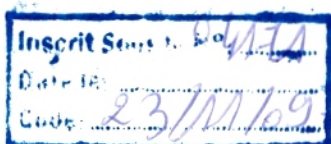


TLEMCEN N°D'ORDRE :

mas: 06/03

UNIVERSITÉ DE TLEMCEN – ABOU-BEKR BELKAID
FACULTÉ DES SCIENCES- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET
CELLULAIRE



Mémoire

Présentée pour obtenir le grade

DE DIPLOME DE MASTER EN BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE

Option : MICROBIOLOGIE

PAR

BEKKAL BRIKCI SELMA

Soutenue le 19 novembre 2009

Intitulé :

L'ETUDE DE POUVOIR PATHOGENE DES SOUCHES DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
ISOLEE DE SERVICE DE CHIRURGIE A DE CHU DE TLEMCEN

Directeur de mémoire : REBIAHI Sid Ahmed Maître Assistant

JURY

M. BELARBI

Professeur

Présidente

D.E. ABDELOUAHED

Maitre de conférences

Examinateur

TLEMCEN N°D'ORDRE :

UNIVERSITÉ DE TLEMCEN – ABOU-BEKR BELKAID
FACULTÉ DES SCIENCES- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET
CELLULAIRE

Mémoire

Présentée pour obtenir le grade

DE DIPLOME DE MASTER EN BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE

Option : MICROBIOLOGIE

PAR

BEKKAL BRIKCI SELMA

Soutenue le 19 novembre 2009

Intitulé :

L'ETUDE DE POUVOIR PATHOGENE DES SOUCHES DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
ISOLEE DE SERVICE DE CHIRURGIE A DE CHU DE TLEMCEN

Directeur de mémoire : REBIAHI Sid Ahmed Maître Assistant

JURY

M. BELARBI

Professeur

Présidente

D.E. ABDELOUAHED

Maitre de conférences

Examineur

Remerciement

Tout d'abord, je remercie Dieu, le tout puissant, le tout savant, le plus clément de tous de m'avoir donné le courage d'entamer et d'achever ce modeste travail.

J'adresse mes sincères remerciements :

À **Mr Rebiahi Sid Ahmed**, pour son énorme soutien qui ma permis de réaliser ce travail.

À **Mme Belarbi. M**, de m'avoir fait l'honneur de présider l'examen de ce travail.

À **Mr Abdelouahed D.E**, pour avoir accepté d'examiner ce travail, je vous remercie du fond du cœur.

Je tiens à remercier Mr ARIBI.M, maitre de conférences A pour leur aide précieuse.

Résumé

La bactérie *Staphylococcus aureus* est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections hospitalières et communautaires. Outre les nombreuses résistances que cette bactérie peut présenter vis-à-vis des antibiotiques et des antiseptiques, il peut être étonnant de constater combien cette dernière est également armée pour annihiler bon nombre des défenses que son hôte pourrait lui opposer. C'est en fait une véritable ingénierie dont dispose *Staphylococcus aureus* pour répondre aux périls d'un hôte hostile qui lui oppose anticorps, phagocytose ou cytotoxicité. L'émergence de souches particulièrement virulentes dans la communauté illustre le brassage génétique de ces dernières via l'homme et ses activités.

Le présent travail est une contribution à l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* responsable d'infection nosocomiale (suppuration) dans le service de chirurgie A ainsi que la caractérisation de 2 facteurs de virulence et le dosage du CRP pour évaluer le taux d'inflammation des patients au niveau du service.

Mots clé : *Staphylococcus aureus*, facteur de virulence, pouvoir pathogène, infection nosocomiale, coagulase, hémolysine,

Abstract

Staphylococcus aureus is responsible for numerous kinds of human infections and account for the most often isolated pathogens from both community and hospital infections. Beside the numerous antimicrobial and antiseptic resistances, the bacteria looks very well armed by a battery of virulence factors to escape the different defences that host may oppose. *Staphylococcus aureus* displays an arsenal to answer to defences such as antibodies, phagocytosis or cytotoxicity. Emerging infections caused by virulent strains in the community illustrate the genetic evolution and spreading of such strains via human activities.

This work is a contribution to the identification of *Staphylococcus aureus* strains responsible for hospital- born infection (suppuration) in the surgical ward A and characterization of 2 virulence factors and determination of CRP levels to assess the inflammation patients at the service.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, virulence factor, pathogenicity, nosocomial infection, coagulase, hemolysin

Liste des figures

Figure 1 : Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> en microscopie optique (A) et en microscopie électronique (B).....	03
Figure 2: Expression de facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	04
Figure 3 : La paroi bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i>	05
Figure 4: mode d'action des superantigènes (TSST-1, entérotoxines) de <i>Staphylococcus aureus</i>	13
Figure 5: Folliculite.....	14
Figure 6: Lésions d'impétigo.....	15
Figure 7: Furoncle.....	16
Figure 8: Cellulite extensive.....	16
Figure 9: Syndrome de la peau ébouillantée dû à l'épidermolysine A.....	19
Figure10 : kit CRP-LATEX.....	28
Figure 11: répartition des prélèvements dans le service de chirurgie A.....	31
Figure 12 : Aspect des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman.....	31
Figure 13 : Aspect des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> par coloration de Gram.....	32
Figure 14: Test de catalase.....	32
Figure 15: Type respiratoire.....	32
Figure 16: Recherche de la fermentation du mannitol et la mise en évidence de la mobilité	33
Figure 17 : Recherche de la coagulase.....	33
Figure 18 : Aspect des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose au sang.....	33

Liste des annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignements des malades du service de la chirurgie A.....	54
Annexe 2 : Prospectus de kit CRP-LATEX	59
Annexe 3 : Composition des milieux de culture utilisés.....	60

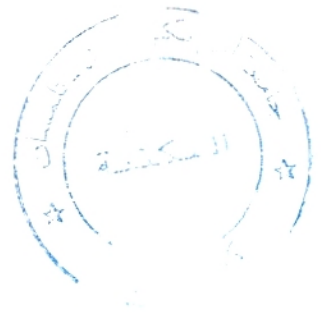


Table des matières

Introduction.....	I
1^{ère} partie : Synthèse bibliographique	
1. Généralité sur <i>Staphylococcus aureus</i>	01
1.1. Historique.....	01
1.2. Taxonomie.....	01
1.3. Habitat.....	01
1.4. Caractères bactériologiques.....	02
1.4.1. Caractères morphologique et structuraux.....	02
1.4.2. Caractères cultureux.....	02
2. Les facteurs de virulence.....	03
2.1. Les composantes de la paroi bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i>	04
2.1.1. Peptidoglycane.....	04
2.1.2. Acide téichoïque.....	05
2.1.3. Capsule.....	05
2.1.4. Biofilm.....	06
2.2. Les enzymes.....	06
2.2.1. Coagulase libre.....	06
2.2.2. Lipases.....	07
2.2.3. Hyaluronidase.....	07
2.2.4. Staphylokinase.....	07
2.2.5. Nucléase.....	08
2.2.6. Catalase.....	08

2.3. Les protéines de surface ou facteurs d'adhérence.....	08
2.3.1. La protéine A.....	08
2.3.2. La protéine de liaison au collagène (Cna).....	09
2.3.3. Les protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB).....	09
2.3.4. La protéine de liaison au fibrinogène (Clf).....	09
2.3.5. La protéine de liaison à l'élastine (EbpS).....	09
2.4. Les facteurs de virulence solubles.....	10
2.4.1. Toxines à activité membranaire.....	10
2.4.1.1. Alpha-hémolysine.....	10
2.4.1.2. Bêta-hémolysine.....	10
2.4.1.3. Gamma -hémolysine.....	10
2.4.1.4. Delta-hémolysine.....	11
2.4.1.5. Leucocidine de Panton-Valentine.....	11
2.4.2. Les superantigènes.....	12
2.4.2.1. Les entérotoxines.....	12
2.4.2.2. Toxine du choc toxique staphylococcique 1 (TSST-1).....	12
2.4.2.3. Mécanisme d'action.....	13
2.4.3. L'exfoliatines (ou épidermolysines).....	13
3. Épidémiologie.....	14
4. Le pouvoir pathogène de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
4.1. Infections suppuratives superficielles et profondes.....	15
4.1.1. Infections suppuratives superficielles.....	15
4.1.2. Infections suppuratives profondes.....	16
4.1.2.1. Pneumonie nécrosante.....	16

4.1.2.2. Bactériémie.....	16
4.1.2.3. Endocardite.....	16
4.1.2.4. Ostéomyélite et arthrites septiques.....	17
4.1.2.5. Méningite.....	17
4.2. Les infections toxémiques.....	17
4.2.1. Toxi-infections alimentaires.....	17
4.2.1.1. Gastroentérite staphylococcique.....	17
4.2.1.2. Entérocolites aiguës pseudo- membraneuses.....	18
4.2.2. Syndrome de la peau ébouillantée ou staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS).....	18
4.2.3. Syndrome de choc toxique staphylococcique (TSS).....	18
2^{ème} partie : Matériels et méthodes	
1. Matériels.....	20
1.1. Matériel biologiques.....	20
1.2. Prélèvements.....	20
1.2.1. Le choix de service.....	20
1.2.2. Patients et prélèvements.....	20
1.3. Milieux de culture.....	20
1.3.1. Milieux de cultures solides.....	20
1.3.2. Milieux de cultures liquides.....	21
1.4. Matériels utilisés.....	21
1.5. Réactifs.....	21
2. Méthodes.....	22
2.1. Prélèvements.....	22

2.2. Isolement et purification.....	22
2.3. Identification.....	22
2.3.1. Recherche de la catalase.....	23
2.3.1.1. Principe	23
2.3.1.2. Technique.....	23
2.3.2. Détermination du type respiratoire.....	23
2.3.2.1. Principe.....	23
2.3.2.2. Technique.....	24
2.3.4. Test de Mannitol mobilité.....	24
2.3.4.1. Principe.....	24
2.3.4.2. Technique.....	24
2.4. Recherche de facteur de pathogénicité.....	24
2.4.1. Recherche de la coagulase.....	24
2.4.1.1. Principe.....	25
2.4.1.2. Technique.....	25
2.4.2. L'hémolyse.....	25
2.4.2.1. Principe.....	25
2.4.2.2. Technique.....	26
2.5. Dosage de la protéine C réactive ou CRP.....	26
2.5.1. Intérêt du dosage.....	26
2.5.2. Valeurs normales.....	27
2.5.3. Variations pathologiques.....	27
2.5.4. Conditions de prélèvement.....	27
2.5.5. Principe.....	28

Introduction

Introduction

Staphylococcus aureus est l'espèce staphylococcique la plus couramment associée aux infections humaines (nosocomiales et communautaire acquise) (Liu *et al.*, 2007).

Elle est en effet caractérisée par le développement rapide, contrairement aux autres bactéries à Gram positif et par la dissémination inquiétante des souches multi-résistantes (Landraud et Lemichez, 2007).

Ce germe est un pathogène majeur de l'homme qui a la capacité d'entraîner un spectre très large d'infections suppuratives et de maladies toxiques. Malgré l'utilisation optimale d'antibiotiques efficaces, la morbidité et la mortalité des infections staphylococciques graves restent élevées. De nombreux efforts ont été entrepris pour mieux comprendre les infections à *Staphylococcus aureus*. Il est admis que certains facteurs liés à l'hôte (diabète, immunosuppression, etc.) sont des facteurs de risque de développer une infection grave. Toutefois, de très nombreux facteurs de virulence ont été identifiés et la plupart d'entre eux sont exprimés de façon fréquente par les isolats cliniques de *Staphylococcus aureus*.

L'acquisition de résistance, couplée à la possibilité d'acquérir des gènes codant des facteurs de virulence particuliers permet à *Staphylococcus aureus* d'être "bien armé" à la fois en termes d'épidémicité, mais également en termes de pouvoir pathogène pour l'homme. En conséquence, certains SARM, porteurs d'un arsenal de facteurs de virulence, diffusent dans le monde hospitalier, mais aussi en milieu communautaire, et peuvent être responsables d'infections sévères.

Dans un premier temps, le travail bibliographique de cette thèse permettra : (1) de lister les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* connus à ce jour, (2) de faire la lumière sur leurs mécanismes d'action et sur les connaissances concernant leur implication en pathologie humaine.

Le travail personnel se focalisera sur la caractérisation de pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus* ce qui permet d'envisager et de développer: (1) des outils diagnostiques afin de mettre en évidence leur présence, (2) de nouvelles thérapeutiques additionnelles à l'antibiothérapie dont le but est de bloquer leur action afin de limiter la sévérité de la maladie.

C'est dans cet ordre d'idée que nous avons proposé :

- Isolement et identification d'une collection de souches de *Staphylococcus aureus* à partir de services de chirurgie A du C.H.U. de Tlemcen.
- Recherche des facteurs de pathogénicité.
 - Coagulase
 - *L'hémolyse*
- Dosage de la protéine C réactive ou CRP

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur *Staphylococcus aureus*

1.1. Historique

Les staphylocoques ont été observés par Pasteur et Koch en 1877-78 à partir du pus et de furoncle (Corne, 2004). En 1880, Ogston faisait la première étude détaillée des staphylocoques et regroupait ces bactéries dans le genre *Staphylococcus* (Archer, 1998).

En 1884, Rosenbach était capable d'isoler ces bactéries et de produire une culture pure. Il décrivait *Staphylococcus aureus* à cause de l'apparence jaune-orangée ou doré des colonies (aureus signifie doré en latin) (van Belkum *et al.*, 2008)

1.2. Taxonomie (Brenner *et al.*, 2005; Prescott *et al.*, 2003)

Ces dernières années, l'analyse des séquences d'ARNr 16S a conduit à des remaniements importants quant à la position taxonomique du genre *Staphylococcus*, qui n'appartient plus à la famille des Micrococcaceae.

Domain : Bacteria

Phylum: Firmicutes

Classe: Bacilli

Ordre: Bacillales

Famille: Staphylococcaceae

Genre: *Staphylococcus*

Genre espèce : *Staphylococcus aureus*

1.3. Habitat

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'Homme et de l'animal. L'habitat préférentiel de *Staphylococcus aureus* chez l'Homme est la muqueuse nasale avec 10 à 40 % d'individus porteurs de façon permanente (et environ

60 % qui hébergent *Staphylococcus aureus* de façon intermittente) à une densité de 10^3 à 10^4 UFC/cm² (Foster, 2004; Sung *et al.*, 2008). Cette bactérie peut survivre longtemps dans le milieu extérieur (Daurel et Leclercq, 2008).

1.4. Caractères bactériologiques

1.4.1. Caractère morphologique et structuraux

Le terme staphylocoque dérive du grec "Staphyle", qui signifie grappe (Eveillard, 2007). Après coloration de Gram, les staphylocoques apparaissent comme des cocci à Gram positif de 0,5 à 1 µm de diamètre (Schneewind et Missiakas, 2008). Ils sont le plus souvent regroupés, par deux, par quatre (tétrades caractéristiques à l'examen direct), ou en petits amas (grappes) (figure 1). Ils sont immobiles, non sporulés et habituellement non capsulés (Li, 2005; Eveillard, 2007).

1.4.2. Caractères cultureux

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, cultivant facilement en 24 heures sur milieu ordinaire (gélose trypticase-soja supplémentée ou non en sang). *Staphylococcus aureus* peut également être cultivé en milieu sélectif hypersalé (Chapman). Les colonies observées après 24 heures d'incubation sont lisses, opaques, convexes et présentent un bord net. La pigmentation jaune à jaune-orangée n'est pas toujours apparente. Les colonies sont souvent bêta hémolytiques sur gélose au sang (Lee *et al.*, 1996; Eveillard, 2007).

Globalement, l'espèce *Staphylococcus aureus* peut être différenciée des autres staphylocoques par la présence simultanée d'une coagulase (le test de mise en évidence du coagulase libre est utilisé en routine), d'une activité catalase positive, d'une DNase et par la fermentation du mannitol. L'identification peut être faite par des galeries de tests biochimiques (ex. : API Staph, BioMérieux) (Bes et Brun, 2002; Morello *et al.*, 2003; Harvey *et al.*, 2007).

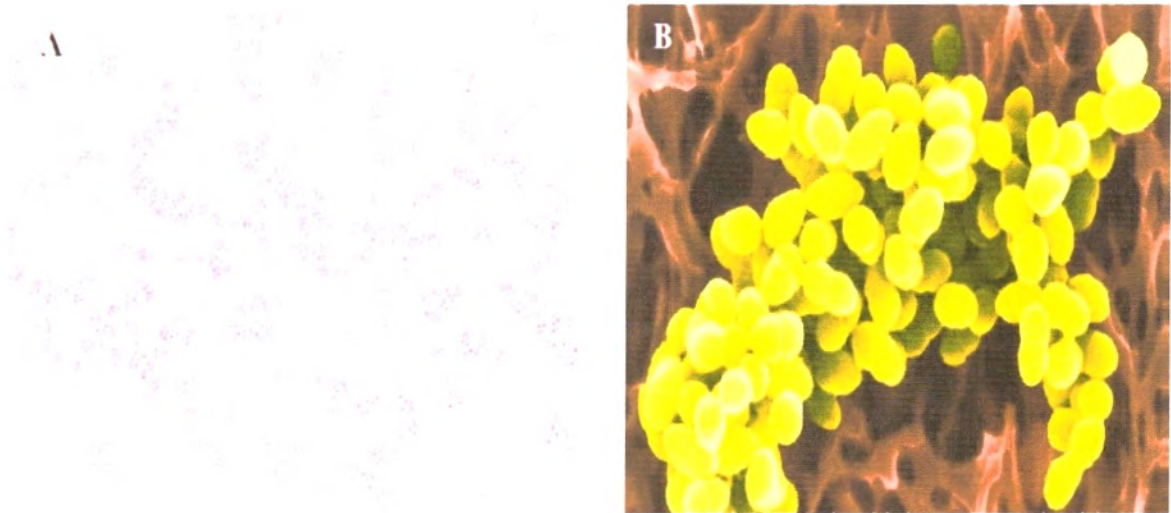


Figure 1 : Aspect de *Staphylococcus aureus* en microscopie optique (A) (X1000) et en microscopie électronique (B) (X15000).

La coloration Gram-positif (A) ainsi que la microscopie électronique (B) révèle une croissance de *Staphylococcus aureus* en amas. D'après (Gras, 2006)

2. Les facteurs de virulence

L'expression coordonnée des facteurs de virulence en fonction des signaux extracellulaires est contrôlée par un régulateur, le système *agr* (accessory gene regulator). À 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 (Eveillard, 2007).

Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* sont de deux types : les protéines de surface et les facteurs de virulence solubles. Ces facteurs de virulence ont chacun un rôle défini dans la colonisation et l'infection de l'hôte et sont synthétisés et/ou sécrétés à des moments différents en fonction de la phase de croissance bactérienne (figure 2) (Lowy *et al.*, 1998).

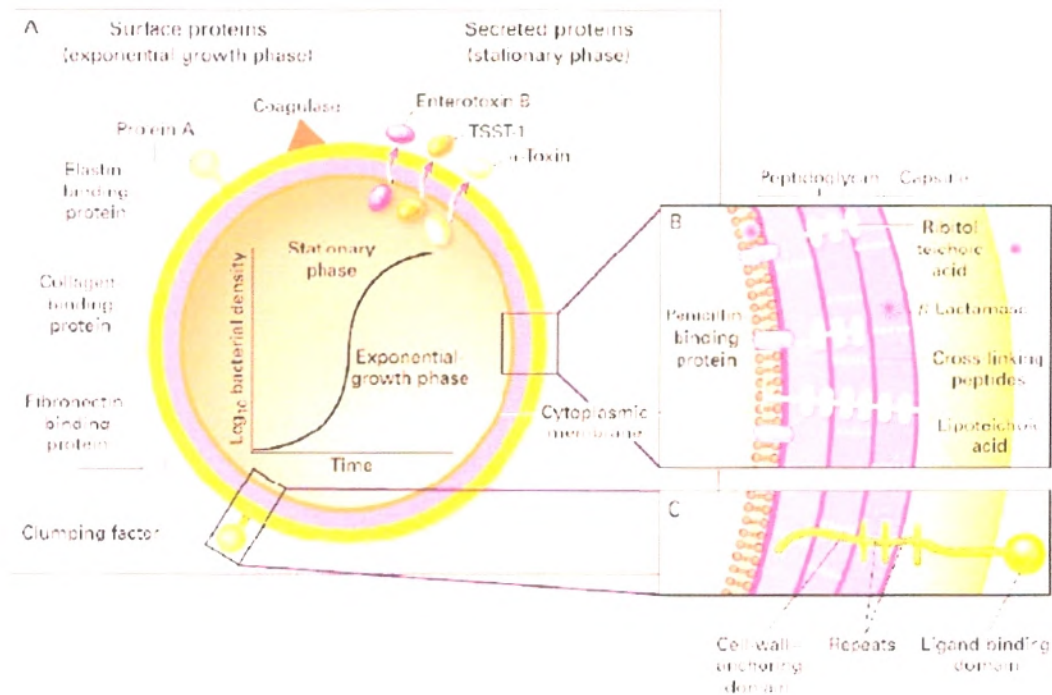


Figure 2: Expression de facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*

Le schéma A montre les principales protéines de surface et sécrétées de *Staphylococcus aureus*. La synthèse de ses protéines est dépendante de la phase de croissance de la bactérie comme le montre le graphique au centre. Les facteurs de virulence solubles sont principalement sécrétés au cours de la phase stationnaire de croissance. Les schémas B et C montrent des sections de l'enveloppe bactérienne. D'après (Lowy *et al.*, 1998)

2.1. Les composantes de la paroi bactérienne de *Staphylococcus aureus*

La paroi bactérienne de *Staphylococcus aureus* est caractéristique des bactéries à Gram positif. Elle est composée d'une grande variété de molécules aux fonctions multiples (figure 3). Elle confère à la bactérie un exosquelette rigide qui la protège contre une lyse mécanique ou osmotique et permet l'immobilisation de protéines de l'environnement bactérien à sa surface (D'Elia *et al.*, 2006; Gras, 2006).

2.1.1. Peptidoglycane

Le peptidoglycane (muréine) constitue 50 % de la paroi (figure 3). Son constituant polysaccharidique est formé de chaînes linéaires ou alternent la N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N-acétylmuramique (NAM) réunis par des liaisons osidiques β (1-4).

Ces chaînes sont reliées les unes aux autres par des ponts interpeptidique (pentaglycines) (Voet et Voet, 2005; Gründling et Schneewind, 2006).

Le peptidoglycane peut avoir une activité d'endotoxine, en stimulant la libération de cytokines par les macrophages, l'activation du complément et l'agrégation des plaquettes (Lowy, 1998; Levinson, 2008).

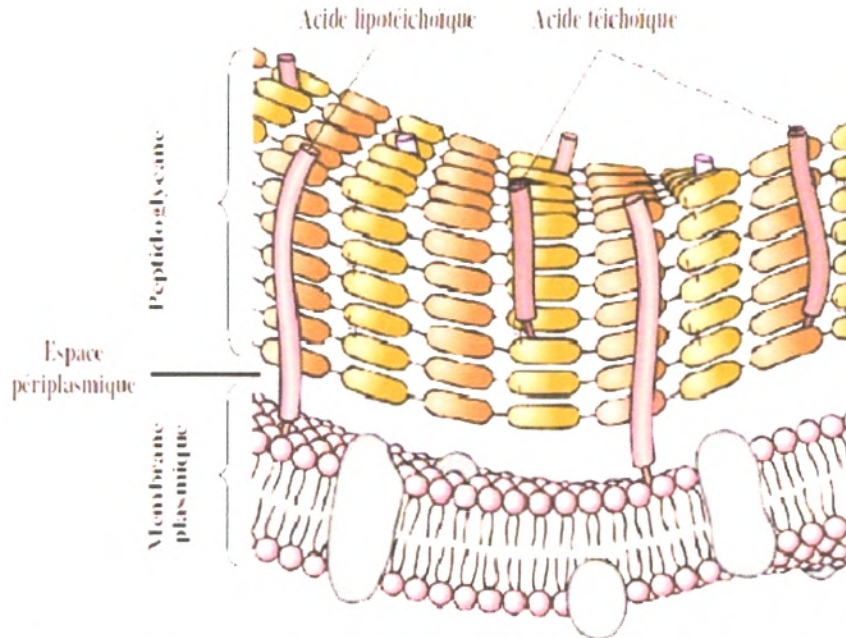


Figure 3 : La paroi bactérienne de *Staphylococcus aureus*. D'après (Prescott, 2003)

2.1.2. Acide téichoïque

Un second composant majeur de la paroi bactérienne est l'acide téichoïque. C'est un polymère de glycérol ou de ribitol reliés par des groupes phosphate. Il est relié au peptidoglycane ou directement aux lipides de la membrane plasmique (il est alors appelé acide lipotéichoïque (LTA)) (figure 3). *Staphylococcus aureus* est donc capable de coloniser l'hôte grâce en partie aux LTA qui vont se lier aux cellules épithéliales (Meredith *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2008).

2.1.3. Capsule

Les polysaccharides capsulaires sont des molécules de surface produites par 90 % des souches de *Staphylococcus aureus* (Luong et Lee, 2006). L'épaisseur de cette capsule varie considérablement d'une souche à l'autre, les capsules épaisses correspondant au

phénotype de colonie mucoïde (O’Riordan et Lee 2004). Onze sérotypes capsulaires ont été décrits (Seaman *et al.*, 2004), les sérotypes les plus fréquents parmi les isolats cliniques sont les sérotypes 5 et 8 (Tuchscherer *et al.*, 2005).

Les capsules de sérotypes 5 et 8 confèrent une résistance à l’opsonophagocytose, qui devient dépendante des anticorps, et augmentent la virulence des souches dans la plupart des modèles animaux (O’Riordan et Lee 2004; Lara *et al.*, 2005).

2.1.4. Biofilm

Les capacités d’adhésion des staphylocoques aux cellules humaines, aux matrices extracellulaires et aux corps étrangers sont des facteurs essentiels des processus de colonisation et d’infection (Higashi et Sullam, 2006; Jain et Agarwal, 2009), aboutissant à la formation de ces communautés structurées de cellules bactériennes entourées d’une matrice polymérique autoproduite et adhérant à une surface inerte ou vivante, que sont les biofilms (Batard *et al.*, 2007).

Les corps étrangers (cathéters intraveineux ou vésicaux, matériel ostéoarticulaire par exemple) forment de bons supports pour la formation de biofilms staphylococciques, mais ne sont pas indispensables à leur formation (Yarwood *et al.*, 2007). La croissance en biofilm confère en particulier aux bactéries une résistance aux antibiotiques et au système immunitaire (Corrigan *et al.*, 2007).

2.2. Les enzymes

2.2.1. Coagulase libre

La staphylocoagulase, ou coagulase libre, est une protéine extracellulaire thermostable caractéristique de *Staphylococcus aureus*, à l’exception de certaines souches staphylococcique d’origine animale telles que *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus delphini* qui possèdent également la coagulase (Langlet *et al.*, 1999). En absence de Ca²⁺, elle provoque la coagulation du plasma humain ou de lapin (prélevé sur citrate, oxalate, héparine ou EDTA) (Avril *et al.*, 1992).

La coagulase forme avec la prothrombine (coagulase -reacting factor : CRF) du plasma un complexe appelé staphylothrombine qui converti le fibrinogène en fibrine (Peacock, 2006).

C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et les protégeant de la phagocytose (les leucocytes ayant une mauvaise pénétration à l'intérieur des caillots de fibrine) (Tally,1999); elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées (Avril *et al.*, 1992).

2.2.2. Lipases

Une des façons dans laquelle les cellules hôtes répondent à une infection est la production des acides gras et des lipides, qui forme de petits trous dans la membrane bactérienne alors que *Staphylococcus aureus* produit des enzymes : lipases qui détruisent ses acides gras avant de causer des dommages au niveau de la membrane bactérienne (Freeman-Cook et Freeman-Cook, 2006).

2.2.3. Hyaluronidase

Cette enzyme extracellulaire thermolabile hydrolyse l'acide hyaluronique, substance fondamentale de la matrice du tissu conjonctif, se qui permet la diffusion tissulaire des *Staphylococcus aureus* (Makris *et al.*, 2004). Cette enzyme est produite uniquement dans la phase exponentielle de croissance (Pancholi, 2002).

2.2.4. Staphylokinase

La staphylokinase (SAK) est une glycoprotéine de 136 acides aminés sécrétée par certaines souches de *Staphylocoques aureus* (Alessi, 2000).

SAK facilite l'activation des plasminogène, les précurseurs de la protéase fibrinolytique plasmine (Jin Tao *et al.*, 2004). Elle forme un complexe avec le plasminogène, qui converti ainsi en plasmine, active d'autres molécules de plasminogène. Dans le plasma, cette enzyme peut dissoudre des amas de fibrine sans pour autant y associer une dégradation du fibrinogène (Deverriere, 2007).

Cette substance thermolabile est antigénique joue un rôle dans la formation d'embolus septiques (Avril *et al.*, 1992).

2.2.5. Nucléase

Les nucléases extracellulaires de *Staphylococcus aureus* sont thermostables (Hahn *et al.*, 2005). Cette enzyme constituée d'une seule chaîne de 149 d'acide aminé, activée par les ions de calcium, hydrolyse les liaisons phosphodiester d'ADN et d'ARN (Arvidson, 2006).

2.2.6. Catalase

La catalase transforme le peroxyde d'hydrogène en eau et pourrait contribuer à inhiber l'action destructrice des polynucléaires neutrophiles qui produisent des radicaux libres d'oxygène (Tally, 1999; Sanz *et al.*, 2000).

2.3. Les protéines de surface ou facteurs d'adhérence

Les « Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules » (MSCRAMM) qui sont en majorité ancrées aux peptidoglycanes de la paroi bactérienne, vont permettre la fixation de *Staphylococcus aureus* aux cellules (Chavakis *et al.*, 2007). Cinq groupes de protéines de surface ont été caractérisés au niveau moléculaire: protéine A, Cna (protéine de liaison au collagène), FnBP (protéine de liaison à la fibronectine), Clf (protéine de liaison au fibrinogène) et EbpS (protéine de liaison à l'élastine) (Palma *et al.*, 1999).

2.3.1. La protéine A

La protéine A est de 42 kDa présente dans plus de 90% des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* ((Palmqvist *et al.*, 2002; Gras, 2006). Elle est considérée comme une MSCRAMM particulière, car elle ne se lie pas à un élément de la matrice extracellulaire, mais au facteur de von Willebrand (Lowy, 1998) qui est une glycoprotéine présente dans le plasma et qui a un rôle dans l'agrégation plaquettaire (Foster et Hook, 1998). La protéine A peut de ce fait jouer le rôle d'une adhésine au début d'une infection intra-vasculaire (Doye, 2007). De plus, la protéine A est capable de se lier aux immunoglobulines. L'interaction protéine A-fragment Fc parti constant des immunoglobulines interfère avec l'opsonisation dépendante des anticorps (Glazer et Nikaido, 2007; Gustafssona *et al.*, 2009), tandis que

l'interaction protéine A-fragment Fab (partie variable) entraîne une activation polyclonale des lymphocytes B. La protéine A se comporte ainsi comme un superantigène pour les lymphocytes B (Goodyear et Silverman, 2003).

2.3.2. La protéine de liaison au collagène (Cna)

Les protéines du collagène étant des constituants majeurs de la matrice extracellulaire, elles représentent un site de choix pour l'ancrage de *Staphylococcus aureus* aux tissus. L'attachement au collagène est d'ailleurs nécessaire et suffisant pour l'adhérence de *Staphylococcus aureus* au cartilage in vitro (Switalski *et al.*, 1993).

2.3.3. Les protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB)

Staphylococcus aureus est une bactérie pour laquelle une adhérence spécifique à la fibronectine a été démontrée (FnBP : Fibronectin Binding Protein) (Gillespie et Bamford, 2000). Deux FnBP ont été identifiées, FnBPA et FnBPB. Ces deux récepteurs présentent des caractéristiques structurales communes (Boulanger *et al.*, 2006).

2.3.4. La protéine de liaison au fibrinogène (Clf)

La protéine de liaison au fibrinogène est encore appelée clumping factor (Clf) (Que *et al.*, 2001). C'est un récepteur pour le fibrinogène qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma (O'Brien *et al.*, 2002).

ClfA et ClfB sont codés par deux gènes distincts et reconnaissant deux régions différentes du fibrinogène (Entenza *et al.*, 2000).

2.3.5. La protéine de liaison à l'élastine (EbpS)

La protéine de liaison à l'élastine de *Staphylococcus aureus* (EbpS) est une protéine de 23 kDa associée à la surface cellulaire (Nakakido *et al.*, 2007). C'est une protéine transmembranaire intégrale. Elle se lie à la région N terminale de l'élastine qui est une région toujours libre (Downer *et al.*, 2002).

2.4. Les facteurs de virulence solubles

2.4.1. Toxines à activité membranaire

2.4.1.1. Alpha-hémolysine

L'alpha hémolysine, ou alpha-toxine est un polypeptide extracellulaire de 33 kDa sécrétés durant la phase stationnaire de la croissance des *Staphylococcus aureus* (Bayer *et al.*, 1997), elle est thermostable et antigénique (Avril *et al.*, 1992). Ces protéines ont une action cytotoxique sur de nombreux types de cellules mammifères, elle lyse les érythrocytes de lapin avec une sensibilité mille fois supérieure à celle des érythrocytes humains. Elle est aussi active sur d'autres cellules: lymphocytes T, les plaquettes, cellules endothéliales (Joubert, 2005).

Leurs effets sur l'hôte sont largement dus à la formation de pores dans la membrane permettant un passage d'ions à travers celle-ci, et provoquant donc une altération de l'équilibre des ions chez l'hôte (Deverriere, 2007). La cytolysse de plaquettes et de monocytes libère des cytokines et d'autres médiateurs de la réaction inflammatoire (Foster, 2008).

2.4.1.2. Bêta-hémolysine

La bêta-hémolysine est une exotoxine de 35kDa agis comme une sphingomyélinase de type C (Huseby *et al.*, 2007) qui dégrade la sphingomyéline contenue dans la couche phospholipidique extérieure de la membrane des érythrocytes. Cette dégradation n'aboutit pas à la lyse des cellules, mais les rend faciles à détruire par autres agents lytiques (Nilsson *et al.*, 1999).

On ne connaît pas réellement son rôle dans les pathologies humaines où elle détruit sélectivement les monocytes et aucun autre type cellulaire. La lyse des monocytes s'accompagne d'une libération d'IL-1 β et de récepteurs solubles de l'IL-6 (Walevi *et al.*, 1996).

2.4.1.3. Gamma -hémolysine

La gamma hémolysine rassemble deux toxines distinctes : HlgA-HlgB et HlgC-HlgB. Les deux composées de classe S (HlgA et HlgC) et le composé de classe F (HlgB) agissent en synergie. Elles induisent la formation de pores dans la membrane des cellules cibles. HlgA-HlgB a un large spectre d'activité alors que HlgC-HlgB ne lyse pas les lymphocytes T et est

moins actif sur les érythrocytes humains. La paire HlgC-HlgB est aussi cytolytique pour une grande variété de PNs et hémolytique pour les hématies de lapin seulement. La gamma hémolysine est produite par 99 % des souches cliniques de *Staphylococcus aureus*. (Joubert, 2005; Prévost *et al.*, 1995).

2.4.1.4. Delta-hémolysine

La delta-hémolysine, aussi appelée delta-lysine ou delta toxine, elle a été signalée en 1947 dans les souches de *Staphylococcus aureus* cultivés sur gélose de sang de mouton. La δ -hémolysine est un peptide de 26 acides aminés, peu hydrophobe et présentant une charge nette égale à zéro. Son mode d'action est basé sur une interaction directe avec les membranes cibles. Selon leur concentration, δ -hémolysine peut perturber un peu la membrane ou de conduire à la lyse cellulaire. Ce peptide est responsable de la lyse des érythrocytes et est également actif contre une large gamme de cellules et des organites (Prévost *et al.*, 2006; Verdon *et al.*, 2008).

2.4.1.5. Leucocidine de Panton-Valentine (LPV)

La leucocidine de Panton-Valentine est une exotoxine appartenant au groupe des toxines synergo-hyménotropes (Dubrous *et al.*, 2007). Cette toxine a été découverte en 1984 par Van de Velde. Panton et Valentine ont mis en évidence son activité leucotoxique en 1932 ainsi que son implication dans certaines infections cutanées (furoncles) (Clark, 2008), puis caractériser par Woodin comme étant composé de deux protéines nommées, sur la base de leur élution par chromatographie, F (fast eluted, 32 kDa) et S (slow eluted, 38 kDa) (Staali *et al.*, 1998). Elle est également associée à certaines infections des voies respiratoires : des pneumopathies communautaires de jeunes adultes (Joubert, 2005). Elle est antigénique et provoque la formation d'anticorps (Lina *et al.*, 1999).

C'est une cytotoxine dont le gène est porté par un bactériophage, entraînant une destruction leucocytaire par la modification de la perméabilité membranaire aux cations et une nécrose tissulaire par l'intermédiaire de la stimulation de la synthèse des médiateurs inflammatoires par les granulocytes (Joguet *et al.*, 2003).

Dans un premier temps, les protéines de classe S interagissent avec un récepteur membranaire, puis il y a fixation secondaire des protéines de classe F. Ces interactions séquentielles à la surface entraînent l'oligomérisation et l'insertion des deux protéines dans la membrane et la formation de pores (Pedelacq *et al.*, 2000). Ces pores entraînent une libération d'enzymes et de médiateurs de l'inflammation via un afflux calcique intracellulaire. Ils conduisent également à la lyse cellulaire (Libert *et al.*, 2008).

2.4.2. Les superantigènes

2.4.2.1. Les entérotoxines

Les entérotoxines staphylococciques (SE) sont des exoprotéines produites par *Staphylococcus aureus* agissant comme des superantigènes (Shupp *et al.*, 2002) de poids moléculaire 26 à 30 kDa. Il ya 7 sérotypes différents d'entérotoxines : A, B, C1, C2, C3, D et E (Ray, 2004) ainsi que les entérotoxines récemment découvertes G, H, I, J et K (Tsai et Li Chin 2009). Les entérotoxines sont responsables d'intoxication alimentaire et de syndrome de choc toxique (Orwin *et al.*, 2003). Ce sont des superantigènes puissants qui stimulent la prolifération non spécifique des cellules T (Deverriere, 2007).

Les entérotoxines sont résistantes aux protéases gastro-intestinales, telles que la pepsine, aussi bien qu'à la chaleur (Balaban et Rasooly, 2000). Les entérotoxines sont des protéines produites dans des aliments contaminés par un nombre suffisant de staphylocoques entérotoxigènes, en général, plus de 10^5 cellules/g. Cependant, les entérotoxines seraient détectables même à un niveau de *Staphylococcus aureus* faible (10^3 cellules/g) (Lamprell, 2003).

2.4.2.2. Toxine du choc toxique staphylococcique 1 (TSST-1)

La toxine du choc toxique staphylococcique 1 (TSST-1) est une exoprotéine pyrogène de 22 kDa (See et Chow, 1992; Yarwood et Schlievert, 2000), d'origine chromosomique (Floret, 2000). La production de cette toxine est stimulée en conditions aérobies alors que l'anaérobiose l'inhibe (Lee Wong et Bergdoll, 1990). Cette toxine agit comme un superantigène qui va entraîner une activation polyclonale non spécifique des lymphocytes T. Ses derniers vont libérer brutalement et massivement des cytokines pro-inflammatoires responsables des signes de syndrome du choc toxique (Corne, 2004).

2. 4.2.3. Mécanisme d'action (Figure 4)

Un superantigène est une protéine bactérienne capable d'établir une interaction entre la molécule de CMH de classe II du macrophage et la chaîne V-bêta du récepteur cellulaire des lymphocytes T (TCR), mais au niveau de sites externes à celui de l'antigène et avec une affinité importante (Thomas *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2008).

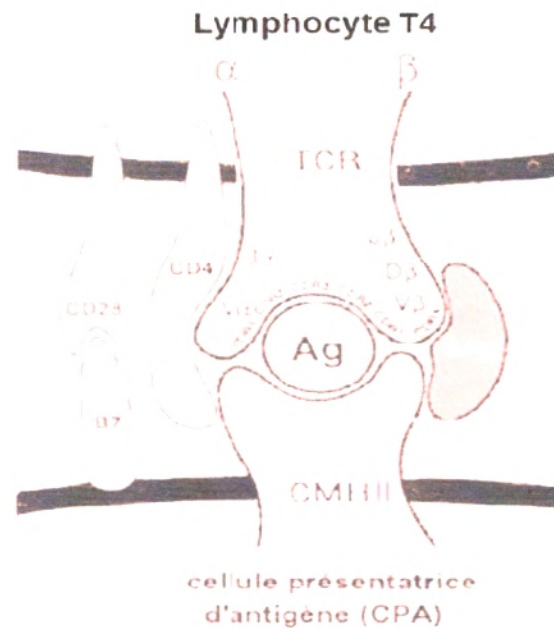


Figure 4: mode d'action des superantigènes (TSST-1, entérotoxines) de *Staphylococcus aureus*. D'après (Vincenot *et al.*, 2008)

2.4.3. L'exfoliatines (ou épidermolysines) :

L'exfoliatine A et B (ETA et ETB) sont des toxines produites par *Staphylococcus aureus* causant le syndrome de scalded-skin ou le syndrome de la peau ébouillantée (Sakurai *et al.*, 2004) des nouveau-nés et des jeunes enfants, cette condition peut apparaître quelques heures après la naissance (Cavarelli *et al.*, 1997). Ces toxines hydrolysent la desmogléine-1 humaine (Koning *et al.*, 2003). Cette glycoprotéine du desmosome est impliquée dans l'adhésion intercellulaire au sein du derme superficiel. Le clivage de la desmogléine-1 par les toxines exfoliatives interrompt les ponts intercellulaires, aboutissant à la formation de bulles (Batard *et al.*, 2007). Le gène codant le sérotype A est chromosomique (90% des

exfoliatines) et celui codant le sérotype B est plasmidique (4 à 5%). Les 2 sérotypes peuvent être produits par une même souche (Avril *et al.*, 1992).

3. Épidémiologie

Les facteurs de risque de portage de *Staphylococcus aureus* sont le sexe masculin, le diabète, les infections sur cathéters chez les patients hémodialysés, les infections du site externe de dialyse chez les patients en dialyse péritonéale, les hépatopathies chroniques, l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les infections cutanées par *Staphylococcus aureus*, certaines dermatoses chroniques (psoriasis, eczéma), l'obésité et les antécédents neurovasculaires (Ladhani, 2006; Batard *et al.*, 2007). En réanimation, le portage nasal est également un facteur de risque d'infection et d'autant plus s'il s'agit de SARM (Garrouste-Orgeas *et al.*, 2001).

Staphylococcus aureus est impliqué dans 19 à 25 % des bactériémies, 20 à 25% des pneumonies, 32 à 44% des infections cutanées et des tissus mous. *Staphylococcus aureus* est la première cause de pneumopathies nosocomiales et d'infections post-opératoires et la deuxième cause de bactériémies nosocomiales. En réanimation, *Staphylococcus aureus* est impliqué dans 30 % des infections nosocomiales (Corne, 2004).

La situation épidémiologique a considérablement changé au cours des quatre dernières décennies : des souches hypervirulentes ont émergé, responsables de chocs toxiques et de pneumonies nécrosantes gravissimes (Gillet *et al.*, 2002).

Staphylococcus aureus a développé des résistances à la plupart des antibiotiques mis sur le marché, en particulier la méthicilline (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ou SARM) et plus récemment les glycopeptides (*Staphylococcus aureus* intermédiaire aux glycopeptides ou GISA) faisant craindre l'émergence des souches résistantes à tous les antibiotiques connus (Hiramatsu *et al.*, 2002).

4. Le pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus*

Les infections par *Staphylococcus aureus* sont caractérisées d'une part par le caractère destructif, profond et suppuré de la porte d'entrée ou des foyers métastatiques, la rapide dissémination des métastases septiques et l'existence de signes généraux marqués, et

d'autre part la possibilité d'une persistance prolongée plusieurs dizaines d'années (Proctor *et al.*, 1998).

Staphylococcus aureus peut être responsable de deux types d'infections: les infections suppuratives et les toxémies staphylococciques.

4.1. Infections suppuratives superficielles et profondes

Les infections suppuratives sont caractérisées par plusieurs phases : la prolifération bactérienne, l'invasion, la destruction tissulaire, la réponse inflammatoire locale et parfois systémique. Les facteurs de virulence impliqués sont les protéines de surface qui initialisent la colonisation des tissus de l'hôte et les facteurs qui inhibent la phagocytose par les leucocytes (Lowy, 1998). Le staphylocoque est présent dans le site infectieux et le patient guérit de l'infection après élimination de la bactérie (Jarraud *et al.*, 2002).

4.1.1. Infections suppuratives superficielles

Les infections à *Staphylococcus aureus* les plus fréquentes sont les infections cutanéomuqueuses telles que les folliculites (infection limitée au follicule pileux) (Habif *et al.*, 2008), impétigo (lésions superficiel de la peau des jambes ou de la face), furoncles (infection nécrotique profonde du follicule pileux), anthrax (groupe de furoncles), panaris, cellulites ou les sinusites et les otites, conjonctivites, mastites (chez les femmes qui allaitent) et les voies urinaires (pyélonéphrites avec ou sans abcès, et prostatites) (Kayser, 2005; Winn *et al.*, 2005).



Figure 5: Folliculite.

D'après (Zribi et Descamps, 2006)



Figure 6: Lésions d'impétigo.

D'après (Mazereeuw-hautier, 2006)



Figure 7: Furoncle

D'après (Talaro et Talaro, 2002)



Figure 8: Cellulite extensive

D'après (Gergelé, 2007)

4.1.2. Infections suppuratives profondes

4.1.2.1. Pneumonie nécrosante

La pneumonie nécrosante à *Staphylococcus aureus* producteur de la leucocidine de Panton et Valentine (LPV) est décrite depuis de nombreuses années (Laporte *et al.*, 2006), elle touche des sujets immunocompétents en parfaite santé (Libert *et al.*, 2008).

Sur le plan anatomopathologique, il existe une hémorragie alvéolaire massive avec nécrose; l'infiltrat inflammatoire est absent ou minime. Elle survient souvent dans les suites d'un épisode grippal, et évolue rapidement vers la détresse respiratoire (Gillet *et al.*, 2002; Gonzalez *et al.*, 2003). La mortalité est importante, évaluée à 75 % (Gillet *et al.*, 2000).

4.1.2.2. Bactériémie

Une bactériémie à *Staphylococcus aureus* impose la recherche d'une porte d'entrée, qui est le plus souvent cutanée ou liée à un cathéter intravasculaire, et de localisations septiques métastatiques. En l'absence de porte d'entrée, il faut suspecter une endocardite (Batard *et al.*, 2007).

4.1.2.3. Endocardite

La plupart des endocardites à *Staphylococcus aureus* surviennent sur une valve native. Les endocardites à *Staphylococcus aureus* sur valve native, chez les patients non

toxicomanes par voie intraveineuse, sont localisées dans 90 % des cas au cœur gauche. *Staphylococcus aureus* est l'agent de 80 % des endocardites tricuspidiennes (cœur droit), qui sont l'apanage des toxicomanes par voie intraveineuse, et accessoirement des thrombophlébites sur cathéter intraveineux ou intracardiaque (Hecht et Berger, 1992; Lagier *et al.*, 2008).

4.1.2.4. Ostéomyélite et arthrites septiques

L'ostéomyélite aiguë est une affection de l'enfant ou de l'adolescent: elle touche classiquement les os longs et peut devenir chronique. Les infections osseuses staphylococciques post-chirurgicales sont très préoccupantes (Avril *et al.*, 1992). Les symptômes d'ostéomyélite incluent la fièvre, des frissons, des douleurs, et des spasmes musculaires (Talaro et Talaro, 2002). L'Arthrite septique (inflammation des articulations) résulte d'une contamination après chirurgie ou traumatisme ou par des ulcères comme celles produites dans le diabète (Stumpe et Strobel, 2009).

4.1.2.5. Méningite

Les méningites peuvent se produire, soit par contiguïté à partir d'une sinusite ou après un traumatisme facial, soit par voie hématogène, par exemple à partir d'une endocardite (Kayser, 2005).

4.2. Les infections toxémiques

Les infections non suppuratives sont dites toxiques, car c'est la toxine sécrétée par le staphylocoque qui cause les symptômes (Jarraud *et al.*, 2002).

4.2.1. Toxi-infections alimentaires

4.2.1.1. Gastroentérite staphylococcique

C'est la plus fréquente des toxi-infections alimentaires. Elle réalise des intoxications alimentaires collectives survenant 1 à 6 heures après l'ingestion d'aliments contaminés par *Staphylococcus aureus* produisant des entérotoxines thermostables.

Les patients présentent des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales souvent suivies de diarrhées aqueuses (Bremer *et al.*, 2004).

4.2.1.2. Entérocolites aiguës pseudo- membraneuses

Ces entérocolites aiguës d'évolution sévère (plus rare) font partie de la pathologie nosocomiale au cours d'une antibiothérapie à large spectre, la maladie se manifeste par une diarrhée intense et déshydratation rapide d'évolution fatale (Gaillard *et al.*, 1988).

4.2.2. Syndrome de choc toxique staphylococcique (TSS)

Cette maladie est associée à une infection ou une colonisation de *Staphylococcus aureus* sécrétant la TSST-1. Les entérotoxines (C en particulier) peuvent également être impliquées (Floret, 2001; Hrstka *et al.*, 2006). Ce syndrome associe une fièvre élevée, une éruption cutanée scarlatiniforme, de la diarrhée et une hypotension accompagnée de signes de défaillance polyviscérale (Dinges *et al.*, 2000). Il entraîne une certaine mortalité. Il peut s'observer dans deux circonstances. Dans la première, le syndrome survient pendant les règles chez des femmes utilisant des tampons hyperabsorbants (Colonisation vaginale par *Staphylococcus aureus* facilitée par le port de tampon hyperabsorbants) (Parsonnet *et al.*, 2005). Dans la seconde, il s'agit des sujets de l'un de l'autre sexe présentant une suppuration localisée à *Staphylococcus aureus* (Production locale d'exotoxine superantigénique TSST-1 ou d'entérotoxine) (Nauciel et Vildé, 2005).

4.2.3. Syndrome de la peau ébouillantée ou staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS)

Ce syndrome est induit par les exfoliatines produites par *Staphylococcus aureus* (Ladhani et Evans, 1998). Dans le syndrome de la peau ébouillantée, le décollement cutané se fait par clivage de la partie superficielle de l'épiderme au niveau de la couche granuleuse (figure 9) (Yamasaki *et al.*, 2005). Cliniquement, le syndrome de la peau ébouillantée se rencontre chez l'enfant, parfois chez l'adulte immunodéprimé ou insuffisant rénal. Le foyer staphylococcique peut être ORL, conjonctival ou cutané (Ladhani et Evans, 1998).

La maladie débute par de la fièvre et un exanthème scarlatiniforme dominant au visage (Morel, 2001). Les muqueuses ne sont habituellement pas atteintes. La guérison survient en 6 à 12 jours. Les complications sont rares et la mortalité très faible (Floret, 2000).

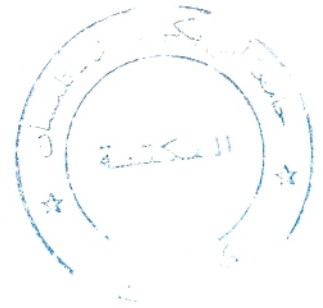


Figure 9: Syndrome de la peau ébouillantée dû à l'épidermolysine A.
D'après (Talaro et Talaro, 2002).

Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel biologiques

- 100 souches de *Staphylococcus aureus* isolées de CHU de Tlemcen.
- Souche de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 (centre de recherche).

1.2. Prélèvements

1.2.1. Le choix de service :

Le service ciblé pour la réalisation du prélèvement est :

- Service chirurgie A du CHU de Tlemcen.

1.2.2. Patients et prélèvements :

Notre étude a porté sur 125 patients hospitalisés dans le service de chirurgie A du CHU Tlemcen, durant 2 mois; allant de 12 mai jusqu'à 18 juillet 2009. Les prélèvements ont concernés les plaies suppurés de patients ayant subis une intervention chirurgicale (**Annexe 1**). Cette population possède une tranche d'âge allant de 17 à 85 ans ; il faut signaler que la durée d'hospitalisation varie considérablement d'un cas à un autre. Le taux de prévalence peut être calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Le taux de prévalence} = \frac{\text{Nombre d'individu infecté}}{\text{Nombre totale d'individus}} \times 100$$

1.3. Milieux de culture

1.3.1. Milieux de cultures solides :

- Gélose Chapman
- Gélose nutritive
- Gélose au sang
- Gélose viande foie

- Gélose mannitol mobilité

1.3.2. Milieux de cultures liquides :

- Bouillon de Giolitti-Cantoni
- Bouillon cœur-cervelle (BHIB)
- Bouillon nutritif
- Eau physiologique

1.4. Matériels utilisés

- Ecouvillons
- Tubes à essai
- Tubes à hémolyse
- Boîtes de Pétri
- Lames
- Eau oxygénée
- Micropipettes
- Pipettes pasteur
- Microplaque
- Anse de platine
- Plasma citraté

1.5. Réactifs

- Tellurite de potassium

2. Méthodes

2.1. Prélèvements

Cents vingt cinq prélèvements ont été réalisés par la technique d'écouvillonnage à partir des plaies infectées et sains.

Les écouvillons sont placés dans des tubes contenant 5 ml de Giolitti et Cantoni additionnés de 5 gouttes de tellurite de potassium et incubés 18 à 24 heures à 37°C.

2.2. Isolement et purification

L'isolement sera réalisé sur bouillon Giolitti et Cantoni plus le tellurite de potassium réparti a raison de 5 ml par tube et incubé 18 à 24 heures à 37°C.

Staphylococcus aureus réagit avec le tellurite de potassium en donnant une couleur noire (Singleton, 2005).

En cas de présence de précipité noir l'ensemencement se fait sur gélose Chapman par la technique d'épuisement puis incubé 24 heures à 37°C (Joffin et Leyral, 2001).

La purification est obtenue par repiquage successif sur bouillon Giolitti et Cantoni puis sur gélose Chapman.

Staphylococcus aureus donne des colonies jaunes de 1 à 2 µm de diamètre dégradant le mannitol en acide lactique sur Chapman (acidification du milieu) (Bégué et Astruc, 1999).

2.3. Identification

La pureté des souches est vérifiée par la coloration de Gram pour sélectionner les cocci à Gram positif, regroupées en amas ou grappe de raisin.

- L'identification a été réalisée par les tests suivants :

2.3.1. Recherche de la catalase

2.3.1.1. Principe

Certaines réactions métaboliques aboutissent, dans les conditions de l'aérobiose, à la production de peroxyde d'hydrogène (= eau oxygénée ou H₂O₂). Mais ce composé peut être le produit de la chaîne respiratoire.

Cependant, ce peroxyde d'hydrogène doit être éliminé. C'est en effet un poison cellulaire. Sa décomposition dans l'organisme microbien peut être réalisée soit par des peroxydases, soit par la catalase (la peroxydase ayant toutefois une activité plus faible). En absence de système enzymatique destructeur, la vie en aérobie devient généralement impossible : les micro-organismes sont alors anaérobies strictes (Guillaume, 2004).

2.3.1.2. Technique

La catalase est une enzyme catalysant la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) en eau et oxygène : $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$

À partir de la croissance présente sur la gélose de propagation, effectuée une suspension dense de la souche bactérienne sur une lame de microscope et ajouté 1 ou 2 gouttes de la solution de peroxyde d'hydrogène. L'effervescence qui en résulte indique la présence de catalase (réaction positive).

2.3.2. Détermination du type respiratoire

2.3.2.1. Principe

Le milieu d'étude est une gélose viande-foie (VF), elle est répartie en tube étroits (tubes à prévôt) dont le diamètre est deux fois plus petit que la normale et dont le rapport surface de contact avec l'air/volume du milieu est inférieur à 0,1 (Joffin et Leyral, 2001).

2.3.2.2. Technique

- Régénérer la gélose pendant environ 30 min au bain bouillant,
- Ensemencer à l'aide d'une pipette pasteur fermée et charger en remontant en spirale, le tube VF étant maintenu en surfusion vers 45°C.
- Solidifier la gélose puis étuver. (**Marchal *et al.*, 1991**)

Une culture dans toute la partie ensemencée quelle que soit la concentration en oxygène signifie le type respiratoire des staphylocoques : aéro-anaérobies.

2.3.4. Test de Mannitol mobilité

2.3.4.1. Principe

Ce test permet de mettre en évidence l'utilisation du mannitol et la mobilité (**Joffin et Leyral, 2001**).

2.3.4.2. Technique

- Ensemencer la colonie à étudier dans un bouillon cœur- cervelle (BHIB), et l'incubation se fait à 37°C pendant 24h et cela afin de permettre à la bactérie de synthétiser les flagelles nécessaires à son déplacement.
- Le milieu est ensemencé par piqûre centrale unique, ce qui permet d'apprécier en plus de l'utilisation du mannitol, la mobilité du germe.

Cette réaction se traduit par l'acidification du milieu et donc virage au jaune indiquant la dégradation du mannitol en acide lactique, la mobilité se traduit par le pouvoir d'envahissement (**Couture, 1990**).

2.4. Recherche de facteur de pathogénicité

2.4.1. Recherche de la coagulase

2.4.1.1. Principe

Ce test sert à déterminer si la bactérie est capable de coaguler le plasma par l'action de l'enzyme coagulase. Ce test est un critère absolu d'identification de *Staphylococcus aureus* (Guillaume, 2004).

2.4.1.2. Technique

- Ajouter 0.5 ml du plasma dans un tube contenant 0.5ml de culture BHIB additionné de la souche à tester.
- Le tube est maintenu à 37°C et examiné après 1, 2, 3, 4 et 24h pour voir si un caillot s'est formé.
- La coagulase déclenche la conversion du fibrinogène du plasma en fibrine et forme le caillot (Singleton, 2005).

Si le fibrinogène soluble dans le plasma, se transforme en fibrine solide, un caillot se formera au fond du tube indiquant la présence de *Staphylococcus aureus* (Larpen et Gourgaud, 1997).

2.4.2. L'hémolyse

2.4.2.1. Principe

L'hémolyse, ou lyse des hématies, est due à la rupture de leur membrane plasmique, souvent sous l'action de phosphatidyl-choline estérase des bactéries et sous l'action de molécules provoquant la formation de pores membranaires (hémolysine) (Denis *et al.*, 2007). Ce phénomène libère de l'hémoglobine qui est ensuite plus ou moins digérée. Si la digestion est totale, la couleur rouge disparaît et on observe une zone éclaircie (hémolyse partielle), voir incolore (hémolyse complète) autour de la colonie. On parle alors d'hémolyse β . La digestion peut être incomplète et il se forme des produits verdâtres ou marron et on parle d'hémolyse α (Prescott, 2003).

On distingue donc :

- Les germes à hémolyse β complète et hémolyse β partielle.
- Les germes à hémolyse α .
- Les germes non hémolytiques (parfois improprement appelée hémolyse gamma).

2.4.2.2. Technique (Guillaume, 2004)

Préparation de la gélose au sang :

- Liquéfier au bain-marie bouillant la gélose Mueller Hinton (desserrer les bouchons des tubes).
- La maintenir à 45°C.
- Déposer dans la boîte 1ml de sang, bien réparties.
- Rajouter par-dessus, 20ml de la gélose en surfusion.
- Homogénéiser par des mouvements lents de rotation.
- Laisser sécher à l'étuve.
- Ensemencer par épuisement.

2.5. Dosage de la protéine C réactive ou CRP

2.5.1. Intérêt du dosage

La C réactive protéine (CRP) a été découverte (~1930) lors de la phase aiguë d'une infection à pneumocoques, car elle réagissait avec le polysaccharide C du pneumocoque, d'où son nom « C-reactive protein » (Mauri *et al.*, 2005). C'est une protéine qui reflète l'inflammation aiguë ; elle s'élève très rapidement au cours de processus inflammatoires et permet un diagnostic différentiel entre certaines pathologies (Oudou, 2006).

Elle apparaît dans le sérum, deux à six heures après le début du phénomène inflammatoire, sa concentration augmente progressivement dans les 24 à 48 heures et sa synthèse par les hépatocytes continue tant qu'il y a évolution du processus inflammatoire.

Par contre, du fait de sa demi-vie courte, elle décroît et disparaît dès que le processus inflammatoire s'arrête (**Kushner *et al.*, 1963**)

Son élévation permet le diagnostic précoce des infections bactériennes néo-natales et des complications infectieuses après une intervention chirurgicale. L'évolution de son taux permet aussi d'apprécier l'efficacité d'un traitement antibiotique. Après 24 à 48 heures de traitement antibiotique efficace, son taux doit diminuer. S'il ne diminue pas, cela signifie que le traitement n'est pas efficace (**Emile, 2007**).

La CRP initie l'opsonisation et la phagocytose des cellules qui ont pénétré dans l'organisme, mais son rôle principal réside avant tout dans la fixation et la neutralisation de substances toxiques endogènes provenant de lésions cellulaires (**Evrard *et al.*, 2005**).

2.5.2. Valeurs normales

En dehors de toute inflammation la CRP est inférieure à 6 mg/l.

2.5.3. Variations pathologiques

Plusieurs évènements entraînent une augmentation de la CRP : les traumatismes et brûlures, la chirurgie, les nécroses tissulaires, les cancers et les maladies inflammatoires (**Neumaier et Scherer, 2008**). Elle s'élève fortement en cas d'infection bactérienne et modérément en cas d'infection virale, parasitaire ou mycobactérienne (**Mauri *et al.*, 2005**).

2.5.4. Conditions de prélèvement

- Cinq prélèvements de sang veineux (en général au pli du coude) ont été recueillis sur tubes à hémolyse sec.
- Centrifuger le sang à 3 000 tr/min pendant 15 minutes puis récupérer le sérum pour doser la CRP.

2.5.5. Principe

Les particules de CRP-Latex sont recouvertes d'anticorps anti-CRP humaine.

Le réactif CRP-latex est standardisé pour détecter des taux de CRP dans le sérum aux environs de 6 mg/L, taux considéré comme étant la plus petite concentration ayant une signification clinique.

Le mélange du réactif latex avec le sérum contenant la CRP conduit à une réaction antigène-anticorps qui se traduit par une agglutination facilement visible dans les 2 minutes.

La présence ou l'absence d'agglutination visible indique la présence ou l'absence de CRP dans le spécimen (Tillett et Francis, 1930)

2.5.6. Réactifs

- Lame pour agglutination réutilisable

- Réactif **CRP-Latex** :

Suspension de particules de polystyrène recouvertes d'anticorps anti-CRP (origine chèvre).

- **Contrôle Positif** :

Sérum humain contenant de la CRP.

- **Contrôle Négatif** :

Sérum humain exempt de CRP.



Figure10 : kit CRP-LATEX

2.5.7. Technique (selon le prospectus de kit CRP-LATEX : Annexe 2)

2.5.7.1. Méthode qualitative

- 1- Avant emploi, attendre que les réactifs soient à température ambiante
- 2- Tester le réactif avec les contrôles positif et négatif
- 3- Déposer une goutte (50 µl) de contrôle positif sur un cercle de la plaque
- 4- Déposer une goutte (50 µl) de contrôle négative sur un cercle de la plaque
- 5- A l'aide d'une micropipette, Déposer une goutte de sérum non dilue à analyser sur un autre cercle de la plaque.
- 6- Homogénéiser le réactif¹ par une légère agitation pour disperser les particules de latex.
- 7- Ajouter une goutte de réactif 1 (CRP Latex) à coté des gouttes précédentes.
- 8- Mélanger à l'aide d'une pipette à usage unique les deux gouttes et reparti le mélange sur la totalité de la surface du cercle de test.
- 9- Maintenir une agitation rotative manuelle, et observer à l'oeil nu, l'apparition ou l'absence d'agglutination au bout de 2 minutes exactement, pour éviter les phénomènes d'évaporation pouvant conduire à une erreur d'interprétation (faux positifs).
- 10- A la fin du test, rincer la plaque et sécher à l'air.

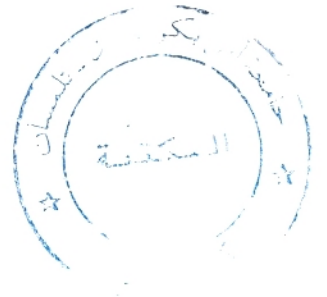
2.5.7.2. Méthode semi-quantitative

Le test semi-quantitatif a été effectué selon le même mode opératoire que le test qualitatif en réalisant des dilutions du sérum à analyser dans l'eau physiologique comme suit :

Préparer les dilutions dans une microplaque (Tableau):

Dilutions	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Sérum	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL
eau physiologique (diluant)	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL
	→	50µL →	50µL →	50µL →	50µL →	50µL →	50µL →
Testez chaque dilution selon la procédure qualitative et à observer l'agglutination.							
Calculer les résultats selon la formule suivante :							
6 (Seuil de détection) x N° de la dilution	6 x 2	6 x 4	6 x 8	6 x 16	6 x 32	6 x 64	6 x 128

Résultats et discussion



1. Prélèvement

Cents souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolées de service de chirurgie A (Figure 11). Ce nombre important de souches isolées dans ce service pourrait être expliqué d'une part par le nombre de malades recrutés dans ce service et d'autre part par le niveau de contamination. La prévalence est égale à 80%.

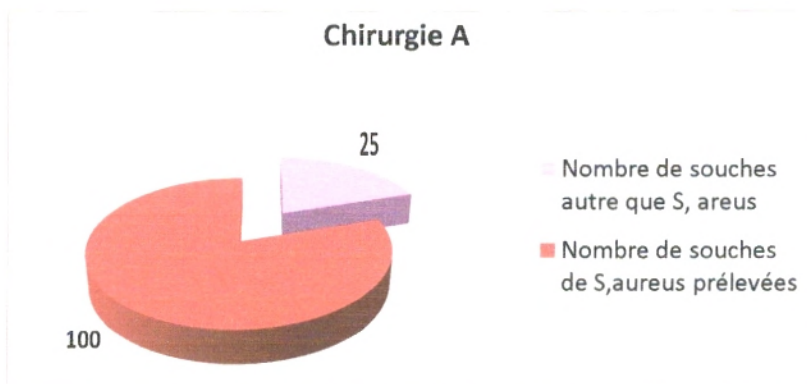


Figure 11: répartition des prélèvements dans le service de chirurgie A.

2. Identification

L'étude bactériologique nous a permis d'isoler 100 souches qui se sont avérées cocci à Gram positif, immobiles, aéro-anaérobie facultative possédant une catalase et une coagulase ; ce qui a permis de les assigner à l'espèce *Staphylococcus aureus* (Figures 12 à 15).

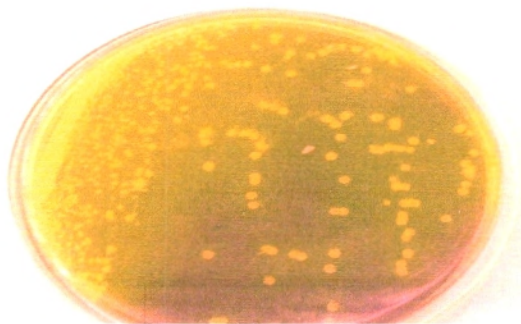


Figure 12 : Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman.



Figure 13 : Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* par coloration de Gram



Figure 14: Test de catalase : apparition de bulles d'oxygène, l' H_2O_2 est donc dégradé en H_2O et $\frac{1}{2} \text{O}_2$

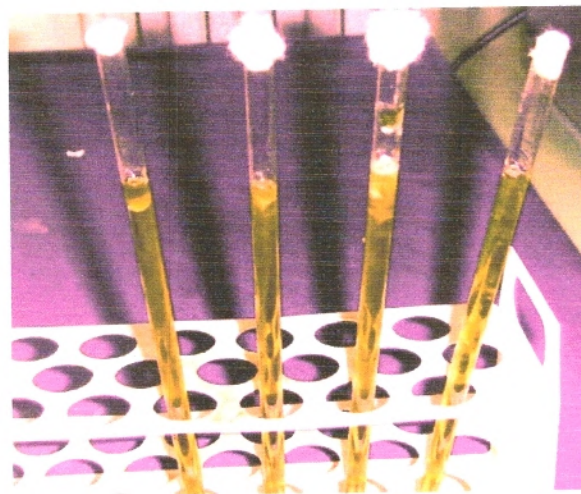


Figure 15: Type respiratoire : culture sur toute la hauteur du tube. La bactérie est capable de se développer en présence et en absence d' O_2 .

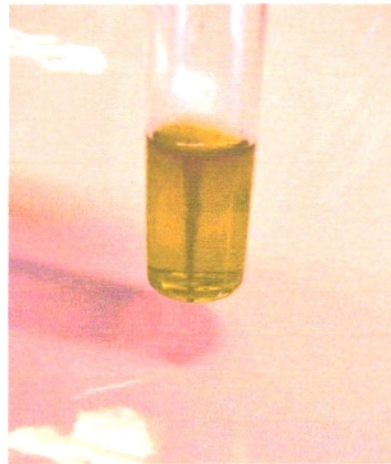


Figure 16: Recherche de la fermentation du mannitol et la mise en évidence de la mobilité: virage du rouge du phénol révèle l'acidité du milieu, la bactérie a fermenté le mannitol, il y a des colonies seulement le long de la piqûre centrale, la bactérie ne s'est pas déplacée pour coloniser le milieu, elle est donc immobile.

3. Recherche de facteur de pathogénicité

3.1. Recherche de la coagulase



Figure 17 : Recherche de la coagulase : il y a formation d'un coagulum de fibrine, le fibrinogène (soluble) a donc était transformée en fibrine (insoluble).

3.2. L'hémolyse

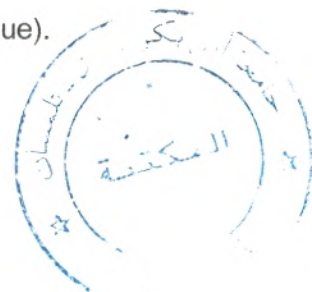
Le test d'hémolyse a permis de confirmer que nos souches sont bêta hémolytiques



Figure 18 : Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* sur gélose au sang

Dans le cas de staphylococcus, on sait depuis longtemps que les souches isolées de lésion grave appartient en générale à l'espèce aureus, qui se distingue des autres espèces par la sécrétion d'une coagulase, enzyme coagulant le plasma. Le fait que les staphylocoques coagulase positive soient, épidémiologiquement parlant, plus virulent, suggère que la coagulase est un facteur important dans la pathogénie des infection staphylococcique, mais cela ne la prouve pas. A ce niveau de la recherche, on peut dire qu'il ya une corrélation sans preuve causale direct. De plus, les questions concernant le rôle possible d'autres facteurs de virulence reste posées.

Des mutations ont été introduites au niveau de gène de virulence putatif (c'est-à-dire des gènes codant pour des propriétés épidémiologiquement corrélées à une virulence), dans des souches isogénique de *Staphylococcus aureus*. Dans un modèle de mastoïdite chez la souris, au cours du quel on a injecté ces souches dans les glandes mammaires des animaux, les changements histopathologiques observés à la suite de ces injections, étaient reproductible et faciles à noter. Les résultats obtenus montraient que les mutants coagulase négative étaient moins virulent que les souches de type sauvage. On a montré, par ailleurs, que les mutant défective en hémolysine, avaient une virulence inférieur suggèrent que ce facteurs était, au moins, aussi important que la coagulase dans la maladie. De plus, des double mutants défectives dans les deux facteurs (coagulase et hémolysine), avait une virulence remarquablement plus faible que celle de mutants défective en un seul facteur, ce qui suggère que les deux facteurs sont nécessaire et qu'il ne provoque pas la maladie de la même façon (leurs effets sont au moins additif sinon synergique).



Conclusion

1. **Alessi M-C. (2000).**Quels nouveaux fibronolytiques ?. Sang Thrombose Vaisseaux, Vol. 12, No. 6, 371-8.
2. **Archer G. L. (1998).** *Staphylococcus aureus*: A Well-Armed Pathogen. Clinical Infectious Diseases; 26:1179–1181.
3. **Arvidson S. (2006).** Extracellular enzymes .In: Gram-positive pathogens. 2^{ème} édition. ASM Press, p. 384.
4. **Avril J. L, Dabernat H, Denis F et Monteil H. (1992).** Bactériologie clinique. 2^{ème} édition. Paris : Ellipses Marketing, p 14, 16, 17.
5. **Balaban N et Rasooly A. (2000).** Staphylococcal enterotoxins. Int J Food Microbiol; 61: 1–10.
6. **Batard É, El Kouri D et Potel G. (2007).** Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-007-A-10.
7. **Bayer S.A, Ramos D.M, Menzies E.B, Yeaman R. M, Shen J.A, and Ambrose L. C.(1997).** Hyperproduction of Alpha-Toxin by *Staphylococcus aureus* Results in Paradoxically Reduced Virulence in Experimental Endocarditis:a Host Defense Role for Platelet Microbicidal Proteins. Infection and immunity, Vol. 65, No. 11, p. 4652–4660.
8. **Bégué P, Astruc J. (1999).** Pathologie infectieuse de l'enfant. Edition masson, p.613.
9. **Bes M et Brun Y. (2002).***Staphylococcus* : actualites taxonomiques et identification. Revue française des laboratoires, n° 343.
10. **Bisognano C. (2000).** Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de *Staphylococcus aureus* : étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires. Thèse. Université de Genève, p.36.

11. **Boulanger D, Bureau F, Lekeux P. (2006).** Invasion intracellulaire des cellules non-phagocytaires par *Staphylococcus aureus*. Ann. Méd. Vét; 150 :27-42.
12. **Brenner J. D, Krieg R. N, Staley T. J. (2005).** Bergey's Manual of systematic bacteriology. Volume Two: The *Proteobacteria*. Part A: introductory essays. 2^{ème} édition. Springer.
13. **Bremer P J, Fletcher G C et Osborne C. (2004).** *Staphylococcus aureus*. New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited, p.3. Disponible sur:
< <http://www.crop.cri.nz/home/research/marine/pathogens/staphylococcus.pdf>>
14. **Cavarelli J, Prévost G, Bourguet W, Moulinier L, Chevrier B, Delagoutte B, et al. (1997).** The structure of *Staphylococcus aureus* epidermolytic toxin A, an atypic serine protease, at 1.7 Å resolution. Structure, 5(6):813-24.
15. **Chavakis T, Preissner T.K et Herrmann M. (2007).** The anti-inflammatory activities of *Staphylococcus aureus*. Trends in Immunology, Vol.28, No.9, p. 400 – 414.
16. **Clark J. (2008).** A brief review of Panton-Valentine leukocidin producing staphylococcal infections in the intensive therapy unit. Current Anaesthesia & Critical Care; 19 : 330–332.
17. **Come P. (2004).** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse biologie santé. Montpellier : université Montpellier I U.F.R. de médecine.
18. **Corrigan R. M, Rigby D, Handley P and Foster T. J. (2007).** The role of *Staphylococcus aureus* surface protein SasG in adherence and biofilm formation. Microbiology; 153 : 2435–2446.
19. **Couture B. (1990).** Bactériologie médicale, étude et méthodes des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical. Edition DECARIEVIGOT.

20. Daurel C et Leclercq R. (2008). L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. Revue francophone des laboratoires, N°407, p. 81-90.
21. D'Elia M. A, Pereira M. P, Chung Y. S, Zhao W, Chau A, Kenney T. J et al. (2006). Lesions in Teichoic Acid biosynthesis in *Staphylococcus aureus* lead to a lethal gain of function in the otherwise dispensable pathway. Journal of bacteriology, Vol. 188, No. 12, p. 4183–4189.
22. Denis F, Ploy M-C, Martin C et Bingen E. (2007). Bactériologie médicale - Techniques usuelles. Edition Masson, p. 257.
23. Deverriere B. V. M. (2007). Reproduction expérimentale de mammites à *Staphylococcus aureus* chez la brebis : Comparaison de lignées génétiques divergentes pour les comptages cellulaires. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Toulouse : Université Paul-Sabatier.
24. Dinges M. M, Orwin M. P et Schlievert M. P. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clinical microbiology reviews, Vol. 13, No. 1, p. 16–34.
25. Downer R, Roche F, Park PW, Mecham RP et Foster TJ. (2002). The elastin-binding protein of *Staphylococcus aureus* (EbpS) is expressed at the cell surface as an integral membrane protein and not as a cell wall-associated protein. J Biol Chem, 277 (1): 243-250.
26. Doye A. (2007). Le facteur EDIN de *Staphylococcus aureus* : formation de macro-ouvertures dans les cellules endothéliales par inhibition de la GTPase RhoA. Thèse systèmes intégrés, environnement et biodiversité. France : école pratique des hautes études, sciences de la vie et de la terre.
27. Dubrous P, Cuguillère A, Gendrot A, et Koeck J.-L. (2007). Pneumopathie nécrosante à *Staphylococcus aureus* producteur de la leucocidine de Pantone-Valentine. Ann Biol Clin; 65 (3): 277-81.

28. **Emile C. (2007).** CRP [Protéine C Réactive]. Bilan : Bilan biologique d'une infection - Bilan d'une inflammation. Disponible sur : <http://www.sante.public.lu/fr/maladies-traitements/examens/analyses-biologiques/crp-proteine-c-reactive/index.html>
29. **Entenza J. M, Foster T. J, Eidhin D. NI, Vaudaux. P, Francioli. P et Moreillon P. (2000).** Contribution of clumping factor B to pathogenesis of experimental endocarditis due to *Staphylococcus aureus*. *Infection and immunity*, Vol. 68, No. 9, p. 5443–5446.
30. **Eveillard M. (2007).** Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat Biologie cellulaire. Angers : école doctorale d'Angers.
31. **Evrard B, Roszyk L, Fattal S, Dastugue B, Sapin V. (2005).** Évaluation de l'Actim CRP® : test rapide de dosage semi-quantitatif de la CRP sur sang total. *Ann Biol Clin* ; 63 (5) : 525-9.
32. **Ferry T. (2007).** Rôle des exotoxines superantigéniques dans le choc toxique et le choc septique à *Staphylococcus aureus*. Thèse. Lyon : l'université CLAUDE BERNARD - LYON 1, p.36.
33. **Floret D. (2000).** Les toxines du staphylocoque. *Médecine thérapeutique / Pédiatrie*, Vol. 3, No. 5, p. 394-9.
34. **Floret D. (2001).** Aspects cliniques des syndromes toxiques streptococciques et staphylococciques. *Arch Pédiatrie*, 8 Suppl 4 : 762-8.
35. **Foster TJ, Hook M. (1998).** Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, 6 (12) : 484-488.
36. **Foster TJ. (2004).** The *Staphylococcus aureus* "superbug". *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 114, No. 12, p. 1693-1695.

37. Foster T. (2008). Staphylococcus. Disponible sur :

<http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/applications/files/staphylococcus2.pdf>.

38. Freeman-Cook Lisa et Freeman-Cook Kevin. (2006). *Staphylococcus aureus* infections.

USA: Chelsea House Publishers, p. 53.

39. Gaillard J-L, Simonet M et Brecht P. (1988). Bactériologie: bactérie des infections humaines. Flammarion, p. 270.

40. Garrouste-Orgeas M, Timsit J.F, Kallel H, Ben Ali A, Dumay M.F, Paoli B, et al. (2001).

Colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in ICU patients: morbidity, mortality, and glycopeptide use. Infection control and hospital epidemiology, Vol. 22, No. 11, p. 687-692.

41. Gergelé L. (2007). *Staphylococcus Aureus* (SA) producteur de leucocidine de Panton-Valentine. Disponible sur :

<<http://reamed.ujf-grenoble.fr/seminaires/archives/2007/juin07/2mardi/1gergele.ppt>>

42. Gillespie H.S et Bamford B.K. *Medicale microbiology and infection at a glance*. Blackwell Science Ltd, 2000, p.27.

43. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, et al. (2002). Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet*, 359:753-9.

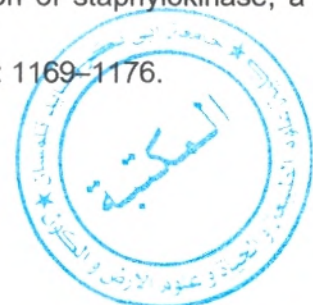
44. Gillet Y, Issartel B, Vanhems Ph, Lina G, Bes M, Vandenesch Fr et al. (2000).

Pneumonie staphylococcique nécosante associé à la production de la leucocidine de Panton et Valentine. Description d'une nouvelle entité clinique à partir de 16 observations. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 45:197- 199.

45. Glazer N. A et Nikaido H. (2007). *Microbial biotechnology: fundamentals of applied microbiology*. 2^{ème} édition. Cambridge university press, p.33.

46. Gonzalez C, Rubio M, Vivas J. R, Gonzalez M, and Picazo J.J. (2003). *Staphylococcus aureus* bacteremic pneumonia: differences between community and nosocomial acquisition. International Journal of Infectious Diseases, Vol. 7, No. 2, p. 102-108.
47. Goodyear S. Carl et Silverman J. Gregg. (2003). Death by a B Cell Superantigen: In Vivo V_H-targeted apoptotic supraclonal B cell deletion by a Staphylococcal Toxin. The journal of experimental medicine, Vol. 197, No. 9, p.1125–1139.
48. Gras D. (2006). Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidosiques et *Staphylococcus aureus*. Thèse biologie cellulaire. France : université de REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE.
49. Gründling A et Schneewind O. (2006). Cross-linked peptidoglycan Mediates lysostaphin binding to the cell wall envelope of *Staphylococcus aureus*. Journal of bacteriology, Vol. 188, No. 7, p. 2463–2472.
50. Guillaume P.R. (2004). Microbiologie. pierre-yves.guillaume@laposte.net
51. Gustafssona E, Karlssona S, Oscarssonb J, Sogard P, Nilsson P, Arvidson S. (2009). Mathematical modeling of the regulation of spa (protein A) transcription in *Staphylococcus aureus*. International journal of medical microbiology; 299: 65–74.
52. Habif T. P, Campbell J, Chapman S, Dinulos J, Zug K . (2008). Maladies cutanées : Diagnostic et traitement. 2^{ème} édition. Elsevier, p. 154.
53. Hahn H, Miksits H, Gatermann S. (2005). Staphylokokken. In: Medizinische mikrobiologie und infektologie. 5^{ème} édition. Springer- Verlag Berlin Heidelberg, p.187.
54. Harvey R.A, Champe P.C et Fisher B. D. (2007). Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology. 2nd edition. Lippincott Williams & Wilkins.
55. Hecht SR et Berger M. (1992). Right-sided endocarditis in intravenous drug users. pronostic features in 102 episodes. Ann Intern Med; 117: 560-6.

56. Higashi J.M et Sullam P. M. (2006). *Staphylococcus aureus* biofilms. In: Biofilms, infection, and antimicrobial therapy. Taylor & Francis group.
57. Hiramatsu K, Okuma K, Ma XX, et al. (2002). New trends in *Staphylococcus aureus* infections: glycopeptide resistance in hospital and methicillin resistance in the community. *Curr Opin Infect Dis*; 15: 407-413.
58. Holmes. A, Ganner. M, McGuane. S, Pitt. T. L, Cookson. B. D, and Kearns. A. M. (2005). *Staphylococcus aureus* Isolates Carrying Panton-Valentine Leucocidin Genes in England and Wales: Frequency, Characterization, and Association with Clinical Disease. *Journal of clinical microbiology*, Vol. 43, No. 5, p. 2384–2390.
59. Hrstka R, Ruzickova V, Petras P, Pantucek R, Rosypala S et Doskara J. (2006). Genotypic characterization of toxic shock syndrome toxin-1-producing strains of *Staphylococcus aureus* isolated in the Czech Republic. *International Journal of Medical Microbiology*; 296:49–54.
60. Huseby M, Ke Shi, Brown C. K, Digre J, Mengistu F, Seo K S et al. (2007). Structure and Biological Activities of Beta Toxin from *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*, Vol. 189, No. 23, p. 8719–8726.
61. Jain A et Agarwal A. (2009). Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *Journal of Microbiological Methods*; 76: 88–92.
62. Jarraud S, Lina G, Vandenesch F et Étienne J. (2002). Épidémiologie des infections toxémiques à staphylocoque doré. *Ann Fr Anesth Réanim*; 21: 370-4.
63. Jin T, Bokarewa M, Foster T, Mitchell J, Higgins J, and Tarkowski A. (2004). *Staphylococcus aureus* resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. *The Journal of Immunology*; 172: 1169–1176.



64. Joffin J. N, leyral G. (2001). «Microbiologie technique 1»., dictionnaire des techniques., centre nationale de documentation pédagogique d'Aquitane.
65. Joguet G, Perez J.M, Herrmann C et Strobel M. (2003). Pneumopathie nécrosante mortelle à *Staphylococcus aureus* producteur de la Leucocidine de Panton-Valentine. Médecine et maladies infectieuses; 33: 272–273.
66. Joubert O. (2005). Identification, stabilisation et inhibition de l'interaction monomère S – monomère F des leucotoxines à deux composés de *Staphylococcus aureus*. Thèse Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie. Strasbourg : Université Louis Pasteur – Strasbourg I, p. 49.
67. Kayser F. H. (2005). Bacteria as human pathogens. In: Medical Microbiology. Thieme medical publishers.
68. Koning S, van Belkum A, Snijders S, van Leeuwen Willem, Verbrugh H, Nouwen J, et al. (2003). Severity of Nonbullous *Staphylococcus aureus* Impetigo in Children Is Associated with Strains Harboring Genetic Markers for Exfoliative Toxin B, Panton-Valentine Leukocidin, and the Multidrug Resistance Plasmid pSK41. Journal of clinical microbiology, Vol. 41, No. 7, p. 3017–3021.
69. Kushner I, Rakita L et Kaplan MH. Studies of acute phase protein. II. Localization of C-reactive protein in heart in induced myocardial infarction in rabbits. *J Clin Invest*, 1963; 42 : 286-292.
70. Ladhani S et Evans W. R. (1998). Staphylococcal scalded skin syndrome. Arch Dis Child; 78: 85–88.
71. Ladhani S.N. (2006). Staphylococcal exfoliative toxins. In: The comprehensive sourcebook of bacterial protein toxins. 3rd edition. Elsevier Ltd, p: 933.

72. Lagier J.-C, Letranchant L, Selton-Suty C, Nloga J, Aissa N, Alauzet C et al. (2008). Bactériémies et endocardites à *Staphylococcus aureus*. Annales de cardiologie et d'angéiologie; 57 : 71–77.
73. Lamprell H. (2003). Production des entérotoxines dans les fromages en fonction de la diversité phénotypique et génétique des souches de *Staphylococcus aureus*. Thèse sciences des aliments. Bourgogne : école doctorale des sciences de la vie et de la santé, p12.
74. Landraud L et Lemichez E. (2007). Edin de *S. aureus* crée des brèches. Medecine/sciences, Vol. 23, No. 5, p. 453-81.
75. Langlet S, Quentin G, Contant G, Ghnassia C-J. (1999). Méthode chromogénique d'identification rapide de *Staphylococcus aureus*. Annales de Biologie Clinique, Vol. 57, No. 2, 191-6.
76. Laporte-Turpin E, Marcoux M.-O, Claudet I, Grouteau E, Micheau P, Fédérici S et al. (2006). Pneumonie nécrosante et ostéoarthrite multifocale à *Staphylococcus aureus* producteur de la leucocidine de Panton et Valentine chez un garçon de 10 ans. Archives de pédiatrie; 13: 449–452.
77. Lara J. G, Masalha M and Foster S.J. (2005). *Staphylococcus aureus*: the search for novel targets. Drug discovery today: targets, Vol. 10, No. 9.
78. Larpent J.P et Gourgaud M.L. (1997). Mémento technique de microbiologie, technique et documentation. 3^{ème} édition. Lavoisier.
79. Lee N, Liang C- C et Chiu C-P. (1996). A case of carbuncle caused by a catalase-negative strain of *Staphylococcus aureus*. Diagn Microbiol Infect Dis; 24: 221-223.
80. Lee Wong C. A et Bergdoll S. M. (1990). Effect of environmental conditions on production of toxic shock syndrome toxin 1 by *Staphylococcus aureus*. Infection and immunity, Vol. 58, No. 4, p. 1026-1029.

81. **Levinson W. (2008).** Review of medical microbiology & immunology. 10th edition. The McGraw-Hill Companies.
82. **Li D. (2005).** Impact des antibiotiques et des déterminants de résistance sur l'expression et le contrôle moléculaire des facteurs de virulence des souches nosocomiales de *Staphylococcus aureus*. Thèse médecine clinique. Genève : la faculté de médecine de l'université de Genève, p.12.
83. **Libert N, Batjom E, Cirodde A, Rudnicki de S, Grasser L, Borne M et al. (2008).**Traitements antitoxiniques et pneumopathies nécrosantes à *Staphylococcus aureus* sécréteurs de leucocidine de Panton-Valentine. Médecine et maladies infectieuses, doi:10.1016/j.medmal.2008.10.008.
84. **Lina G, Piemont Y, Godail-Garnot F, Bes M, Peter M. O, Gauduchon V, et al. (1999).** Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin. Infect. Dis; 29:1128-1132.
85. **Liu Zhan-min, Shi Xian-ming, Pan F. (2007).** Species-specific diagnostic marker for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. Diagnostic microbiology and infectious disease; 59: 379–382.
86. **Lowy F. D. (1998).** Staphylococcus aureus infections. N Engl J Med; 339: 520-532.
87. **Luong T. Thanh et Lee Y.Chia. (2006).**The ARL locus positively regulates *Staphylococcus aureus* type 5 capsule via an mgrA-dependent pathway. Microbiology; 152: 3123–3131.
88. **Makris G, Wright D. J, Ingham E et Holland T. K. (2004).** The hyaluronate lyase of *Staphylococcus aureus*– a virulence factor?. Microbiology; 150: 2005 - 2013.
89. **Marchal N, Bourdon J.L, Richard Cl. (1991).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, 4e édition, Doin, Paris.

90. **Mauri A, Morandi P-A, Borghini T et Deom A. (2005), CSCQ.** Disponible sur: www.cscq.ch/com/publi/f/crp.pdf
91. **Mazereeuw-hautier J. (2006).** Impétigo. *Ann Dermatol Venereol*;133:194-207.
92. **Meredith T. C, Swoboda J. G et Walker S. (2008).** Late-Stage Polyribitol Phosphate Wall Teichoic Acid Biosynthesis in *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*, Vol. 190, No. 8, p. 3046–3056.
93. **Morel P. (2001).** La dermatologie du généraliste. Springer, p 33.
94. **Morello A. J, Granato A. P et Mizer H. E. (2003).** Laboratory manual and workbook in microbiology applications to patient care. 7^{ème} édition. Spiral Bound/Comb, p.143.
95. **Nakakido M, Tanaka Y et Tsumoto K. (2007).**The N-terminal domain of elastin-binding protein of *Staphylococcus aureus* changes its secondary structure in a membrane-mimetic environment. *J. Biochem*, Vol. 142, No. 2, 131–134.
96. **Nauciel C et Vildé J-L. (2005).** Bactériologie médicale. 2^{ème} édition. Masson, p.78.
97. **Neumaier M et Scherer MA. (2008).** C-reactive protein levels for early detection of postoperative infection after fracture surgery in 787 patients. *Acta Orthop*; 79: 428–32.
98. **Nilsson I-M, Hartford O, Foster T, and Tarkowski A. (1999).** Alpha-Toxin and Gamma-Toxin Jointly Promote *Staphylococcus aureus* Virulence in Murine Septic Arthritis. *Infection and immunity*, Vol. 67, No. 3, p. 1045–1049.
99. **O'Brien L. M, Walsh E. J, Massey R. C, Peacock S. J., and Foster T. J. (2002).** *Staphylococcus aureus* clumping factor B (ClfB) promotes adherence to human type I cytokeratin 10: implications for nasal colonization. *Cell Microbiol*; 4: 759-770.
100. **O'Riordan C, Lee JC. (2004).** *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *Clinical microbiology reviews*, Vol. 17, No. 1, p. 218–234.
101. **Odou M-F. (2006).** CRP = C-Réactive Protéine. Disponible sur :

http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/ana_proteines07.html

102. **Orwin M.P, Fitzgerald J. R, Leung Y. M. D, Gutierrez A. J, Bohach A. G and Schlievert M.P. (2003).** Characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin L. *Infection and immunity*, Vol. 71, No. 5, p. 2916–2919.
103. **Palma M, Hagggar A et Flock J-I. (1999).** Adherence of *Staphylococcus aureus* is enhanced by an endogenous secreted protein with broad binding activity. *Journal of bacteriology*, Vol. 181, No. 9, p. 2840–2845.
104. **Palmqvist N, Foster T, Tarkowski A et Josefsson E. (2002).** Protein A is a virulence factor in *Staphylococcus aureus* arthritis and septic death. *Microbial Pathogenesis*; 33: 239-249.
105. **Pancholi V. (2002).** Staphylococcal extracellular/ surface enzymatic activity. In: *Staphylococcus aureus* Infection and Disease. USA: Kluwer Academic Publishers, p. 145.
106. **Parsonnet J, Hansmann A.M, Delaney L.M, Modern A. P, DuBois M. A, Alter- Wieland W et al. (2005).** Prevalence of toxic shock syndrome toxin 1-producing *Staphylococcus aureus* and the presence of antibodies to this superantigen in menstruating women. *Journal of clinical microbiology*, Vol. 43, No. 9, p. 4628–4634.
107. **Peacock S. (2006).** *Staphylococcus aureus*. In: Principles and practice of clinical bacteriology. 2nd edition. England: John Wiley & Sons Ltd, p. 76.
108. **Pedelacq JD, Prevost G, Monteil H, Mourey L et Samama JP. (2000).** Crystal structure of the F component of the Panton-Valentine leucocidin. *Int J Med Microbiol*, 290 (4-5), 395-401.
109. **Pereira M. P, D'Elia M. A, Troczynska J et Brown E. D. (2008).** Duplication of Teichoic Acid biosynthetic genes in *Staphylococcus aureus* leads to functionally redundant poly (Ribitol Phosphate) polymerases. *Journal of bacteriology*, Vol. 190, No. 16, p. 5642–5649.

110. Prescott M. L, Harley P. J, Klein A. D. **Microbiologie**. 2ème édition française. De Boeck, 2003.
111. Prevost G, Cribier B, Couppie P, Petiau P, Supersac G, Barbanc – Finck V et al. (1995). Panton-Valentine Leucocidin and Gamma-Hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 Are Encoded by Distinct Genetic Loci and Have Different Biological Activities. *Infection and immunity*, Vol. 63, No. 10, p. 4121–4129.
112. Prévost G. Toxins in *Staphylococcus aureus* pathogenesis. In: Proft (Ed.), *Microbial toxins: molecular and cellular biology*, Horizon Bioscience, Norfolk, England, ISBN: 1-904933-08-04 (2004), pp: 243-284.
113. Prevost G, Mourey L, Colin D. A, Monteil H, Serra M. D, and Menestrina G. Alpha-helix and beta-barrel poreforming toxins (leucocidins, alpha-, gamma-, and delta-cytolysins) of *Staphylococcus aureus*. In: *The comprehensive sourcebook of bacterial protein toxins*. 3rd edition. Elsevier Ltd, 2006, p. 590.
114. Proctor R. A, Von Eiff C, Vaudaux P. E, Lew D. P et Peters G. (1998). Staphylococcal small colony variants have novel mechanisms for antibiotic resistance. *Clin Infect Dis*; 27(suppl1):S68-S74.
115. Que Y. A, Francois P, Haefliger J. A, Entenza J. M, Vaudaux P, and Moreillon P. (2001). Reassessing the role of *Staphylococcus aureus* clumping factor and fibronectin-binding protein by expression in *Lactococcus lactis*. *Infect Immun*; 69: 6296-6302.
116. Ray B. (2004). *Fundamental food microbiology*. 3rd edition. USA: CRC Press LLC, p: 345.
117. Sakurai S, Suzuki H, Hata T, Yoshizawa Y, Nakayama R, Machida K, et al. (2004). A novel positive regulatory element for exfoliative toxin A gene expression in *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*; 150: 945–952.

118. **Sandre RM, Shafran SD.** Infective endocarditis: review of 135 cases over 9 years. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 276-86.
119. **Sanz R, Marín I, Ruiz-Santa-Quiteria J.A, Orden J.A, Cid D, Diez R. M et al. (2000).** Catalase deficiency in *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* is associated with natural loss-of-function mutations within the structural gene. *Microbiology*; 146: 465–475.
120. **Schneewind O et Missiakas D. (2008).** *Staphylococcus aureus* and related staphylococci. In: practical handbook of microbiology. 2nd edition. CRC Press Taylor & Francis Group, p.277.
121. **Seaman P, Day M, Russell A. D et Ochs D. (2004).** Susceptibility of capsular *Staphylococcus aureus* strains to some antibiotics, triclosan and cationic biocides. *Journal of antimicrobial chemotherapy*; 54(3):696-698.
122. **See H.R et Chow W.A. (1992).** Staphylococcal toxic shock syndrome toxin 1-induced tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 secretion by human peripheral blood monocytes and T lymphocytes is differentially suppressed by protein kinase inhibitors. *Infection and immunity*, Vol. 60, No. 8, p. 3456-3459.
123. **Shupp J.W, Jett M et Pontzer C.H. (2002).** Identification of a transcytosis epitope on staphylococcal enterotoxins. *Infection and immunity*, Vol. 70, No. 4, p. 2178–2186.
124. **Singleton P. (2005).** Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6^{ème} édition. Dunod- Paris, p.480-490.
125. **Staal L, Monteil H et Colin D.A. (1998).** The staphylococcal pore-forming leukotoxins open Ca²⁺ channels in the membrane of human polymorphonuclear neutrophils. *J. Membrane Biol*; 162: 209–216.
126. **Stumpe K.D.M et Strobel K. (2009).** Osteomyelitis and Arthritis. *Semin Nucl Med*; 39: 27-35.

127. Sung L. M. J, Lloyd H. D et Lindsay A.J. (2008). *Staphylococcus aureus* host specificity: comparative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray. *Microbiology*; 154: 1949–1959.
128. Switalski LM, Patti JM, Butcher W, Gristina AG, Speziale P et Hook M. (1993). A collagen receptor on *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with septic arthritis mediates adhesion to cartilage. *Mol Microbiol*; 7 (1): 99-107.
129. Talaro P. K et Talaro A. (2002). *Foundations in Microbiology*. 4^{ème} édition. The McGraw–Hill Companies, p. 547-548.
130. Tally P. F. (1999). Les staphylocoque : abcés et autre maladies. In : *Microbiologie et pathologie infectieuse*. 2^{ème} édition. De Boeck, p. 192-193.
131. Thomas Y. D, Jarraud S, Lemercier B, Cozon G, Echasserieau K, Etienne J et al. (2006). Staphylococcal enterotoxin-like toxins U2 and V, two new staphylococcal superantigens arising from recombination within the enterotoxin gene cluster. *Infection and immunity*, Vol. 74, No. 8, p. 4724–4734.
132. Tillet WS, Francis T. (1930). Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med*; 52: 561-71.
133. Tsai Wen-Chi, Li Chin- le. (2009). SPR-based immunosensor for determining staphylococcal enterotoxin A. *Sensors and Actuators B*; 136: 8–12.
134. Tuchscher L. P. N, Buzzola R. F, Alvarez P. L, Roberto L. C, Lee C.J, et Sordelli O.D. (2005). Capsule-negative *Staphylococcus aureus* induces chronic experimental mastitis in mice. *Infection and immunity*, Vol. 73, No. 12, p. 7932–7937.
135. van Belkum A, Damian C.M, Nouwen J, van Leeuwen B.W, van Wamel W, Vos C. M et al. (2008). Co-evolutionary aspects of human colonisation and infection by *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution*, doi:10.1016/j.meegid.2008.09.012.

136. Verdon J, Girardin N, Lacombe C, Berjeaud J-M et Héchard Y. (2008). Delta-hemolysin, an update on a membrane-interacting peptide. *Peptides*, doi: 10.1016/j. peptides. 2008.12.017.
137. Vincenot F, Saleh M et Prévost G. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*, N°407, p. 61-69.
138. Voet D et Voet J-G. *Biochimie*. 2^{ème} édition française. De Boeck, 2005, p.373.
139. Walev I, Weller U, Strauch S, Foster T, Bhakdi S. (1996). Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*; 64 (8): 2974-2979.
140. Wang S, Yafei L, Xiong H, Cao J. (2008). A broad-spectrum inhibitory peptide against staphylococcal enterotoxin superantigen SEA, SEB and SEC. *Immunology Letters*; 121: 67–172.
141. Winn W. C, Koneman E. W, Allen S .D, Janda W. M, Schreckenberger P. C, Procop G. W et al. (2005). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6^{ème} édition. Lippincott Williams & Wilkins, p. 634.
142. Yamasaki O, Yamaguchi T, Sugai M, Chapuis-Cellier C, Arnaud F, Vandenesch F et al. (2005). Clinical manifestations of staphylococcal scalded-skin syndrome depend on serotypes of exfoliative toxins. *Journal of clinical microbiology*, Vol. 43, No. 4, p. 1890–1893.
143. Yarwood M. J, Paquette M. K, Tikh B. I, Volper M. E, et Greenberg E. P. (2007). Generation of virulence factor variants in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Journal of bacteriology*, Vol. 189, No. 22, p. 7961–7967.
144. Yarwood M. J et Schlievert M. P. (2000). Oxygen and carbon dioxide regulation of toxic shock syndrome toxin 1 production by *staphylococcus aureus* MN8. *Journal of clinical microbiology*, Vol. 38, No. 5, p. 1797–1803.

145. Zribi H et Descamps V. (2006). Folliculites décalvantes du cuir chevelu. Ann dermatol venereol;133:1021-9.

Annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignements des malades du service de la chirurgie A

Patient	Sexe	Durée d'hospitalisation	Age	Type d'infection
Malade 1	XY	2 j	29 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 2	XX	3 j	52 ans	Rétablissement d'octère
Malade 3	XY	2 j	27 ans	Appendicite
Malade 4	XX	/	60 ans	Diagnostic péritonique
Malade 5	XX	7 j	26 ans	Chystidatique
Malade 6	XX	3 j	17 ans	Appendicite
Malade 7	XX	7 j	78 ans	Infarctus mésentérique
Malade 8	XX	4 j	85 ans	Néoducéetum
Malade 9	XY	8 j	61ans	Sténose bulbaire ulcéreuse
Malade 10	XY	1 j	20 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 11	XY	5 j	42 ans	Hernie
Malade 12	XY	4 j	22 ans	Hernie aiguinale
Malade 13	XY	3 j	64 ans	Hernie aiguinale
Malade14	XY	6 j	50 ans	Hernie aiguinale
Malade 15	XY	6 j	33 ans	Halo- Gastrique
Malade 16	XY	6 j	65 ans	Vésicule voie biliaire principale
Malade 17	XX	10 j	55 ans	Vésicule
Malade 18	XX	17 j	71 ans	Abcès au dos diabétique
Malade 19	XX	7 j	40 ans	Néo du sein
Malade 20	XY	5 j	27 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 21	XY	2 j	66 ans	Vésicule
Malade 22	XY	10 j	53 ans	intestin
Malade 23	XY	5 j	32 ans	Costique sténosée
Malade 24	XY	2 j	23 ans	Appendicite
Malade 25	XX	/	75 ans	Orifice stomie
Malade 26	XX	/	/	Anestomosé
Malade 27	XY	10j	81 ans	Hernie
Malade 28	XY	4 j	50 ans	Hernie
Malade 29	XY	3j	55 ans	Hernie
Malade 30	XY	2 j	63 ans	vésicule
Malade 31	XY	5j	17ans	Rétablissement du colon

Suite : Annexe

Patient	Sexe	Durée d'hospitalisation	Age	Type d'infection
Malade 32	XY	1 j	41 ans	Hernie ligne blanche
Malade 33	XY	2 M	52 ans	Eventration avec plaque
Malade 34	XX	/	55 ans	Ictère
Malade 35	XX	/	22 ans	/
Malade 36	XX	2 j	25 ans	Appendicite
Malade 37	XY	/	45 ans	LV
Malade 38	XY	/	60 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 39	XX	6 M	76 ans	Néo du sygnoide
Malade 40	XX	2 j	19 ans	Appendicite
Malade 41	XY	/	/	Intestin
Malade 42	XX	3 j	70 ans	Orifice stomie
Malade 43	XX	/	/	Orifice stomie
Malade 44	XX	/	/	Orifice stomie
Malade 45	XX	1 j	25 ans	Appendicite
Malade 46	XY	6 j	30 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 47	XX	5 j	37 ans	Plaie très infecté
Malade 48	XX	5 j	32 ans	Plaie très infecté
Malade 49	XX	5 j	26 ans	Plaie très infecté
Malade 50	XX	6 j	21 ans	Plaie très infecté
Malade 51	XY	/	/	Péritonite
Malade 52	XX	/	/	Chystidatique
Malade 53	XX	/	/	Anestomosé
Malade 54	XX	/	/	/
Malade 55	XX	/	60 ans	Diagnostique péritonique
Malade 56	XX	3 j	22 ans	Appendicite
Malade 57	XX	2 j	33 ans	Appendicite
Malade 58	XX	1 j	19 ans	Appendicite
Malade 59	XX	2 j	29 ans	Appendicite
Malade 60	XY	/	23 ans	Diagnostique édicatique
Malade 61	XX	2 j	27 ans	Appendicite
Malade 62	XY	8 j	59 ans	Eventration

Suite: Annexe

Patient	Sexe	Durée d'hospitalisation	Age	Type d'infection
Malade 65	XX	10 j	65 ans	Orifice stomie
Malade 63	XY	/	/	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 64	XY	2 j	26 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 65	XX	10 j	65 ans	Orifice stomie
Malade 66	XX	/	/	/
Malade 67	XX	/	/	/
Malade 68	XY	/	/	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 69	XY	5 j	/	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 70	XY	3 j	54 ans	Hernie aiguinale
Malade 71	XX	2 j	28 ans	Appendicite
Malade 72	XX	2 j	/	Appendicite
Malade 73	XX	/	/	Appendicite
Malade 74	XX	5 j	60 ans	Infarctus mésentérique
Malade 75	XX	/	/	/
Malade 76	XX	/	/	/
Malade 77	XY	2 j	/	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 78	XX	/	70 ans	Orifice stomie
Malade 79	XX	/	70 ans	Orifice stomie
Malade 80	XX	/	70 ans	Orifice stomie
Malade 81	XY	/	/	Hernie aiguinale
Malade 82	XX	/	/	Appendicite
Malade 83	XX	/	/	Appendicite
Malade 84	XY	4 j	35 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 85	XX	/	/	/
Malade 86	XY	/	/	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 87	XX	3 j	60 ans	/
Malade 88	XX	10 j	55 ans	/
Malade 89	XX	2 S	45 ans	/
Malade 90	XY	1 M	50 ans	Eventration avec plaque
Malade 91	XX	3 j	60 ans	/
Malade 92	XY	/	60 ans	Péritonite par perforation d'ulcère

Suite: Annexe

Patient	Sexe	Durée d'hospitalisation	Age	Type d'infection
Malade 93	XY	4 j	22 ans	Hernie aiguinale
Malade 94	XX	5 j	70 ans	Orifice stomie
Malade 95	XX	2 j	25 ans	Appendicite
Malade 96	XY	5 j	30 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 97	XX	4 j	37 ans	Plaie très infecté
Malade 98	XX	2 j	32 ans	Plaie très infecté
Malade 99	XX	3 j	26 ans	Plaie très infecté
Malade 100	XX	4 j	21 ans	Plaie très infecté
Malade 101	XY	/	/	Péritonite
Malade 102	XX	2 j	25 ans	Appendicite
Malade 103	XY	4 j	30 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 104	XX	2 j	22 ans	Appendicite
Malade 105	XX	2j	28 ans	Appendicite
Malade 106	XY	3 j	29 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 107	XX	2 j	52 ans	Rétablissement d'octère
Malade 108	XY	2 j	27 ans	Appendicite
Malade 109	XX	/	60 ans	Diagnostic péritonique
Malade 110	XX	4 j	26 ans	Chystidatique
Malade111	XX	3 j	17 ans	Appendicite
Malade 112	XX	5 j	78 ans	Infarctus mésentérique
Malade 113	XX	3 j	85 ans	Néoducéetum
Malade 114	XY	6 j	61ans	Sténose bulbaire ulcéreuse
Malade 114	XY	3 j	20 ans	Péritonite par perforation d'ulcère
Malade 115	XX	/	/	/
Malade 116	XX	/	/	/
Malade117	XX	/	/	/
Malade 118	XX	/	/	/
Malade119	XY	/	/	/
Malade120	XY	3 j	22 ans	Appendicite
Malade 121	XY	/	33 ans	Appendicite
Malade122	XY	2 j	19 ans	Appendicite

Malade 123	XY	/	29 ans	/
Malade 124	XY	3 j	23 ans	Diagnostic édicatique
Malade 125	XX	/	27 ans	/

**Qualitative determination of C-Reactive Protein (CRP)
IVD**

Store at 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The CRP-latex is a slide agglutination test for the qualitative and semi-quantitative detection of C- Reactive Protein (CRP) in human serum. Latex particles coated with goat IgG anti-human CRP are agglutinated when mixed with samples containing CRP.

CLINICAL SIGNIFICANCE

CRP is an acute-phase protein present in normal serum, which increases significantly after most forms of tissue injuries, bacterial and virus infections, inflammation and malignant neoplasia. During tissue necrosis and inflammation resulting from microbial infections, the CRP concentration can rise up to 300 mg/L in 12-24 hours.

REAGENTS

Latex	Latex particles coated with goat IgG anti-human CRP, pH, 8.2. Sodium azide 0.95 g/L.
Control + Red cap	Human serum with a CRP concentration > 20 mg/L. Sodium azide 0.95 g/L.
Control - Blue cap	Animal serum. Sodium azide 0.95 g/L.

PRECAUTIONS

Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

The CRP-latex sensitivity is calibrated to the Reference Material CRM 470/RPPHS.

STORAGE AND STABILITY

All the kit components are ready to use, and will remain stable until the expiration date printed on the label, when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not freeze: frozen reagents could change the functionality of the test.

Reagents deterioration: Presence of particles and turbidity.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Mechanical rotator with adjustable speed at 80-100 r.p.m.

SAMPLES

Fresh serum. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

Samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing. Do not use highly hemolysed or lipemic samples.

PROCEDURE**Qualitative method**

1. Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
2. Place 50 µL of the sample (Note 1) and one drop of each Positive and Negative controls into separate circles on the slide test.
3. Swirl the CRP-latex reagent gently before using and add one drop (50 µL) next to the samples to be tested.
4. Mix the drops with a stirrer, spreading them over the entire surface of the circle. Use different stirrers for each sample.
5. Place the slide on a mechanical rotator at 80-100 r.p.m. for 2 minutes. False positive results could appear if the test is read later than two minutes.

Semi-quantitative method

1. Make serial two fold dilutions of the sample en 9 g/L saline solution.
2. Proceed for each dilution as in the qualitative method.

READING AND INTERPRETATION

Examine macroscopically the presence or absence of visible agglutination immediately after removing the slide from the rotator.

The presence of agglutination indicates a CRP concentration equal or greater than 6 mg/L (Note 2 and 3).

The titer, in semi-quantitative method, is defined as the highest dilution showing a positive result.

CALCULATIONS

The approximate CRP concentration in the patient sample is calculated as follow:

$$6 \times \text{CRP Titer} = \text{mg/L}$$

QUALITY CONTROL

Positive and Negative controls are recommended to monitor the performance of the procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation.

REFERENCE VALUES

Up to 6 mg/L. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Analytical sensitivity:** 6 (5-10) mg/L, under the described assay conditions
2. **Prozone effect:** No prozone effect was detected up to 1600 mg/L (Note 1).
3. **Diagnostic sensitivity:** 95.6 %.
4. **Diagnostic specificity:** 96.2 %.

INTERFERENCES

Hemoglobin (10 g/L), bilirubin (20 mg/dL) and lipemia (10 g/L), do not interfere. Rheumatoid factors (100 IU/mL), interfere. Other substances may interfere⁷.

NOTES

1. High CRP concentration samples may give negative results (prozone effect). Re-test the sample again using a drop of 20 µL.
2. The strength of agglutination is not indicative of the CRP concentration in the samples tested.
3. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Lars-Olof Hanson et al. Current Opinion in Infectious diseases 1997; 10: 196-201.
2. M.M. Pepys. The Lancet 1981; March 21: 653 - 656.
3. Chetana Vaishnavi. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 139 - 144
4. Yoshitsugy Hokama et al. Journal of Clinical Laboratory Status 1987; 1: 15 - 27.
5. Yamamoto S et al. Veterinary Immunology and Immunopathology 1993; 36: 257 - 264.
6. Charles Wadsworth et al. Clinica Chimica Acta; 1984: 138: 309 - 318.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PACKAGING

Ref.: 1200301 50 tests : 2.5 mL CRP-Latex
: 1 mL Control +
: 1 mL Control -
: 8 x 6 disposable slides

Ref.: 1200302 100 tests : 5 mL CRP-Latex
: 1 mL Control +
: 1 mL Control -
: 16 x 6 disposable slides

Annexe 3 : Composition des milieux de culture utilisés :

Milieux solides

❖ Gélose Chapman

Composition pour la préparation d'un litre de milieu

- Peptone10,0 g
- Extrait de viande de bœuf01,0 g
- Chlorure de sodium75,0 g
- Mannitol10,0 g
- Rouge de phénol0,025 g
- Agar15,0 g
- pH = 7,4

❖ Gélose nutritive

- Extrait de viande.....01,0 g
- Extrait de levure.....02,0 g
- Peptone.....05,0 g
- Chlorure de sodium..... 05,0 g
- Agar..... 15,0 g
- pH = 7,4

❖ Gélose au sang

- Infusion de viande de bœuf.....300,0 ml
- Peptone de caséine.....17,5 g
- Amidon de maïs.....01,5 g
- Agar.....17,0 g
- Sang..... 50 mL

- pH = 7,4

❖ Gélose viande foie

- Base viande foie..... 30,0 g
- Glucose.....02,0 g
- Agar.....06,0 g
- pH = 7,4

❖ Gélose mannitol mobilité

- Hydrolysate trypsique de caséine.....10,0 g
- Mannitol.....7,5 g
- Rouge de phénol.....0,4 mg
- Nitrate de potassium.....01,0 g
- Agar.....03,5 g
- pH = 7,6

Milieux liquide

❖ Bouillon de Giolitti-Cantoni

- Tryptone.....10,0 g
- Extrait de viande de bœuf.....05,0 g
- Extrait de levure.....05,0 g
- Chlorure de lithium.....05,0 g
- Mannitol.....20,0 g
- Chlorure de sodium.....05,0 g
- Glycocolle.....01,2 g
- Pyruvate de sodium.....03,0 g
- pH 6,9 ± 0,2

❖ Bouillon cœur-cervelle (BHIB)

- Protéose-peptone.....10,0 g
- Infusion de cervelle de veau.....02,5 g
- Infusion de cœur de bœuf.....05,0 g
- Glucose.....02,0 g
- Chlorure de sodium.....05,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium.....02,5 g
- pH = 7,4

❖ Eau physiologique :

- Chlorure de sodium.....09,0g

Colorants

❖ Lugol

- Iode.....05,0g
- Iodur de potassium.....10,0g
- Eau distillé.....1000mL

❖ Fuschine

- Fuschine basique.....33,3g
- Phénole.....66,6g
- Ethanol 0,95.....166 cm³
- Eau distillé.....1000mL

❖ Violet de gentiane

- Violet de gentiane.....10,0g
- Phénol.....20,0g
- Ethanol 0,85.....100cm³
- Eau distillé.....1000mL



Résumé

La bactérie *Staphylococcus aureus* est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections hospitalières et communautaires. Outre les nombreuses résistances que cette bactérie peut présenter vis-à-vis des antibiotiques et des antiseptiques, il peut être étonnant de constater combien cette dernière est également armée pour annihiler bon nombre des défenses que son hôte pourrait lui opposer. C'est en fait une véritable ingénierie dont dispose *Staphylococcus aureus* pour répondre aux périls d'un hôte hostile qui lui oppose anticorps, phagocytose ou cytotoxicité. L'émergence de souches particulièrement virulentes dans la communauté illustre le brassage génétique de ces dernières via l'homme et ses activités.

Le présent travail est une contribution à l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* responsable d'infection nosocomiale (suppuration) dans le service de chirurgie A ainsi que la caractérisation de 2 facteurs de virulence et le dosage du CRP pour évaluer le taux d'inflammation des patients au niveau du service.

Mots clé : *Staphylococcus aureus*, facteur de virulence, pouvoir pathogène, infection nosocomiale, coagulase, hémolysine,

Abstract

Staphylococcus aureus is responsible for numerous kinds of human infections and account for the most often isolated pathogens from both community and hospital infections. Beside the numerous antimicrobial and antiseptic resistances, the bacteria looks very well armed by a battery of virulence factors to escape the different defences that host may opposite. *Staphylococcus aureus* displays an arsenal to answer to defences such as antibodies, phagocytosis or cytotoxicity. Emerging infections caused by virulent strains in the community illustrate the genetic evolution and spreading of such strains via human activities.

This work is a contribution to the identification of *Staphylococcus aureus* strains responsible for hospital- born infection (suppuration) in the surgical ward A and characterization of 2 virulence factors and determination of CRP levels to assess the inflammation patients at the service.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, virulence factor, pathogenicity, nosocomial infection, coagulase, hemolysin