs de virulence

I.3.1. Les adhésines : la protéines A, le clumping factor, les polysides capsulaires ...

I.3.2. Les exoprotéines et toxines : toxines, coagulase, enzymes(Federichi , 2005) .

I.4.Le pouvoir pathogène

I.4.1.Chez l'homme :

I.4.1.1. Les infections suppuratives :

Furoncle, anthrax, panaris, impétigo ainsi que beaucoup d'autres infections suppuratives.

I.4.1.2. Septicémie : correspond à la dissémination de *Staphylococcus aureus* dans le sang.

I.4.1.3. Infections toxiques

Intoxication alimentaire, syndrome du choc toxique.

I.4.2 Chez l'animal

Il s'agit d'infections cutanées (furoncle), articulaires (synovite) viscérales (abcès) , septicémie et souvent des mammites (Federichi , 2005 ; Courcol *et al* .1997) .

I .5. L'émergence de la résistance aux antibiotiques :

I.5.1.la résistance aux bêta-lactamines(la pénicilline et la méthicilline) :

L'évolution de la résistance aux différents anti staphylococciques pose un défis thérapeutique majeur, l'histoire commence en 1940 avec le début d'utilisation de la pénicilline.

En 1944, Les *staphylococcus aureus* ont acquis une résistance à cet antibiotique par la production de la pénicillinase, en 1960 une nouvelle sorte de la pénicilline résistance à la pénicillinase appelée méthicilline a été introduit mais la résistance est apparue moins d'un ans après avec un *staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ce qui devenu un agent nosocomial pathogène majeur(Stenz , 2010) .

I.5.2. la résistance associée :

Staphylococcus aureus est aussi résistant aux macrolides, fluoroquinolones et aux aminosides (Asseray et Madani , 2006) .

I.6. Les infections génitales Chez la femme(Giraud *et al* .1989 ; Labaune-Kiss ,2011) .

I.6.1. Les infections génitales basses

Elles touchent : la vulve, le vagin et le col.

I.6.1.1 La vaginose bactérienne

***Symptômes :** leucorrhées abondantes, prurit, sensation de cuisson, irritation vulvo-vaginale.

I.6.1 .2 . Cervico-vaginite

***symptômes :** leucorrhées jaunâtres, prurit, irritation vulvo-vaginale.

I.6.1.3 .La mycose :

***symptômes** : leucorrhées blanchâtres et épaisses, prurit intense

I.6.1.4. Chlamydose

* **symptômes** : leucorrhées purulentes, urétrite, douleurs pelviennes.

I.6.1.5. Trichomonase :

***symptômes** : Leucorrhées verdâtres, liquides, brûlure, rougeur de la muqueuses du col et du vagin, pertes.

I.6.1.6. Gonococcie :

***symptômes** : leucorrhées jaunâtres, congestion vulvaire, brûlure, dysurie, douleurs pelviennes

I.6.1.7.Syphilis :

***symptômes** : ulcération des voies génitales basses

I.6.1.8.Herpès génital (HSV1, HSV2)

***symptômes** : fièvre, myalgie, dysurie, adénopathie inguinales

I.6.1.9. Infection par les papillomavirus humains (HPV)

Le plus souvent asymptomatique conduit à l'apparition de tumeur bénignes.

I.6.2 Les infections génitales hautes

Elles touchent l'utérus, les trompes, les ovaires, et la péritoine.

I.6.2.1. Endométrite : atteint l'utérus.

I.6.2.2. Salpingite : les trompes .

I.6.2.3 Abscess ovarien : les ovaires.

I.6.2.4 Pelvi-péritonite : la péritonite

Chapitre II
Matériels et Méthodes

II-1.Objectifs de l'étude

Les principaux objectifs de la présente étude se focalisent principalement à :

Isoler et identifier les souches *S.aureus* à partir des prélèvements vaginaux de la femme.

Evaluer le profil de sensibilité des souches isolées.

II -2.Lieu et durée d'étude

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire d'analyses microbiologiques à l'Université

Ibn Khaldoun-Tiaret au cours de la période allant du 10 février au 21 mars .

II-3.Protocole expérimental :

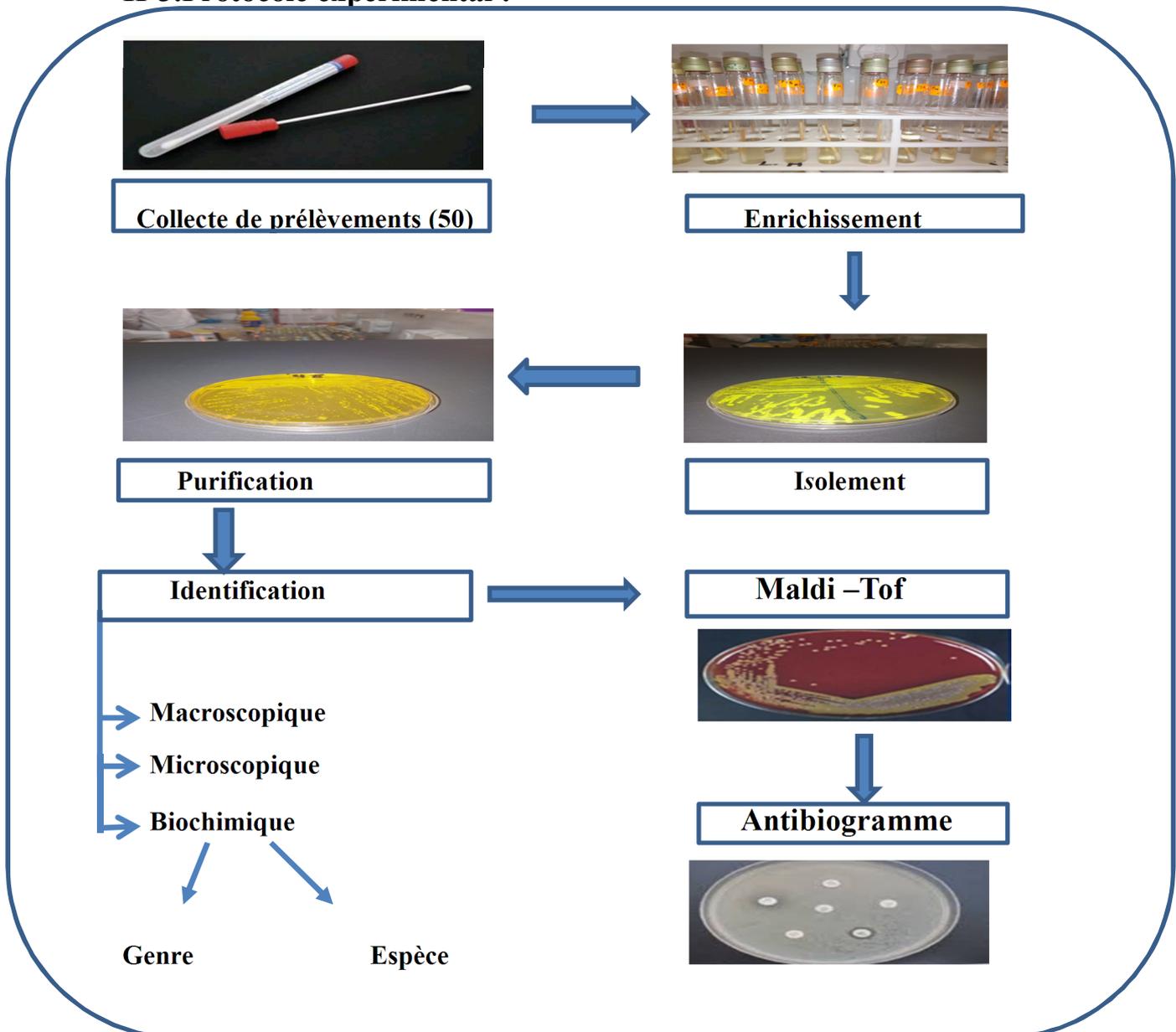


Figure 1 : Protocole expérimental de l'isolement et l'identification des *S.aureus*

II-4. Prélèvement

Un total de 50 Prélèvements vaginaux chez les femmes a été effectué durant la période du 20 janvier au 10 mars au niveau de la maternité LOURAY Zohra et des laboratoires d'analyses microbiologiques de la région de Tiaret.

II- 5. Transport

Les échantillons ont été acheminés directement au laboratoire de microbiologie de l'Université Ibn Khaldoun et conservés à 4°C.

II-6. Isolement et purification : la recherche des *S. aureus* :

-Les échantillons ont été introduits dans 5 ml de bouillon nutritif pour but de créer un enrichissement et incubés à 37°C Pendant 24h (Delarras , 2007).

-à L'aide d'une pipette Pasteur stérile , un volume de la culture a été ensemencé sur gélose de Chapman, puis incubé à 37°C pendant 24 h afin d'avoir une culture pure de *Staphylococcus aureus* .

-Les colonies pigmentées en jaune doré ont été repiquées sur le même milieu sélectif (Chapman) puis incubées (Delarras , 2007).

II-7. Identification

L'identification des souches *Staphylococcus aureus* a été réalisée sur la base de la coloration de Gram et des tests biochimiques (Galerie API Staph) et des tests classiques .

II-7.1 .La coloration de Gram :

Cette coloration permet de différencier des bactéries Gram + à celles des Gram - sur la base de fixation du violet de Gentiane , elle doit permettre de montrer la forme et la couleur des colonies fixées sous microscope optique à l'objectif 100 (Assous *et al* .1970).

II-7-2-Les Tests biochimiques✓ **Test de catalase**

Principe : la recherche de la catalase a pour un intérêt taxonomique précisant les bactéries Gram+.

La catalase est une enzyme qui accélère la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 : toxique pour ces bactéries).

Technique

A l'aide d'une pipette Pasteur, déposer sur une lame une goutte de H_2O_2 , prélever une colonie et la dissocier dans la goutte en utilisant une anse puis observer l'apparition des bulles.

Résultat

Résultat positif : dégagement gazeux, production d' O_2 suite à la dégradation d' H_2O_2 , donc la souche est à catalase +.

✓ **Test de la fermentation de mannitol :****Principe : le milieu mannitol mobilité**

Le milieu permet de différencier les bactéries qui ont la capacité de fermenter le mannitol.

La mobilité : sur la gélose du milieu (gélose molle) les bactéries peuvent déplacer.

Technique

Avec une pipette boutonnée et chargée d'une suspension bactérienne pure, ensemercer le milieu par pique centrale et incubé à $37^\circ C$ pendant 24 h.

Résultat

Résultat positif : s'exprime par un virement de couleur au jaune qui affirme la fermentation du mannitol.

Bactérie immobile : pas de diffusion autour de la pique.

✓ Test de citrate du Simmons

Principe : repose sur l'aptitude de certaines bactéries à pouvoir utiliser le citrate comme seule source d'énergie.

Technique

Selon une strie longitudinale et avec une pipette Pasteur,ensemencer le milieu et l'incuber pendent 24h à 37 °C.

Résultat

Résultat positif : se traduit par virement de couleur au bleu avec une culture.

✓ Test d'OMPG (Ortho Nitro PhénylGalactopyranoside)

Principe : Ce test consiste à recherche l'enzyme B-galactosidase qui mis en évidence la dégradation de lactose en glucose et galactose par l'intervention de deux enzymes (galactosidase et B-galactosidase) .

Technique

Préparer suspension bactérienne en eau physiologique ,puis ajouter le disque d'OMPG(Brigitte v) puis incuber 24h à 37°C.

Résultat :

Résultat positif : se manifeste par l'apparition d'une coloration jaune puis la production d'OMPG par l'hydrolyse l'OMPG (l'OMPG+).

-dans notre recherche des *Staphylococcus aureus*,l'absence de coloration confirme l'absence de la B-galactosidase (l'OMPG).

✓ Test de la thermonucléase(DNase)**Principe**

Ce test permet de mettre en évidence l'activité désoxyribonucléase pour identifier les Staphylocoques potentiellement pathogènes (Wackman ,Calten ,1957).

-L'acide désoxyribonucléique de poids moléculaire important permet de détecter la DNase

-une fois le milieu incubé avec les souches de test, les boîtes Pétrie sont recouvertes d'acide chlorhydrique qui assure la précipitation de l'ADN et opacifie le milieu .

-la production d'une zone claire autour de la zone de croissance confirme que la souche est de DNase positif.

Technique

A l'aide d'un ensemencement à anse, il est possible d'ensemencer quatre souches sur une même boîte Pétrie contenant la gélose DNase , incuber les boîtes dans des conditions aérobies pendant 24 h à 37°C puis les recouvrir et les plonger dans une quantité suffisante d'acide chlorhydrique 1N et lire après 2min afin de permettre de pénétrer toute la surface du milieu.

Résultat

L'apparition d'un halo rose clair en périphérie des souches étudiées : signe de la présence d'une DNase.

Le résultat est confirmé en obtenant un excellent coefficient de corrélation entre l'activité coagulase et l'activité DNase de Staphylocoque isolés à partir des prélèvements cliniques (Disalvo ,1958).

✓ Test de Staphylocoagulase

Principe : notamment pour l'identification de *Staphylococcus .aureus*.

Technique

Introduire dans un tube stérile 0,3 ml de plasma humain frais et 0,3 ml d'une culture de 18 h en bouillon cœur cerveau (BHIB) de la souche , incuber le mélange à 37h puis lire pendant les cinq premières heures.

Résultat :

Une réponse positive se traduit par une coagulation du plasma plus dans trois quarts du volume, coagulase + (Delarras .C , 2007).

✓ Test Décarboxylase ODC, LDC et des dihydrolase ADH bactérienne :

Principe : Ce test est généralement utilisé pour identifier les espèces appartenants à la famille Entérobactériaceae (cas des bacilles gram – à métabolisme fermentatif), qui facilite la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), de l'ornithine décarboxylase (LDC) et de l'arginine (ADH)

Technique

ensemencer chaque milieu avec les colonies de la suspension bactérienne , puis incubé pendant 24 h à 37°C.

Résultat :

Le virement du milieu au jaune et l'acidification qu' il y à une fermentation du glucose donnent un résultat négatif dans notre étude.

✓ Test Clark et Lubs

Principe : ce test permet de différencier les Entérobactériaceae.

Technique :

Prélever une colonie bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur stérile , ensemencer le milieu avec la culture puis incubé à 37°C pendant 24h .

Après l'incubation , transvaser 2,5ml du milieu dans un autre tube stérile et ajouter quelques gouttes d'une solution de rouge de méthyle (RM) puis la solution VP dans le reste du milieu .

Résultat

Réaction RM : l'apparition d'une coloration rouge est considérée comme positive à l'inverse la couleur jaune qui est considérée comme négative.

Réaction VP : l'apparition d'une couleur rouge en surface est considérée comme positive .

✓ Test TSI (Triple Sugar Iron)

Principe : ce test permet d'identifier les entérobactéries par la mise en évidence de la fermentation de 3 sucres, la production de gaz ou la production de H₂S

Technique

Prélever une colonie bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, piquer le culot du tube avec la pipette, effectuer des stries sur la pente puis incuber à 37°C pendant 24h.

Résultat :

Fermentation des sucres : elle se traduit par une coloration de la gélose en jaune .

Production du gaz : elle se manifeste par des craques dans la gélose

Production de H₂S : l'apparition d'un dépôt noir dans la gélose indique la production de H₂S

✓ Galerie API Staph:

Principe : ce test a pour but d'identifier le genre Staphylococcus comprenant des tests biochimiques miniaturisés

La galerie API Staph comprend 20 microtubes contenant des substrats déshydratés dans le quel la suspension bactérienne est inoculée

Les réactions produites se traduisent par un virement de couleur .

Technique :

1-remplir les alvéoles de la boîte d'incubation avec l'eau distillée.

2- placer la galerie dans la boîte d'incubation.

3- à l'aide d'une micropipette, remplir les tubes de la galerie avec la suspension bactérienne d'une culture jeune à 0,5 MC Farland.

4- ajouter dans les cupules des tests ADH et URE l'huile de paraffine pour créer une anaérobiose .

5-fermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C Pendant 24h .

6- après l'incubation, ajouter les réactifs suivants :

-VP1 et VP2 dans le test VP.

-ZYMA et ZYMB dans le test PAL.

-Nit1 et Nit2 dans le test NIT.

7-attendre 10min et lire les résultats à l'aide du tableau de lecture.

II-7.3 L'identification par la spectrométrie de masse de types MALDI-TOF-MS

Principe : La spectrométrie de masse type Maldi-Tof-MS (Matrix-Assisted Laser Désorption Time-of-Flight Mass Spectrometry) s'inscrit depuis plusieurs années comme innovation révolutionnaire dans le domaine de la microbiologie.

La principale application de cette technologie en microbiologie clinique est l'identification des microorganismes par l'analyse de leurs protéines totales, la méthode est rapide, précise, fiable et moins couteuse par rapport aux méthodes phénotypiques conventionnelles.

Le champ d'investigation reste très largement ouvert permettant d'envisager dans un avenir proche de comparer les souches, d'identifier les facteurs de virulence ou encore étudier la résistance aux antimicrobiens.

Technique

a-La préparation des souches

Cette étape consiste à ensemencer les souches sur milieu solide (gélose Columbia au sang de mouton à 5%) et les incuber à 37°C pendant 24h.

b-La préparation de la cible :

A l'aide des embouts stériles, prendre une colonie et on l'étaler sur le cercle gravé de la cible, puis ajouter 2 ul de la solution de la matrice sur les taches cibles de l'analyse, ensuite placer la cible sèche dans l'appareil(MALDI-TOF-MS Bruker Microflex Daltonics , Bremen , Allemagne).

L'analyse des souches résistantes et sensibles de *S.aureus* a été réalisée en comparant la position des pics et l'intensité des spectres résultants (Seng *et al* .2009).



Figure 2 : Aspect des souches de *S .aureus* sur gélose au sang de mouton.

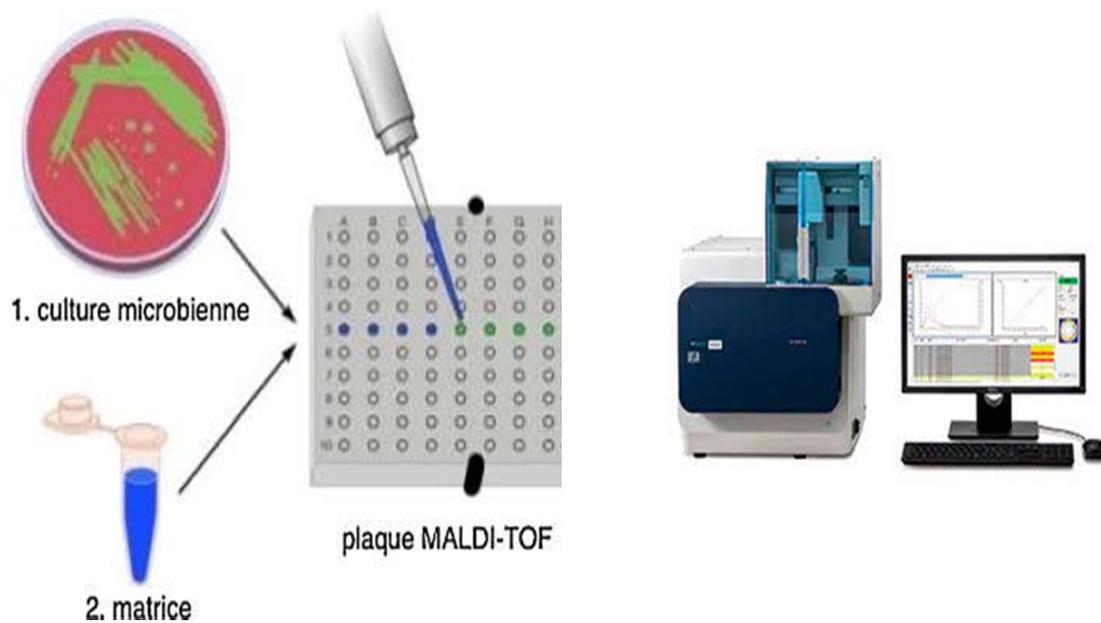


Figure 3 : Spectrométrie de Masse MALDI-TOF

II-7.4. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques :

Staphylococcus aureus est connu par sa résistance à différents antibiotiques, afin de déterminer la sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* isolées. 12 antibiotiques ont été testés par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller Hinton, les disques ont été déposés respectivement sur la surface de la gélose par un distributeur de disques.

II-6-4-1 Technique de l'antibiogramme**a-Inoculum :**

A l'aide d'une anse de platine, prélever une ou deux colonies (culture pure de 18h) parfaitement identiques et bien isolées, dans 9ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %,ensemencer les colonies puis homogénéiser bien la suspension bactérienne, qui doit être équivalente à 0,5 MC Farland, l'ensemencement doit être effectué juste après la préparation de l'inoculum.

b-Ensemencement : Sur milieu Mueller Hinton

Devant un bec Bunsen, tromper un écouvillon stérile dans l'inoculum, écouvillonner et étaler toute la gélose du centre vers le bord jusqu'à l'ensemencement de la totalité de la surface (stries serrées), à l'aide d'un distributeur de 6 antibiotiques, positionner les disques sur le fond de la boîte Pétri, après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition doivent être comparés aux diamètres critiques de l'Eucast 2018 afin de classer les souches dans l'une des catégories : résistante, intermédiaire ou sensible (Eucast,2018).

C-Liste d'antibiotiques testés :**Tableau 2 : Disques d'antibiotiques testés**

L'antibiotique	Charge au disque	Symbole
Erythromycine	15 ug	E 15
Tigécycline	15 ug	TGC 15
Tobramycine	10 ug	TOB 10
Gentamycine	10 ug	CN 500
Acide fusidique	10 ug	FA 10
Triméthoprim	05 ug	SXT
Pénicilline	01 unité	P 10
Amoxiciline	20 ug	AX 25
Teicoplanine	30 ug	TEC 30
Kanamycine	30 ug	K 100
Pristinamycine	15 ug	PE 15
Rifampicine	05 ug	RA 30

Chapitre III
Résultats et discussion

III 1-prélèvement:

Durant la période s'étalant du 10 février au 21 mars ,50 prélèvements vaginaux de femmes ont été analysés au laboratoire de microbiologie de l'université IBN Khaldoun- TIARET.

III 2-Culture des prélèvements :

Parmi un total de 50 prélèvements, 17 manifestent une culture dans le milieu d'enrichissement soit un taux de 34% .

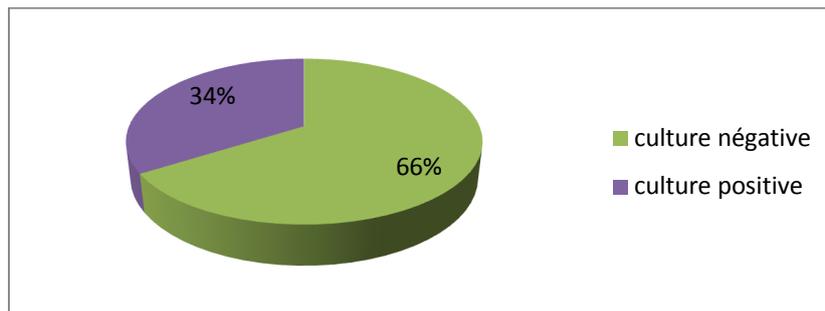


Figure 4 :Répartition des prélèvements selon leur culture

- Ce résultat est mené sur la base de la formation d'un trouble visible sur bouillon nutritif (développement bactérien).

Ce taux non négligeable peut être le reflet d'une infection.



Figure 5 : Culture sur bouillon nutritif

III 3- Isolement des souches de staphylococcus spp à partir de cultures positives :

- Etude macroscopique

Sur milieu Chapman, les colonies présentent l'aspect macroscopique caractéristique du genre staphylococcus, ces colonies sont apparues souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune (fermentation du mannitol), si non les colonies sont de couleur blanche, arrondies à bord régulier de 1-2 m de diamètre après 24h d'incubation à 37°C.

-Le développement bactérien sur ce milieu ne constitue pas une indication, d'autres bactéries (entérocoques) peuvent y cultiver (Chaalal, 2013).



Figure 6 : Gélose Chapman

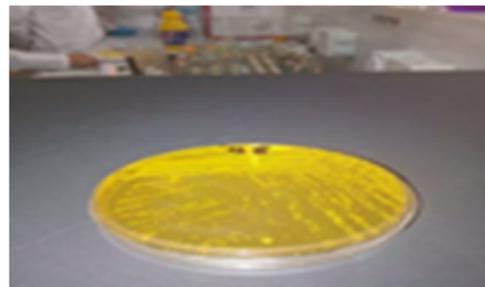


Figure 7 : Aspect des colonies *S. aureus*

Incubées.

-Etude microscopique

Après la réalisation de la coloration de Gram, des cocci sphériques en grappe de résin, en paires, de couleur violette.

Sur la totalité des échantillons prélevés, 8 souches appartiennent au genre staphylococcus avec un taux de 16% .

Tableau 3 : Fréquence d'isolement de *Staphylococcus SPP*

Prélèvement	Culture positive	Nombre de souches appartiennent au genre <i>staphylocoque aureus</i>
50	17	8
100%	34%	16%

3- Tests biochimiques pour l'identification de l'espèce *S. aureus* :

- ❖ **la catalase** Le dégagement de bulles de gaz indique que les bactéries isolées dégradent l'eau oxygénée en eau et en oxygène.

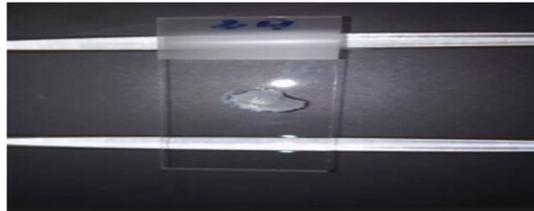


Figure 8 : Catalase de la souche testée

- ❖ **la coagulase libre**

La formation d'un coagulum occupant plus que la moitié du volume initial du tube après incultation à 37°C pendant 24h indique que les bactéries possèdent de la coagulase.



Figure 9 :Coagulase libre de la souche testée

- ❖ **la DNase**

L'apparition d'un halo clair autour des zones de la fosse révèle que les bactéries ont été capables d'hydrolyser l'ADN du milieu grâce à une enzyme DNase.

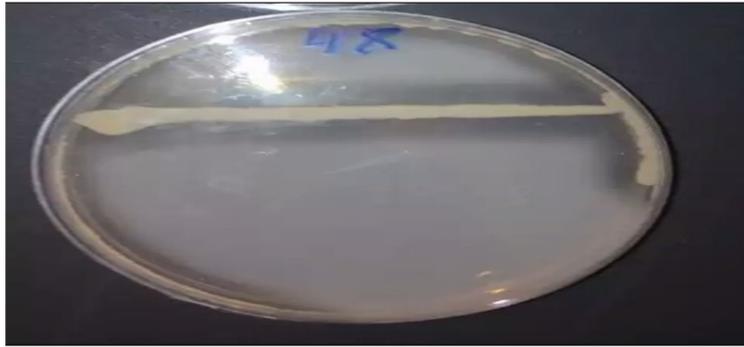


Figure 10 :DNase de la souche testée

❖ La galerie biochimique API Staph

S. aureus tire son énergie de la fermentation des sucres (Lavoisier, 2010)

-Cela est confirmé par le virement de la couleur vers le jaune.

-Cette souche réduit les nitrates en nitrites virant le milieu du jaune au rose, ainsi qu'elle est à ADH et uréase positif, cela est révélé par le changement de la couleur du jaune au rose.



Figure 11 : Galerie API Staph avant inoculation des souches testées



Figure 12 : Résultats des caractères biochimiques par galeries API Staph

❖ **Identification par MALDI-TOF-MS :**

Sur les 8 souches identifiées API Staph , 3 souches ont été correctement identifiées par MALDI-TOF-MS comme étant l'espèce *S. aureus*

Ces 3 Souches représentent :

- Un taux de 37 ,5 % des souches de staphylocoques isolées (3/8).
- Un taux de 17 ,64% sur la totalité des prélèvements (3/17).
- Un taux de 6% sur la totalité des prélèvements examinés (3/50).

Acquisition time	Name	%	Genus	Species	datacount
19 May 2019 9 :24	AE0482-0001-1F1 (C)	99 ,90	<i>Staphylococcus</i>	<i>Aureus</i>	142
19 May 2019 9 :24	AE0482-0001-1E1 (C)	99 ,90	<i>Staphylococcus</i>	<i>Aureus</i>	133
19 May 2019 9 :24	AE0482-0001-1F2 (C)	99 ,90	<i>Staphylococcus</i>	<i>Aureus</i>	184

Tableau 4 : Identification des *S.aureus* par MALDI-TOF –MS de Type MICROFLEX

Nos résultat montrent que le taux de contamination à *S. aureus* est plus élevé que celui observé dans l'étude menée au Nigeria qui a révélé une prévalence totale de *S. aureus* de 2 % (Okonko et al , 2012) .

Il est également supérieur à celui de *Elmoghazhi * qui rapporte une occurrence à *S. aureus* de 0.56 % à Maroc (Elmoghazhi , 2018) , alors qu'un taux de 15.4 % était indiqué dans l'étude de Balaka et son collègue (Balaka et Assinadi , 2005) .

A Burkina Faso , karou et al rapportent un taux de 7.55 % de *S. aureus* isolé (karou et al , 2009) .

Nos résultat sont proches de ceux trouvés à Togo avec un taux de 5.49 % (Tchlougou et al . 2013).

Ces résultats mettent en évidence un risque potentiel majeur pour la santé publique en particulier en l'absence d'hygiène rigoureuse et de mesures préventives pour éviter toute source de contamination .

S. aureus occupe une grande place dans les infections utérines : Pittet et al constatent que dans deux tiers des cas , les infections sont dues aux *S. aureus* et selon Dupont , les *S. aureus* sont responsables de 30,1 % des infections (Pittet et al . 1996) .

Les souches *S. aureus* représentent un problème de plus en plus important dans le monde sous que les mesures de prévention des infections causées par ce germe puissent pour le moment ralentir cette progression .

III 4-Résistance aux antibiotiques

Un antibiogramme complet a été réalisé sur 3 Souches isolées de prélèvements vaginaux de la femme. Étant donné leurs phénotypes de résistance très différents.

-Toutes les souches sont résistantes à l'acide fusidique (100%) .

-Aucun des souches testée n'est résistante à la Teicoplanine, la pristinamycine et à la rifampicine ,latrimethoprim ,la tygecycline et la genmycine .

-Parmi les aminosides testés, 2 souches (66,66%) Résistent à la kanamycine et une souche résistante à la tobramycine (33 , 33%).

-Parmi les macrolides ,une souche resiste à l'erythromycine (33, 33%) .

Les souches à *S. aureus* ont la même résistance pour :

L'erythromycine, la penicilline , l'amoxicilline , la tobramycine et l'érythromycine avec un taux de (33,33%) .

Tableau 5 : Sensibilité des isolats de *S. aureus* aux familles d'antibiotiques

Antibiotiques	Résistant n(%)	Sensible (%)	Intermédiaire
Pénicilline	1 (33,33%)	2 (66 ,66%)	00
Amoxicilline	1 (33,33%)	1 (33,33%)	1 (33,33%)
Gentamycine	00	2 (66,66%)	1 (33,33%)
Kanamycine	2 (66,66%)	00	1 (33,33%)
Tobramycine	1 (33,33%)	1 (33,33%)	1 (33,33%)
Erythromycine	1 (33,33%)	2 (66,66%)	00
Pristinamycine	00	1(33,33%)	2 (66,66%)
Teicoplanine	00	00	3 (100%)
Tygécycline	00	1 (33, 33%)	2 (66,66%)
Acide fusidique	3 (100%)	00	00
Triméthoprim	00	2 (66,66%)	1 (33,33%)
Rifompicine	00	1 (33,33%)	2 (66,66%)

La présence d'une souche à *S. aureus* multi résistante dans un prélèvement périphérique comme le prélèvements vaginale de la femme peut être contrôlée . L'antibiothérapie est capable d'éviter les complications de la diffusion de ce type de souches.

- Par contre , le passage dans le sang est souvent grave , surtout lorsqu'il s'agit de véritable infection (contamination ou même une simple bactériémie sans conséquences) , de plus, les risques de localisation secondaire sont aussi importants.

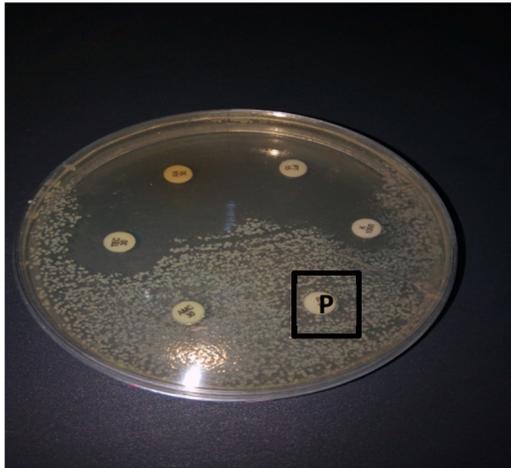


Figure 13 : Résistance à la Péniciline

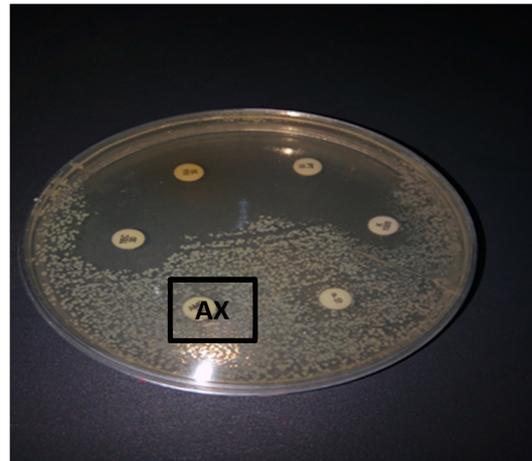


Figure 14 : Résistance à l'Amoxicilline

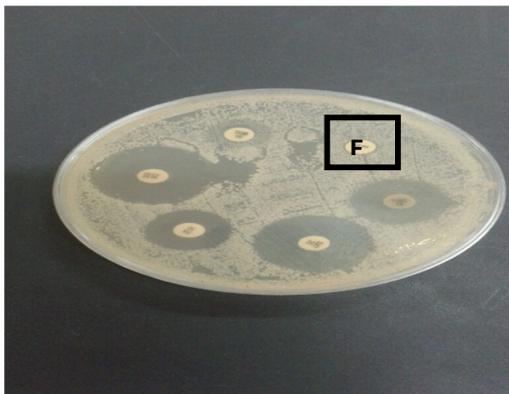


Figure 15 : Résistance à l'Erythromycine

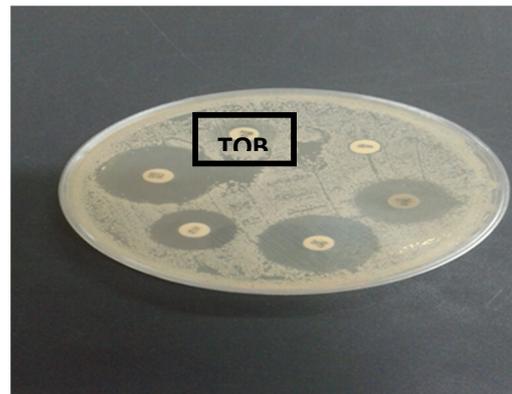


Figure 16: Résistance à la Tobramycine

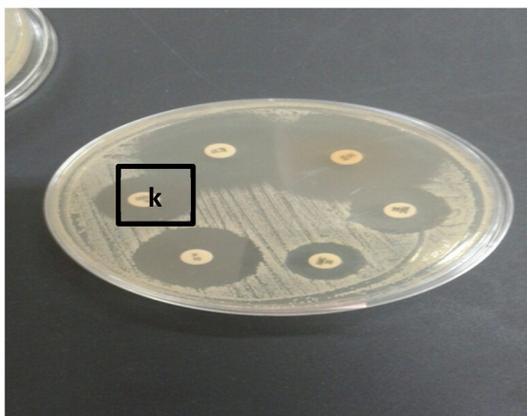


Figure 17 : Résistance à la Kanamycine.

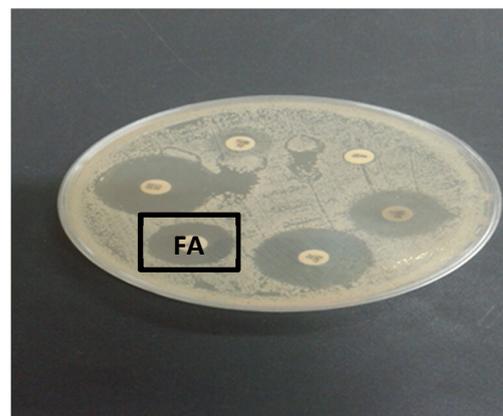


Figure 18: Résistance à l'Acide fusidique.

Le milieu vaginal peut être le niche où résident et se développent les souches de *S. aureus*, ces souches sont connues par leur résistance antimicrobienne (Okonko et al . 2012) cette résistance est due à leur capacité à produire une barrière expolysaccharide et d'autre coté à leur localisation au sien des micro-abcès limitant l'action des antibiotiques (Flandrois, 1997) .

Une étude à Togo montre que *S. aureus* a développé une forte résistance vis à vis la pénicilline , sont un taux de 66.67 % (Tchelougou et al . 2013) , ce taux est plus élevé que celui trouvé dans notre étude .

Dans une étude à Annaba , le taux de résistance de souches *S. aureus* à la tobramycine et à la gentamycine était 82.6 % et de 80% respectivement (Alioua,2015) , tandis que l'étude réalisée à Bamako montre un taux de 25% de résistance de *S. aureus* à ces antibiotiques (Toutou .S , 2006) .

L'apparition des souches multi résistantes , pose le plus souvent un problème de choix thérapeutique , la retard et la difficulté de l'instauration d'un traitement efficace en raison de

la multi résistance de cette bactérie sont des facteurs aggravant la situation souvent précaire des patients hospitalisés .

Cette situation incite à une surveillance régulière de ces bactéries afin de pouvoir maîtriser la situation .

III 5- Phénotype de résistance des souches *S.aureus* :

La recrudescence des souches *S.aureus* multi résistantes en milieu hospitalière et communautaire est un problème mondial mais a des degrés variables selon les pays ,en fonction de prescription et de pratique d'hygiène.

-L' étude de l'ensemble des souches de *S. aureus* pour leur caractérisation précise nécessite une analyse de leurs phénotype de résistance vis à vis les bêtalactamines , les aminosides, les macrolides et autres antibiotiques.

-La résistance de *S. aureus* aux bêtalactamine est due a la synthèse d'une PLP qui a une faible affinité pour les pénicillines (pénicilline) c'est la PLP 2a.

-La résistance aux aminosides est de phénotype (KT), elle est due a une inactivation enzymatique par la production d'enzymes modificatrices les aminosides , codés par des gènes acquises plasmiques au transposables .

-La résistance a l'érythromycine peut être due a la présence de méthylase, d'un mécanisme d'efflux mais également a des modifications des cibles ribosomales a la suite de mutation au niveaux des gènes.

-Le taux élevé de la résistance de ces souches *S.aureus* aux antibiotiques (l'acide fusidique à 100% et la kanamycine à 66,66%) peut être due a l'utilisation abusive de ces antibiotiques contre ces souches.

Cependant, les antibiotiques à haut taux de sensibilité restent les antibiotiques de choix contre les infections causées par de ce types de souches.

Mode d'action des familles d'antibiotiques :

Les bêta lactamines : les antibiotiques de cette famille inhibent la synthèse de la paroi en se fixant sur les protéines liant les pénicillines (PLP) .

Les aminosides : ces antibiotiques inhibent et tuent les microorganismes empêchant la synthèse des protéines.

Les macrolides : ils bloquent la translocation lors de la synthèse protéique.

Les Glycopéptides : les glycopéptides inhibent la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant sur la terminaison D-ala-D-ala de la chaîne latérale du pentapeptide .

Les Tétracyclines : elles inhibent la synthèse des protéines en empêchant l'ARN aminocyl-transferase d'atteindre le site accepteur sur le ribosome.

La trimethoprime : elle inhibe la dihydrofolate réductase.

L'acide fusidique : inhibe la synthèse protéique .

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Vivant entre le commensalisme et la pathogénicité , les souches *S.aureus* ont développé des stratégies intéressantes pour se répartir et être en cause de graves infections nosocomiales et communautaires .

La recherche de *S.aureus* a été réalisée en utilisant les techniques microbiologiques .

Sur 8 isolats, 3 étaient positifs pour la coloration de gram (cocci gram positif) , le test catalase (+) , le test DNase et le test coagulase (+) avec un taux de prévalence de 37 ,5 % (3/8)

La majorité des souches isolées présente une résistance accrue vis-à-vis les antibiotiques testés.

L'identification des souches *S.aureus* par les méthodes conventionnelles et la mise en évidence de leur résistance aux antibiotiques ont révélé l'importance de la fréquence de ces souches multi-résistantes divers antibiotiques spécifiquement aux bêtalactamines(penicilline, amoxicilline) , aux aminosides et aux macrolides , massivement utilisés en antibiothérapie .

Cet usage exerce une pression de sélection qui induit à l'apparition des résistances multiples .

Dans le cadre de lutte contre la dissémination des souches *S.aureus* multi-résistantes ; la prévention reste le seul moyen pour limiter le risque d'infections causées par ce type de germes , reposant sur l'établissement de recommandation écrites précisant les règles d'hygiène et d'asepsie

Annexe

Annexe 01

Milieux de cultures

Milieu	Composition(en g /L d'eau distillée)	Préparation
Gélose ADN	Hydrolysate tryptique de caséine20 ,0g ADN.....2,0g Chlorure de sodium.....5,0g Bleu de toluidine3ml Agar.....12,0g Ph=7,3	39g de poudre par 1 litre d'eau. Stérilisation à l'autoclave à 120 °C Pendant 20 min .
Bouillon cœur cervelle	Infusion de cervelle de veau12 ,5g Infusion de cœur de bœuf5,0g Peptone10g Glucose.....2,0g Chlorure de sodium5,0g Phosphatase di sodique2,5g Ph=7 ,4	37g de poudre par 1 Litre d'eau distillée. Stérilisation à autoclave à120°C pendant 20 min .
Gélose Chapman additionnée Au mannitol	Chlorure de sodium.....75,0g D-mannitol10,0g Caséine pancréatique5,0g Peptone de caséine animale.....5,0g Extraction de viande1,0g Rouge de phénol0,025g Ph=7,8	111g de poudre Chapman par 1 litre d'eau distillée . Stérilisation à autoclave à 120°C Pendant 20 min
Bouillon Clark et Lubs	Peptone.....5,0g Tryptone2,0g Phosphate di potassique.....5,0g Glucose5,0g Ph=7	17g de poudre par 1 litre d'eau distillée . stérilisation à l'autoclave à 115°Cpendant 20 min .
Gélose Muller-Hinton	Infusion de viande de bœuf.....300g Peptone de caséine.....17,5g Amidon de maïs1,5g Agar.....10,0g Ph=7,4	37g de poudre par 1 litre d'eau distillée. Stérilisation à autoclave à 115°C Pendant 15 min
HCL	HCL pure	HCL 1 N à partir d'HCL pure $V_{Hcl} = \frac{PM * N * 100}{C * H * d}$ $V_{Hcl} = \frac{36,5 * 1 * 100}{37 * 1 * 1,18}$ $V_{HCL} = \underline{\underline{83,6 \text{ ml/L}}}$

Annexes

Annexe 02

Liste d'antibiotiques testés pour les souches de *S. aureus* (CASFM ,2017 / 2018)

Famille d'antibiotique	Antibiotique testé	Charge de disque
Bétalactamine	Pénicilline Amoxicilline	01 unité 20 ug
Aminoside	Gentamicine Kanamicine Tobramycine	10 ug 30 ug 10 ug
Macrolides	Erythromycine pristinamycine	15 ug 15 ug
Glycopeptides	Teicoplanine	30 ug
Diaminopyrimidine	Triméthoprim	05 ug
Tétracyclines	Tigécycline	15 ug
Rifammycine	Rifampicine	05 ug
Autres	Acide Fusidique	10 ug

UI : unité internationale

Ug : microgramme

Annexes

Valeurs critiques des diamètres ces zones d'inhibition par les souches de *S.aureus*
(CASFM ,2017)

Antibiotique testé	Diamètre critique		
	Résistance	Intermédiaire	Sensible
Bétalactamine			
Amoxilline	<19	≥ 25
Pénicilline	< 12	...	≥ 18
Aminoside			
Gentamycine	< 19	...	≥ 25
Kanamycine	< 19	...	≥ 26
Tobramycine	< 20	...	≥ 26
Macrolides			
Erythromycine	< 23	...	≥ 29
Pristinamycine	<27	...	≥ 32
Glycopeptides			
Téicoplanine	< 15	...	≥ 21
Tétracycline			
Tygécycline	< 19	...	≥ 25
Diaminopyrimidine			
Triméthoprime	< 22	≥28
Rifammycine			
Rifampicine	< 30	≥ 36
Autres			
Acide fusidique	< 26	...	≥ 32

Références bibliographiques

- **Assous,M-A, Basse,A-L ,Bourhy ,H ,Dhote,R,Paugam,A (1970)**Microbiologie et pathologie infectieuse.France : De Boeck
- **Asseray,N ,Madani.(2006)** Traitement des infections à Staphylocoque doré par aminosides et glycopeptides : mieux prédire le succes ou l'ehec.approche expérimentale et *invitro*.université de Mantes.
- **Balaka,B, Agbéré,AD,Baeta,S, Kessie, K , Assimadi, K(2019)**Flore bacterienne genital au dernier trimestre de la grossesse .Service de pediaterie .Togo.
- **Courcol,R ,Lemeland,J-F ,Ramuz,M,Sirot,J ,Soussy,C-J.(1997)**Bactériologie médicale, Lyon: presses universitaires de Lyon.
- **Chaalal ,W .(2013)** Occurrence et profil d'antibioresistance des *Staphylococcus aureus* isolés des produits alimentaires.Université d'Es-Senia d'Oran.Oran.
- **Chaalal,W. ,Chaalal,N ,Bourafa,N,Kihal,M,Diene,S-M , Rolain,J-M.(2018)**Caractérisation of Staphylococcus aureus Isolated from food products in western Algeria. FOODORNE PATHOGENS AND DISEASE , 353-360.
- **Delarras,C.(2007)** Microbiologie pratique pour le labo d' analyse au de contrôle sanitaire .Lavoisier
- **Diora , M . (2006)** *Sensibilité des bactéries pathogenes aux antibiotiques dans le discript de Bamako en 2006* . Université de Bamako . Mali
- **Dobernat,H ,Denis, F , Montiel,H.(1997)**Bactériologie clinique : 2éme edition.paris: clipses.
- **Dumitrescu, O ; Dauwalder , O ; Boisset , S ; Reverdy , M ; Tristan , A ; vandenesch , F . (2010)** Résistance aux antibiotiques chez staphylococcus aureus . Médecine / science . 943-949
- **Edouard,S ,HADDAD ,V ,CALCAGNO.F.(2011)**Inféctiologie, CNCI

Références bibliographiques

- **Elmoghazli,R.(2018)Profil microbiologique des infections vaginale. Université de Marrakech.Maroc.**
- **Federichi,M.(2005) Bactériologie alimentaire:2éme edition:ed.economica.**
- **Grosjean,J ,Clavé,D,Archambaud,M,Pasquier ,C .(1986)Bactériologie et virologie pratique : 2éme edition.de boek.**
- **Giraud,J-R,Rotten,D ,Brémond , A,poulain, p.(1989)Gynécologie :4éme édition.Paris :Masson.**
- **Labaurne-Kiss,A(2011)Inféctions génitales de la femme.**
- **Le Guyon,R.(1960) Précis de Bactérologie . paris :G.Doin.**
- **Leclerc , H , Mossel ,DAA.(1989)Microbiologie.Paris :Doineditors.**
- **Lavoisier.(2007)Microbiologie pratique pour le laboratoire.TEC et DOC.**
- **Stenz,L.(2010)The GTP- dependantpleiotropierepress or Cody regulated biofilm formation in *Staphylococcus aureus*.Université de Genève.**
- **Seng,p.Drancourt,M, Gouriert,F,La Scola,B.,Fournier,p.E ,Rolain,J.M ,et Raoult,D.(2009).Ongoing Revolution in Batériologie :Routine Identification of Bactéria by Matrix-Assisted Laser Désorption lionization Time-of-Flight Mass spectrométrie. Clinical Infection Diseases,49(4),543-551.**
- **Tchlougou,D, Karou ,DS, kpotsra,A, Assih, M.(2013)Infections vaginales chez les femmes enceintes au centre auspitalier regional de Sokodé(Togo)entre 2010 et 2011 .Medecine et santé Tropicale ,49-54 .**
- **Okonko,IO, Akinpelu,AO, Okerentugba PO.(2012)Prevalence of sexually transmited infection(STIs) among attendees of AFRH centre in Ibadan Southwestern Nigeria.Middle East J Sci Res 11,24-31.**
- **Pittet,D, Safran,E, Harbarth,S.(1996)Automatic alert for methicilline resistant *staphylococcus aureus* surveillance and control:role of a hospital information system.Infect Control Hosp Epidemiol, 496-502.**

Références bibliographiques

- **Wackman,B-G , Caltin,B-W.(1957)**Deoxyribonuclease activity of micrococci from clinical sources . J.Bacterial.73:747-753.