



Faculté des Sciences et Techniques de Fès

Université Sidi Mohammed Ben Abdellah



Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès

Master Sciences et Techniques : Biotechnologie microbienne
MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

**ETUDE DU PORTAGE NASAL DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ET DES
INFECTIONS DU SITE OPERATOIRE EN CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE**

Présenté par : MUHIRE JEAN BERCHIMAS

Encadré par : Pr. OUMOKHTAR BOUCHRA (FMPF)

Pr. EL OUALI LALAMI ABDELHAKIM (ISPITSF)

**Soutenu le 26 Juin 2015,
Devant le jury composé de :**

Pr. OUMOKHTAR BOUCHRA	Encadrante
Pr. EL OUALI LALAMI A.	Encadrant
Pr. IRAQI MOHAMMED	Examineur
Pr. HAGGOUR ABDELLATIF	Examineur
Pr. CHATER LAMIAE	Examinatrice
Pr. EL IDRISSE MOHAMMED	Examineur

Stage effectué au Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès

Année Universitaire : 2014-2015

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

☒ B.P. 2202 – Route d'Imouzer – FES

☒ 212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – Fax : 212 (35) 60 82 14

Remerciements

Il m'est indispensable de remercier toutes les personnes qui ont contribué à l'accomplissement de ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements :

A mes encadrants ;

✓ **Pr. OUMOKHTAR Bouchra**

Professeur à la Faculté de médecine et de pharmacie de Fès, de m'avoir ouvert les portes du laboratoire de microbiologie, pour la confiance que vous m'accordez en acceptant de diriger ce travail, pour le temps que vous avez consacré, pour votre disponibilité, vos conseils tout au long de ce travail. Auprès de vous j'ai beaucoup appris, vous m'avez toujours encouragé à progresser.

✓ **Pr. EL OUALI LALAMI Abdelhakim**

Professeur à l'institut supérieur de profession infirmier et des techniques de santé (ISPTS Fès), Toutes mes reconnaissances pour m'avoir encouragé, encadré et soutenu pendant toute sa durée. Votre qualité professionnelle, la pertinence de vos remarques et la justesse de vos corrections ; je vous remercie sincèrement.

Toutes mes reconnaissances ;

Au Pr. AFIFI Abderrahmane,

Chef de service de traumatologie ortho pédiatrique du CHU Hassan II de Fès.

Je vous remercie de nous avoir permis d'effectuer ce travail au sein de votre service, et aider à mener à bien nos objectifs. Je remercie également tout le personnel de votre équipe d'avoir collaboré au cours de la réalisation de ce travail. Ainsi spécialement Dr. Tazi Mohamed, de m'avoir guidé et accompagné dans la réalisation de ce travail.

Au Pr. EL MRINI Abdelmadjid,

Chef de service de traumatologie orthopédique B du CHU Hassan II de Fès.

Je vous remercie de nous avoir permis d'effectuer ce travail au sein de votre service, et aider à mener à bien nos objectifs. Je remercie également tout le personnel de votre équipe d'avoir collaboré au cours de la réalisation de ce travail.

Au Dr. ELAZHARI Mohamed

Laboratoire de Bactériologie Médicale, Centre de Biologie Médicale, Institut Pasteur du Maroc

Je vous adresse mes sincères remerciements de m'avoir soutenu et aidé à la finalisation de mes recherches en biologie moléculaire.

Au Dr. BENAICHA Nadia

Laboratoire d'épidémiologie de la Faculté de médecine et pharmacie de Fès

Je tiens à vous remercier pour votre contribution dans les études statistiques de ce travail.

Aux membres du jury ;

✓ **Pr. IRAQI Mohammed**

Professeur à la Faculté des sciences et techniques de Fès,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail.

✓ **Pr. HAGGOUD Abdellatif**

Professeur à la Faculté des sciences et techniques de Fès,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail.

✓ **Pr. CHATER Lamiae**

Professeur à la Faculté de médecine et pharmacie de Fès

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury malgré vos occupations.

✓ **Pr. EL IDRISI Mohammed**

Professeur à la Faculté de médecine et pharmacie de Fès

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury malgré vos occupations.

Un grand merci ;

A Arhoune Btissam, Tiatou et Oualid. Votre aide m'a été précieuse pour mener à bien ce travail.

Je remercie également toutes les personnes que je n'ai pas citées, qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.



SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	2
I. INFECTIONS NOSOCOMIALES	2
I.1. Origine des infections nosocomiales.....	2
I.2. Facteurs de risques d'infections nosocomiales	2
I.3. Fréquence des infections nosocomiales	2
I.4. Infections du site opératoire	3
I.4.1. Sources des infections du site opératoire	3
I.4.2. Facteurs de risques	4
I.4.3. Infections du site opératoire en chirurgie orthopédique.....	4
I.5. Principaux microorganismes responsables d'infections	4
I.5.1. Antibiorésistance des germes responsables d'infections.....	5
II. STAPHYLOCOCCUS AUREUS	5
II.1. Généralités	5
II.2. Mode de transmission de <i>S. aureus</i>	6
II.3. Réservoirs de <i>Staphylococcus aureus</i>	7
II.3.1. Le portage nasal de <i>S. aureus</i>	7
II.4. Pathogénicité de <i>Staphylococcus aureus</i>	8
II.5. Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	11
II.5.1. Mécanismes de résistances de <i>S. aureus</i>	11
II.5.2. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM).....	14
III. PORTAGE NASAL DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ET INFECTIONS	15
III.1. Prévention des infections liées au portage nasal de <i>S. aureus</i>	15
MATERIEL ET METHODES	17
I. POPULATION ET LIEU D'ETUDE	17
I.1. Critères d'inclusion	17
II. ECHANTILLONNAGE	17
III. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION	18

III.1. Recherche des Staphylocoques.....	18
III.2. Recherche des bactéries à Gram négatif.....	20
III.3. Recherche d'autres bactéries	22
IV. ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES	22
V. L'ANTIBIOGRAMME	22
VI. IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES GENES TOXINIQUES	24
VI.1. Extraction d'ADN	24
VI.2. Réaction de polymérisation en chaine (PCR).....	24
2.1. Recherche des gènes toxiques de <i>S. aureus</i>	24
VI.3. Electrophorèse sur gel d'agarose.....	28
RESULTATS & DISCUSSION	30
I. RESULTATS	30
I.1. Prévalence du portage nasal de <i>S. aureus</i>	30
I.2. Infections du site opératoire	36
I.3. Sensibilité des germes aux antibiotiques.....	38
I.4. Habillage en gènes toxiques de <i>S. aureus</i> d'origine nasal	41
II. DISCUSSION.....	43
CONCLUSION & PERSPECTIVES	51
REFERENCES	53
ANNEXES.....	60

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

AMC: Amoxicilline + Acide clavulanique (Augmentin)

AML: Amoxicilline

ARN : Acide Ribo Nucléique

ASA : American Society of Anesthesiologists

BGN : Bacille à Gram Négatif

BHI : Brain Heart Infusion

BLSE : Beta-Lactamase à Spectre Élargi

CAZ : Céftazidime

CA-SFM: Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CDC : Center for Disease Control

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CIP : Ciprofloxacine

Clfa : Protéine de liaison au fibrinogène

CN: Gentamicine

CRO : Céftriaxone

CTX : Céfotaxime

dATP : Désoxyadénosine triphosphate

dCTP : désoxycytidine triphosphate

dGTP : Désoxyguanosine triphosphate

dNTP: dinucléotide tri phosphate

dTTP : désoxythymidine triphosphate

E : Erythromycine

EbpS : Protéine de liaison à l'élastine

EDIN: Epidermal Cell Differentiation Inhibitor

EDTA : ethylene diamine tetra-acetic acid

EF: Facteur d'élongation

egc : enterotoxin gene cluster

EMB : gélose éosine bleu de méthylène

erm : erythromycin ribosome methylase

ET : exfoliatin toxin

ETA : Exfoliatines A

ETB : Exfoliatines B

FD: Fusidic Acid (acide fusidique)

FEP : Céfepime

FMPF : Faculté de Médecine et Pharmacie de Fès

FnBP : Protéine de liaison à la fibronectine

FOX: Céfoxitine

GC : Guanine Cytosine

H₂O : eau

H₂O₂ : eau oxygénée

H₂S : Sulfure d'Hydrogène

HCl : acide chlorhydrique

HLA : Human Leucocyte Antigen

HlgA : Gamma-hemolysin component A

HlgB : Gamma-hemolysin component B

HlgC : Gamma-hemolysin component C

IPM : Institut Pasteur du Maroc

ISO : Infection du Site Opératoire

ISPITSF : Institut Supérieur de Profession Infirmier et des Techniques de Santé de Fès

KF: Céphalotine

KTG : Kanamycine, Tobramycine, Gentamicine

LEV: Levofloxacin

MgCl₂ : Chlorure De Magnésium

MH : Muller Hinton

MLS : Macrolides, Lincosamides et Streptogramines

MY: Lyncomycine

NA : Acide Nalidixique

O₂ : Oxygène

OX : Oxacilline

P : Pénicilline G

pb : paire de base

PBPs : Penicillin Binding Proteins

PCR : Polymerase Chain Reaction

pH : potentiel en Hydrogène

PLP : Protéines Liant la Pénicilline

PLP2a : Protéine Liant la Pénicilline 2a
PT : Pristinamycine
PVL : Leucocidine de Panton Valentine
RCA : République Centrafricaine
RD : Rifampicine
RM : Rouge de méthyle
SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline
SASM : *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méricilline
SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative
SEA : Entérotoxines Staphylococciques A
SEG : Entérotoxines Staphylococciques G
SEI : Entérotoxines Staphylococciques I
SEM : Entérotoxines Staphylococciques M
Spa : Protéine de surface A
SXT : sulfaméthaxazole-trimethoprime (cotrimoxazole)
TEC : Teicoplanine
TNF: Facteur de Nécrose Tumorale
TSST-1 : Toxic Shock Syndrome Toxin-1
USA : United States of America (Etats Unis d'Amérique)
VA : Vacomycine
VP : voges prauskouer

Liste des figures et des tableaux

Figure 1. Schéma explicatif des différentes sources d'infection.....	4
Figure 2. Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> : (A) ses colonies sur milieu Chapman et (B) au microscope photonique (X1000) après coloration de Gram.....	6
Figure 3. Transmission des <i>S. aureus</i> en milieu hospitalier	7
Figure 4. Localisation des principaux sites de portage et les pathologies de <i>Staphylococcus aureus</i> (Wertheim et al., 2005).....	8
Figure 5. Mécanismes physiopathologiques de <i>S.aureus</i>	10
Figure 6. Variation du taux de portage nasal de <i>S. aureus</i> en fonction du sexe chez les enfants.....	31
Figure 7. Variation du taux de portage nasal de <i>S. aureus</i> en fonction de classe d'âge chez les enfants	32
Figure 8. Variation du taux du portage nasal de <i>S. aureus</i> en fonction du sexe chez les adultes.....	32
Figure 9. Variation du taux de portage en fonction du sexe et de classe d'âge chez les adultes	33
Figure 10. Taux de portage nasal de <i>S. aureus</i> en orthopédie pédiatrique selon : (A) Hospitalisation antérieure ; (B) Antibiothérapie antérieure.....	35
Figure 11. Taux de portage en fonction du sexe et d'âge chez les adultes.....	35
Figure 12. Prévalence d'infections selon le service.....	36
Figure 13. Répartition des bactéries responsables d'infections : (A) en orthopédie pédiatrique ; (B) en orthopédie adulte	37
Figure 14. Effectif des bactéries responsables d'infections en chirurgie orthopédique	37
Figure 15. Taux de résistance des entérobactéries responsables d'ISO vis à vis des antibiotiques testés	40
Figure 16. Révélation après migration sur gel d'agarose (1,5%) ; exemple pour le premier PCR multiplex chez les souches de <i>S. aureus</i>	41
Figure 17. Taux de portage de gènes toxiques chez les isolats de <i>S. aureus</i> d'origine nasal	42
 Tableau 1. Principales toxines de <i>S. aureus</i> et pathologies associés.....	10
Tableau 2. Caractérisation des colonies de <i>S. aureus</i>	18
Tableau 3. Caractérisation des colonies d'Entérobactéries sur le milieu EMB.....	20
Tableau 4. Antibiotiques testés avec leurs abréviations, les charges de disque et les diamètres critiques (en mm) recommandés par CA-SFM 2013	23
Tableau 5. Amorces utilisées pour les différentes PCR multiplex	26
Tableau 6. Conditions d'amplifications des gènes toxiques de <i>S. aureus</i>	28
Tableau 7. Répartition de la population	30
Tableau 8. Répartition du portage nasal de <i>S. aureus</i> en fonction d'âge chez les enfants	31
Tableau 9. Répartition du portage nasal de <i>S. aureus</i> en fonction d'âge chez les adultes	33
Tableau 10. Répartition du portage nasal de <i>S. aureus</i>	34
Tableau 11. Phénotypes de résistance de <i>S. aureus</i> d'origine nasal isolé chez les enfants et chez les adultes.....	38
Tableau 12. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats de <i>S. aureus</i> d'origine nasal	39
Tableau 13. Antibiorésistance de bactéries identifiées responsables d'infections	40
Tableau 14. Fréquence des gènes toxiques chez les isolats de <i>S. aureus</i>	42

Résumé

Le portage nasal de *Staphylococcus aureus* augmente le risque d'infections du site opératoire (ISO) qui restent un défi et représentent un fardeau considérable en chirurgie orthopédique.

Cette étude prospective menée de Mars à Juin 2015 dans les services de chirurgie orthopédique dont pédiatrique et adulte du CHU Hassan II de Fès a pour objectif principal de montrer la relation entre le portage nasal de *S. aureus* et les ISO à *S. aureus*, avec des objectifs secondaires suivants : étudier la prévalence et les facteurs de risque de portage nasal de *S. aureus* chez les enfants et chez les adultes, identifier le profil de résistance des isolats de *S. aureus* et de leurs gènes de toxines, évaluer la prévalence et les caractéristiques d'ISO en chirurgie orthopédique.

Les prélèvements nasaux ont été effectués sur 228 patients hospitalisés dont 126 en chirurgie orthopédique pédiatrique et 102 en chirurgie orthopédique adulte. Les prélèvements sur des plaies opératoires ont été effectués chez les patients infectés. L'étude des bactéries a été réalisée par les méthodes de microbiologie en utilisant des milieux sélectifs respectifs. Le profil de résistance aux antimicrobiens a été déterminé par la méthode de diffusion de disques sur gélose. Une PCR a été utilisée pour l'identification de 22 gènes toxiques de *S. aureus*. Les analyses statistiques ont été faites en utilisant le logiciel Epi info 7. Les données obtenues ont été comparées en utilisant le test exact de Fisher. Une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme statistiquement significative.

La prévalence globale du portage nasal de *S. aureus* était de 27,2% chez les enfants et les adultes, dont 1,6% sont des *S. aureus* résistant à la méthicilline SARM. Dans le service d'orthopédie pédiatrique, 23,8% des patients sont porteurs ; l'hospitalisation et l'antibiothérapie antérieures sont des facteurs de risques de portage nasal de *S. aureus* dans ce service. Chez les adultes, le taux de portage était de 31,37% ; les patients de sexe masculin ayant plus de 70 ans sont à haut risque de portage nasal de *S. aureus*.

Les résultats de l'antibiogramme ont montré un taux de résistance élevée pour la pénicilline G (90,3%), la résistance à la méthicilline, la gentamicine, lévofloxacine, cotrimoxazole et l'acide fusidique représente respectivement 1,6% et l'érythromycine 3,2%.

La recherche des gènes toxiques a montré que 64,5% des souches de *S. aureus* d'origine nasal possédaient au moins un gène toxique, et le gène *selm* était le plus fréquent (57,5%).

La prévalence d'ISO était de 6,1 % dans les deux services de chirurgie orthopédique. Les bactéries les plus fréquemment isolées étaient *Enterobacter cloacae* (16,7 %), *Pseudomonas aeruginosa* (11,1 %), *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* et Staphylocoque à coagulase négatif (8,3 % chacun). Aucun facteur n'a été associé à la survenue d'infection.

D'autres études similaires sont nécessaires, pour une meilleure compréhension du rôle du portage nasal de *S. aureus* dans les ISO et l'élaboration de programmes de prévention.

Mots clés : *S.aureus*, portage nasal, sensibilité aux antibiotiques, toxines, ISO.

INTRODUCTION

En dépit des progrès réalisés dans le domaine chirurgical, les infections du site opératoire (ISO) continuent d'être une cause majeure de morbidité et de mortalité qui varient en fonction du terrain et de l'intervention. Elles représentent une des complications les plus redoutées imposant le plus souvent une reprise chirurgicale, altérant le résultat clinique et radiologique tout en mettant en cause la responsabilité médico-légale de l'opérateur (Jenny, 2005).

Staphylococcus aureus est la principale bactérie responsable d'ISO en chirurgie orthopédique et traumatologique (Bonnevialle et al., 2012).

La hausse de l'incidence des infections staphylococciques est en rapport avec l'augmentation du nombre de malades immunodéprimés ainsi qu'avec la multiplication des procédures invasives qui lèsent la barrière cutanéo-muqueuse, favorisant la pénétration dans l'organisme de germes véhiculés par les patients ou par les membres du personnel soignant (transmission manuportée). Cependant, la sévérité de ces infections est associée à la production par *S. aureus* d'une grande variété des toxines notamment la Leucocidine de Penton-Valentine (PVL), les enterotoxines staphylococciques (ETS), les exfoliatines et la toxine responsable du syndrome de choc toxique (TSST-1) (Nhan et al., 2012).

Le portage nasal de *S. aureus*, observé chez 15 à 40 % de la population générale, constitue un facteur de risque d'ISO chez les malades porteurs (Kalmeijer et al., 2000 ; Kluytmans et al., 1997)

Cependant notre travail vise à montrer la relation entre le portage nasal de *S. aureus* et les ISO à *S. aureus* pour des patients en chirurgie orthopédique au sein du CHU Hassan II de Fès avec des objectifs secondaires suivants :

- Etudier la prévalence et les facteurs de risque de portage de *S. aureus* chez les enfants et chez les adultes.
- Identifier le profil de résistance des isolats de *S. aureus* et de leurs gènes de toxines.
- Evaluer la prévalence et les caractéristiques d'ISO en chirurgie orthopédique.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. INFECTIONS NOSOCOMIALES

Une infection nosocomiale est toute infection acquise dans le cadre d'une activité de soins, qu'elle soit ambulatoire ou hospitalière. Elle se manifeste plus de 48 heures après l'admission. On qualifie d'infections du site opératoire (ISO), toute infection se manifestant 1 mois après une intervention chirurgicale ou 1 an après la pose d'une prothèse. Les infections nosocomiales sont provoquées par une contamination de bactéries pathogènes (entérobactéries, *staphylococcus*, *P. aeruginosa*,...), champignons (*Aspergillus*, *candida*,...), ou de virus (Rotavirus, cytomégalovirus, virus respiratoire syncytial (RSV),...).

I.1. Origine des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales peuvent être soit d'origine endogène où le patient est infecté par ses propres germes suite à une acte invasif (c'est-à-dire traversant la peau du patient) et ou à une autre fragilité particulières (Anonymous, 1998), soit exogène où le patient est infecté par les germes qui lui sont étrangers. Cette dernière origine peut être aboutie suite à une contamination croisée entre patients, contamination par le personnel médical, ou une contamination liée à l'environnement hospitalier.

I.2. Facteurs de risques d'infections nosocomiales

Les enquêtes de prévalence constituent l'outil de base pour la surveillance des infections nosocomiales. Ainsi, les facteurs de risques sont définis pour le bon déroulement de ces enquêtes. Alors, on définit ;

Les facteurs de risque liés au patient : l'âge, immunodépression (séropositivité au VIH, chimiothérapie,...), diabète, dénutrition,...

Les facteurs de risque liés aux soins et aux interventions : le sondage, cathéter veineux, intervention chirurgicale, endoscopie,...

Les facteurs de risque liés à l'agent infectieux : la virulence, résistances aux antibiotiques,...

I.3. Fréquence des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales représentent un problème de santé publique universel.

Selon le rapport de l'OMS, Plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent d'infections contractées à l'hôpital.

Aux Etats-Unis d'Amérique, 1 patient hospitalisé sur 136 tombe gravement malade par suite d'une infection nosocomiale, ce qui équivaut à 2 millions de cas et à près de 80 000 décès chaque année. En Angleterre, plus de 100 000 cas d'infections résultant de soins de santé

aboutissent à plus de 5000 décès par an, directement imputables aux infections. Au Mexique, on estime que 450 000 cas d'infections liées à des actes de soins causent chaque année 32 décès pour 100 000 habitants (OMS, 2015).

Selon une étude multicentrique menée dans 27 hôpitaux dont quatre établissements en Algérie, dix en Égypte, trois en Italie, six au Maroc et quatre en Tunisie, afin d'évaluer la prévalence et les caractéristiques des infections nosocomiales, la prévalence des infections nosocomiales était de 10,5 %. Le taux de prévalence des patients infectés variait de 7,9 % en Algérie, à 10,9 en Égypte, à 14,3 % en Italie, 6,7% au Maroc et 13,2% en Tunisie (Amazian et al., 2010). Dans une étude de Prévalence et facteurs de risque des infections nosocomiales au CHU Hassan II de Fès (Maroc), la prévalence des infections nosocomiales était de 5,7 % (El Rhazi et al., 2007).

I.4. Infections du site opératoire

Les infections du site opératoire représentent 31 % des infections nosocomiales et sont la première cause de celles-ci aux États-Unis (Magill et al., 2012). En France, le taux brut d'incidence des ISO était de 1,47% pendant la dernière décennie (Astagneau et al., 2010). Dans les pays africains, la fréquence des infections du site opératoire est très mal connue, du fait de la rareté des études et de la variabilité des méthodologies utilisées. Les taux d'ISO suivants ont été rapportés : 9,16% pour trois hôpitaux publics au Cameroun (Ntsama et al., 2013), 18% en République Centrafricaine (Bercion et al., 2007), 7 % au Kenya (Dinda et al., 2013) et 15,5% au Nigeria (Osakwe et al., 2014). Dans le Maghreb, le taux d'infections dans les services chirurgicaux était de 6,2% pour l'Algérie, de 11,2% pour l'Égypte, de 5,3% pour le Maroc et de 3,4% pour la Tunisie (Amazian et al., 2010).

I.4.1. Sources des infections du site opératoire

Les infections du site opératoires peuvent être de sources endogènes ou de sources exogènes selon les définitions précédemment données. La proportion des microorganismes acquis par l'une ou l'autre voie varient selon le type de chirurgie :

- Chirurgie « propre contaminée ou contaminée », les microorganismes seront avant tout de source endogène.

- Chirurgie « propre », les microorganismes sont de source exogène (Annexe 4).

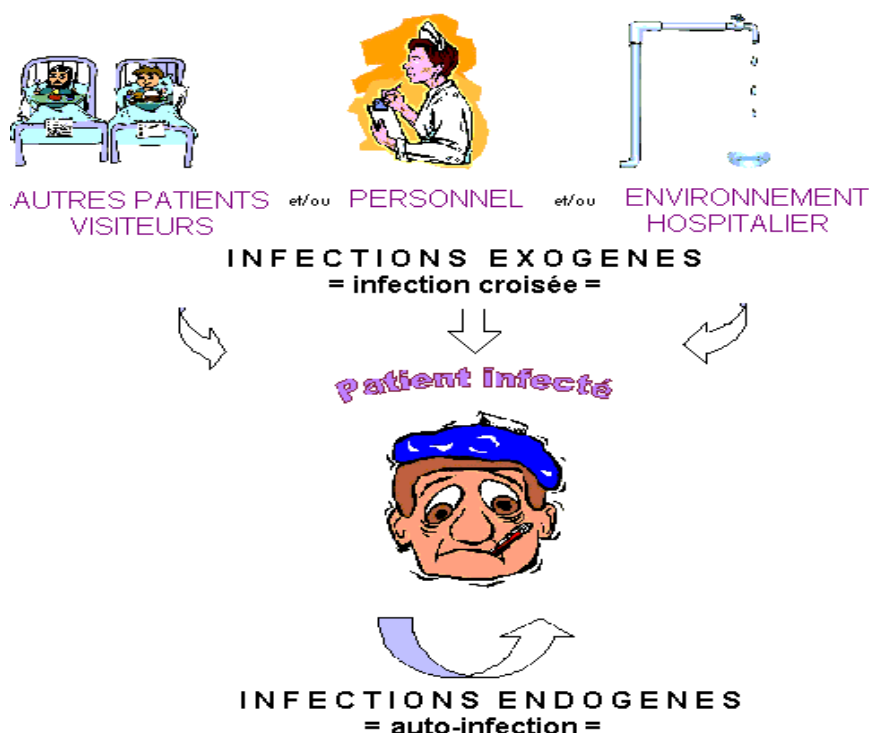


Figure 1. Schéma explicatif des différentes sources d'infection

I.4.2. Facteurs de risques

Le principal facteur de risque est l'étendue de la contamination préopératoire (Annexe 4), elle-même conditionnée par la durée de l'intervention et l'état général du patient (Kemfang et al., 2014). Les autres facteurs en jeu sont la qualité de la technique chirurgicale, la présence de corps étrangers (drains compris), la virulence des microorganismes, la présence d'une infection concomitante sur un autre site, la pratique du rasage préopératoire et l'expérience de l'équipe chirurgicale.

I.4.3. Infections du site opératoire en chirurgie orthopédique

L'infection du site opératoire en chirurgie orthopédique est une complication très grave. Elle est facilitée par la présence de matériel étranger, l'hématome ainsi que par l'ischémie et la nécrose tissulaire. Cette infection conduit à une réintervention et à une prolongation de l'hospitalisation majorant le coût de cette chirurgie. Dans une étude d'incidence des infections en chirurgie traumatologique et orthopédique était de 2,55% et *S. aureus* (29,11%) était le plus fréquent des germes responsables (Al-Mulhim et al., 2014). Selon Viqueira et al. (2014), la fréquence d'infection était de 2.8% en chirurgie orthopédique pédiatrique.

I.5. Principaux microorganismes responsables d'infections

La fréquence des agents responsables d'infection nosocomiale varie selon le site. *Staphylococcus aureus* est l'agent pathogène le plus fréquent des germes responsables des

infections du site opératoire (Osakwe et al., 2014 ; Magill et al., 2012 ; Al-Mulhim et al., 2014). D'après Osakwe et al., (2014), *Staphylococcus aureus* (61,3 %) était le plus fréquent, suivi de *Klebsiella spp* (16,1%) et de *Pseudomonas aeruginosa* (12,9 %) ensuite *Streptococcus pyogène* (9,7%). En chirurgie orthopédique, *S. aureus* était aussi le plus fréquent suivi d'*Acinetobacter spp.*, *Enterobacter/Klebsiella spp.*, et *Enterococcus* (Maksimovic et al., 2008). Par contre *Escherichia coli* était responsable d'un tiers des infections nosocomiales aseptiques de CHU Hassan II de Fès, suivi de *Candida albicans* (22,2%) et *Klebsiella pneumonia* (22,2%) (El Rhazi et al., 2007).

I.5.1. Antibiorésistance des germes responsables d'infections

L'émergence des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques demeure un problème majeur dans les services de soins. Une augmentation des bactéries à gram positif notamment *Enterococci* et *Staphylococci* résistants à la méthicilline était un problème inquiétant mais pas insoluble vu la sensibilité persistante aux glycopeptides (Vancomycine, teicoplanine). Par contre les bactéries à gram négatifs comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* parfois résistants à toutes les antibiotiques restent un souci majeur (Bollero et al., 2003). En effet une étude récemment réalisée a montré que la résistance vis-à-vis des céphalosporines de la 3^{ème} génération variait de 8 à 10% pour l'*Escherichia coli* et de 20 à 27% pour *Klebsiella pneumonia* et la résistance aux carbapénèmes chez ces isolats variait de 7 à 11% ; puis une résistance de plus de 50% d'*Acinetobacter baumannii* vis-à-vis des carbapénèmes qui ne cesse d'augmenter (Shlaes et al., 2013).

Les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, traitement commun des infections bactériennes, ont été défiés par des résistances de bactéries à gram négatif. Ainsi la production de spectre étendu de β -lactamases (BLSE) reste un mécanisme de résistance important qui entrave le traitement antimicrobien d'infections provoquées par des *enterobacteriaceae* et une grave menace de l'arsenal antibiotique actuellement disponibles (Shaikh et al., 2015).

II. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

II.1. Généralités

Staphylococcus, classé auparavant dans la communauté de *Bacillus/Lactobacillus/Streptococcus* des bactéries Gram-positives avec une faible teneur en GC (Becker et al., 2011), est maintenant classé dans une nouvelle famille de *Staphylococcaceae*, ordre de *Bacillales*, classe des bacilles. Immobiles, sphériques, non sporulé, présentés comme une coque en amas (en grappes de raisin), anaérobie facultatif, catalase positive, oxydase négatif, les *Staphylococcus* sont capable de se développer dans 10% de NaCl.

La coloration de Gram, la morphologie des colonies sur milieux gélosés et différents tests biochimiques permettent d'identifier le genre *Staphylococcus*.

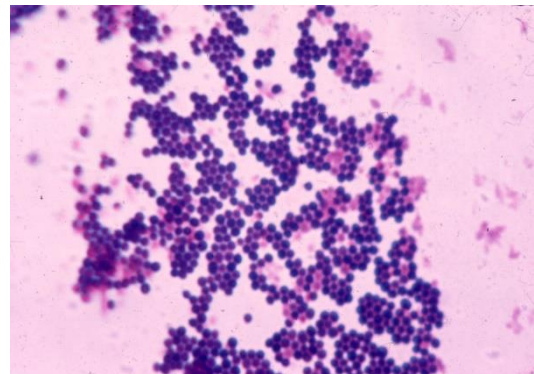
Staphylococcus aureus, commensale de l'homme, est l'espèce la plus pathogène des staphylocoques.

Il se cultive facilement sur milieux ordinaires en aérobiose comme en anaérobiose sur tous les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variables. *S. aureus* donne des colonies sur milieu usuel, lisses, rondes, bombées et brillantes. Certaines souches grâce à leur teneur en caroténoïdes sont pigmentées en jaune doré. Il pousse et fermente le mannitol sur milieu de Chapman, faisant virer le rouge de phénol au jaune.

Sur la gélose au sang, *S. aureus* forme des colonies typiquement pigmentées en jaune, lisse, toute levée et hémolytique (Becker et al., 2011). Sa capacité à coaguler le plasma, lui confère une particularité le différenciant des autres Staphylocoques. Ainsi cette propriété fournit un test simple et largement utilisé pour identifier *Staphylococcus aureus* et le distinguer des moins virulents *Staphylococcus* à coagulase négative (Lowy, 1998).



(A)



(B)

Figure 2. Aspect de *Staphylococcus aureus* : (A) ses colonies sur milieu Chapman et (B) au microscope photonique (X1000) après coloration de Gram

II.2. Mode de transmission de *S. aureus*

Les mains restent le vecteur principal de transmission interhumaine de *S. aureus*. Résistant à la dessiccation, sa transmission peut être non seulement directe (surtout par les mains du personnel soignant dans les hôpitaux), mais aussi indirecte par les objets et poussières.

Il peut également diffuser par voie aérienne chez des patients porteurs et atteints de pathologies rhino-sinusiennes.

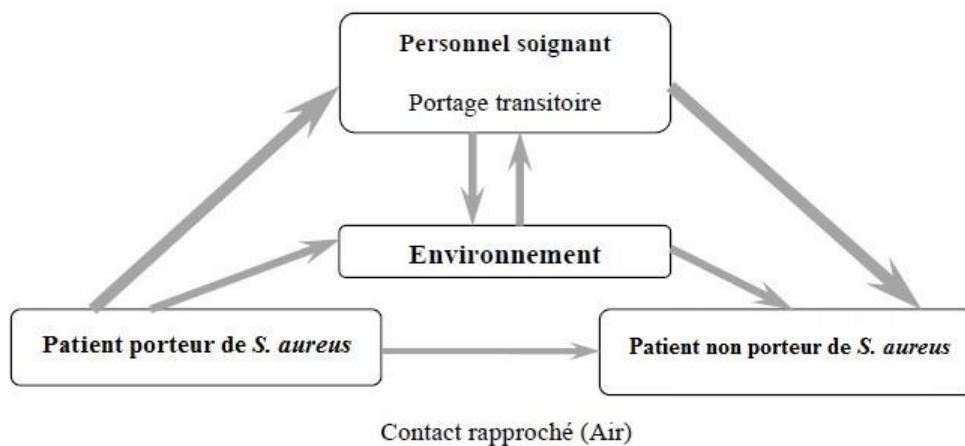


Figure 3. Transmission des *S. aureus* en milieu hospitalier

II.3. Réservoirs de *Staphylococcus aureus*

De réservoir essentiellement humain, *S. aureus* colonise la peau et les muqueuses dont son principal site de portage est *vestibulum nasi*. Les autres principaux sites de portage *S. aureus* sont le pharynx, la peau et le périnée (Figure 4), et en faible quantité dans le tube digestif.

II.3.1. Le portage nasal de *S. aureus*

La colonisation du nez par *S. aureus* peut être interprétée comme le résultat net des forces répulsives et attractives. L'acquisition de *S. aureus* nasal se fait en quatre étapes qui sont : le contact entre le nez et *S. aureus*, adhésion de *S. aureus* à certains récepteurs se trouvant au niveau nasal, survie de *S. aureus* au système de défense de l'hôte et la propagation de *S. aureus* au niveau du nez (Wertheim et al., 2005).

S. aureus pourrait provenir directement de l'air, mais probablement ce qui n'arrive pas souvent (Solberg, 2000). La transmission aérienne est importante pour propager des Staphylocoques aux différents réservoirs d'où par les mains, ils pourront gagner les cavités nasales.

Le taux de portage nasal varie selon la population étudiée, les méthodes de prélèvement et de culture. La prévalence globale du portage nasal chez l'adulte sain ne cesse de diminuer depuis 1930, en raison de l'amélioration de l'hygiène personnelle, des conditions socio-économiques et aussi la diminution de la taille des familles (Wertheim et al., 2005).

Les auteurs définissent dans la population générale trois groupes d'individus porteurs : les porteurs permanents (20%) qui présentent deux prélèvements nasaux positifs à *S. aureus* à une semaine d'intervalle (bien qu'il n'existe pas encore de définition internationalement adoptée), les porteurs intermittents (30%) et les non porteurs (50%) (Kluytmans et al., 1997).

L'âge, le sexe, l'obésité, le diabète, les antécédents d'hospitalisation et d'antibiothérapie, les pathologies chroniques et le tabagisme actif ont été associés au portage nasal de *S. aureus*.

Le taux élevé de portage nasal de *S. aureus* a été publié pour les hommes (Olsen et al., 2012), les personnes souffrant d'obésité (Botelho et al., 2014), les enfants (Boada et al., 2015) et les personnes souffrant de maladies chroniques (Sathisha et al., 2014) ; par contre le tabagisme actif a été associé à la baisse du taux de portage nasal de *S. aureus* (Olsen et al., 2012).

Des dépistages sont fréquemment réalisés avant chirurgie cardiaque et chirurgie orthopédique. Ainsi Kalmeijer et al.(2000) trouvèrent 27% porteurs de *S. aureus* en orthopédie ; Olsen et al.(2003) 20% en chirurgie cardiaque ; Berthelot et al.(2010) 20,2% en orthopédie.

Récemment, une étude menée en Chine chez les personnes saines a trouvé 16.5% de population étudiée, porteur de *S. aureus* au niveau nasal (Yan et al., 2015) ce qui coïncidait avec les résultats d'une autre étude réalisées aussi en chine dont 15,4% chez les étudiants dans une école de médecine (Du et al., 2011).

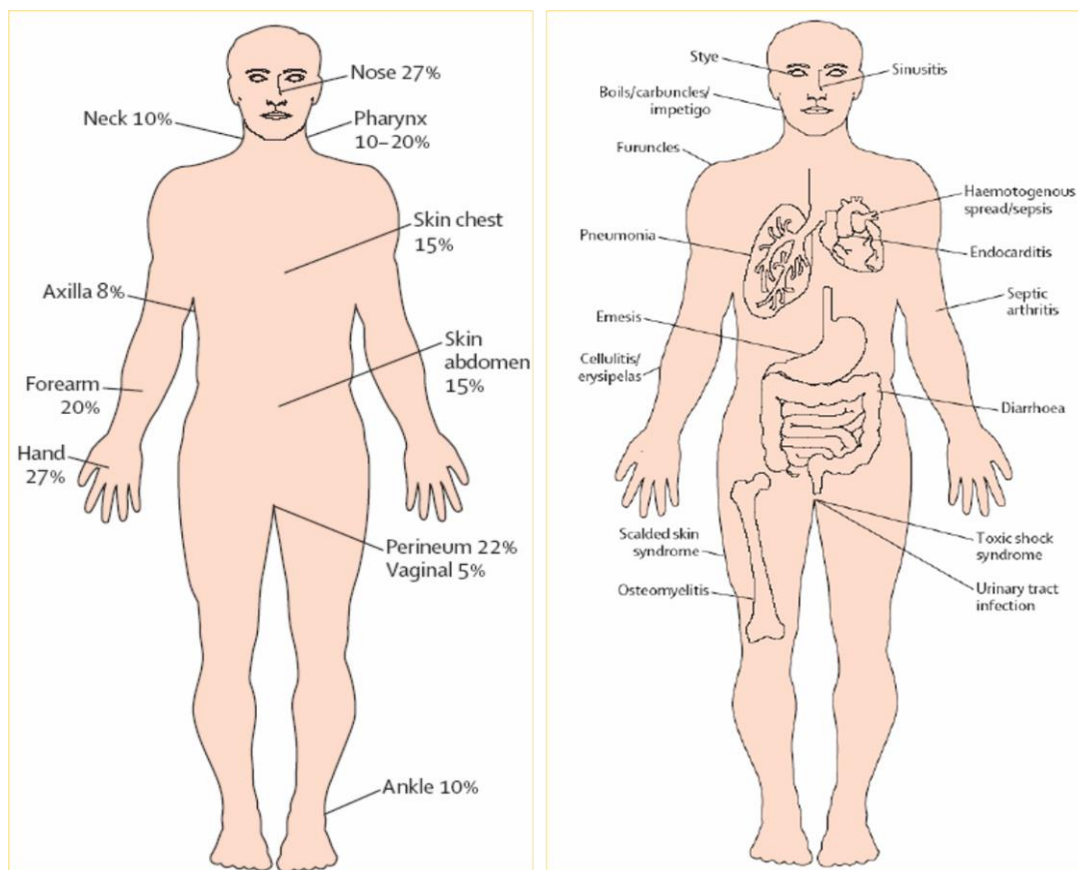


Figure 4. Localisation des principaux sites de portage et les pathologies de *Staphylococcus aureus* (Wertheim et al., 2005)

II.4. Pathogénicité de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un pathogène opportuniste avec une vaste gamme de facteurs de virulence. Il est cliniquement l'espèce le plus important de *Staphylococcus*, réputé en second lieu seulement à *S. epidermidis* comme cause de bactériémie primaire chez les patients de l'hôpital (Becker et al., 2011). La clé du succès pour *S. aureus* dans l'infection liée au dispositif

est sa capacité à former des communautés multicellulaires appelées biofilm (O’Gara et al., 2001 ; Zimmerli et al., 2004). Ainsi, il se fixe aux cellules et au collagène de la matrice extracellulaire par des protéines de surface appelées adhésines : protéine A (Spa), protéine de liaison au collagène (Sna), protéine de liaison à la fibronectine (FnBP), protéine de liaison au fibrinogène (Clfa), protéine de liaison à l’élastine (EbpS).

En effet, son pouvoir pathogène résulte de plusieurs sécrétions particulières comme les enzymes dont la coagulase-libre qui constitue un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et en les protégeant de la phagocytose ; la fibrinolysine active le plasminogène en plasmine, provoquant la dislocation des caillots endoveineux qui libère des micro-embols septiques, facteurs de septicémie et de localisations septiques secondaires ; les désoxyribonucléases (ou DNAses) sont des facteurs de destruction des noyaux cellulaires ; la hyaluronidase qui hydrolyse l'acide hyaluronique, favorisant la diffusion des staphylocoques dans le tissu conjonctif ; la lipase qui modifie les lipides bactériens, favorisant la survie des staphylocoques dans les abcès. Ces enzymes lui confèrent son pouvoir invasif dont la capacité à se multiplier et à se disséminer dans l’organisme.

La sécrétion des toxines exerçant à la fois des propriétés toxiques et antigéniques chez l’hôte lui confère son pouvoir toxique. *S. aureus* élabore 5 principales toxines :

1. *Les hémolysines*, sécrétées par la quasi-totalité des souches, ont une action cytotoxique sur de nombreuses cellules eucaryotes, notamment les globules rouges et les plaquettes. Il s’agit de : l’ α -hémolysine ou α -toxine de nature protéique, le principal agent cytotoxique élaboré par *Staphylococcus aureus*, thermostable et antigénique (Berube et Wardenburg, 2013) ; β -hémolysine, thermolabile possédant une activité de sphingomyélinase qui altère les membranes riches en lipides et diminue la viabilité des leucocytes et des lymphocytes humains (Marshall et al, 2000) ; δ -hémolysine agissant enzymatiquement sur les érythrocytes et γ -hémolysine correspondant à une combinaison d'un composant S (HlgA ou HlgC) avec un composant F (HlgB), possède un spectre action sur les cellules immunitaires (Vandenesch et al ., 2012).
2. *La leucocidine* sécrétée par 2 à 5% des souches de *S. aureus* (Perez et al., 2011 ; Pires et al., 2014), elle est formée de 2 composés, codés par des gènes distincts, agissant en synergie (luk-F et luk-S), joue un rôle important dans la formation du pus.
3. *L'exfoliatine*, protéine thermostable se fixant à certaines protéines intracellulaires cutanées (profilagrine et filagrine) provoque une épidermolyse ;
4. *Les entérotoxines*, dont il existe 7 sérotypes différents (A, B, C1, C2, C3, D, E), sont des protéines thermostables responsables d'intoxications alimentaires. Produites par la

majorité des souches de *S.aureus* (Al bustan et al., 1996), elles sont insensibles aux enzymes protéolytiques du suc digestif ;

5. La toxine responsable du choc toxique staphylococcique (TSST-1) retrouvée dans 20% des souches, cette protéine antigénique entraîne la formation d'anticorps protecteurs présents chez 85 % des sujets adultes.

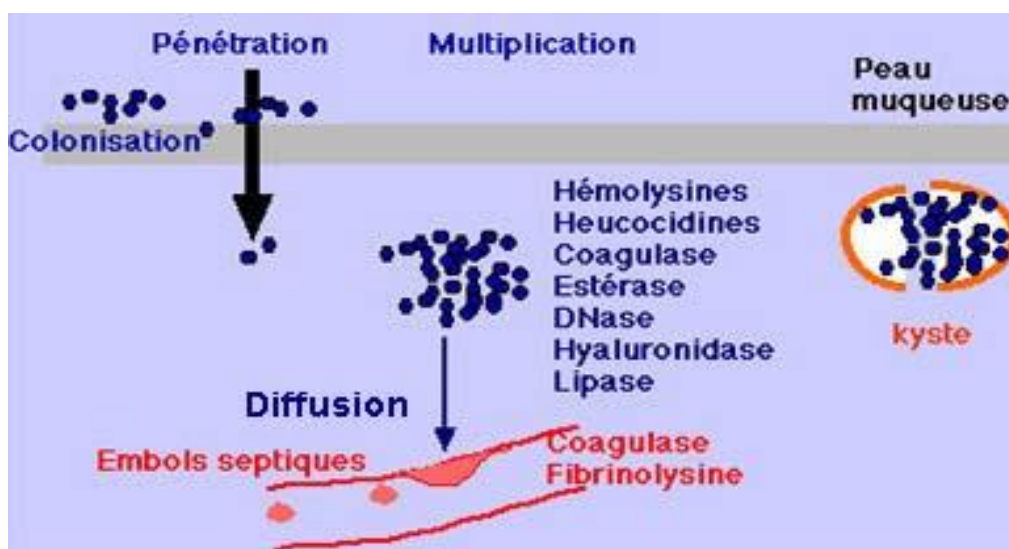


Figure 5. Mécanismes physiopathologiques de *S.aureus*

Ainsi, on distingue schématiquement deux types de syndromes cliniques selon que les symptômes sont liés à l'action directe de la bactérie ou à l'action de toxines à distance du site de l'infection : les infections suppuratives et les infections toxiques (Nhan et al., 2012).

Tableau 1. Principales toxines de *S. aureus* et pathologies associés

Syndromes	Toxines responsables
Syndrome d'exfoliation généralisée Impétigo bulleux	Exfoliatines (ET)
Pneumonie nécrosante Infections cutanées primitives Infections ostéo-articulaire	Leucocidine de Panton Valentine (PVL)
Choc toxique staphylococcique Scarlatine staphylococcique	Toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) Entérotoxines

Les infections suppuratives impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion, la destruction des tissus de l'hôte et la réponse inflammatoire. Il s'agit des infections de la peau et des tissus mous parmi lesquelles on retrouve la folliculite (infection limitée au follicule pileux), le furoncle (infection nécrotique profonde du follicule pileux), et l'anthrax (groupe de furoncles) ;

ensuite des infections de l'appareil respiratoire comme pneumopathies nécrosantes hémorragiques, des angines et sinusites chroniques, aussi des infections endovasculaires et valvulaires cardiaques comme endocardites infectieuses ; ainsi que des infections musculaires et osseuses (Figure 4) (Wertheim et al., 2005).

II.5. Sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

L'augmentation de la résistance des staphylocoques dorés aux antibiotiques est un sujet de préoccupation important. Ainsi, une surveillance épidémiologique permanente est plus que jamais nécessaire. Le problème de la multirésistance aux antibiotiques ne se pose pas dans les mêmes termes pour les staphylocoques hospitaliers et extrahospitaliers dits « communautaires » qui restent sensibles à de nombreux antibiotiques à de très rares exceptions près. Par contre, le taux de résistance des staphylocoques dorés isolés en milieu hospitalier est élevé (Leclercq, 2002).

Les antistaphylococciques les plus utilisés appartiennent aux familles suivantes : les bêta-lactamines (l'oxacilline du groupe des pénicillines M), les glycopeptides (vancomycine ou teicoplanine) en cas de résistance ou d'intolérance à cette première classe, les aminosides (gentamicine), qui permettent d'obtenir une bactéricidie rapide en association à l'une des deux classes précédentes, et les fluoroquinolones. D'autres antibiotiques sont également utilisés : les streptogramines (pristinamycine), les macrolides, la clindamycine, le cotrimoxazole, la rifampicine, l'acide fusidique et la fosfomycine. Ces trois dernières molécules sont données en association du fait des fréquences élevées de mutations. Plus récemment, de nouveaux antibiotiques sont venus renforcer l'arsenal thérapeutique : une oxazolidinone, le linézolide, un lipopeptide, la daptomycine et une glycylicycline, la tigécycline (Daurel et al., 2008).

II.5.1. Mécanismes de résistances de *S. aureus*

Staphylococcus aureus a développé différents types de résistance aux antistaphylococciques. Le mécanisme le plus fréquent est la résistance aux β -lactamines qui peut se manifester par différents profils de sensibilité, mais surtout, la résistance à la méthicilline permet de classer et surtout de choisir une option thérapeutique importante (Quincampoix et al., 2001).

a) Résistances aux beta-lactamines

Actuellement, 80 % à 95 % des souches de *S. aureus* produisent une pénicillinase (enzymes hydrolysant toutes les pénicillines sauf l'oxacilline et la cloxacilline) qui inactive la pénicilline G et l'ampicilline, rendant leurs indications obsolètes dans le cadre d'une infection à *S. aureus* (Daurel et al., 2008). La mutation des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP (PLP additionnelle : PLP2a) confère aux staphylocoques une

résistance à toutes les β -lactamines (Quincampoix et al., 2001). Le support génétique est le gène *mecA*, entraînant des phénotypes de résistance hétérogène ou homogène en fonction de son degré d'expression (Quincampoix et al., 2001). Dans ce cas, aucune bêta-lactamine n'est utilisable.

b) Résistance aux Aminosides

Parmi les aminosides, la gentamicine est l'antibiotique de choix pour le traitement des infections à staphylocoques (Batard et al., 2005). Les résistances aux aminosides sont dues à la production par les staphylocoques d'enzymes modificateuses des aminosides, codées par des gènes acquis plasmidiques ou transposables (Quincampoix et al., 2001). En cas de résistance à la gentamicine, la bactérie sera résistante à tous les aminosides (phénotype KTG).

c) Résistances aux Glycopeptides

Tous les staphylocoques sensibles à la méthicilline le sont à la vancomycine (Vancocin) ou à la téicoplanine (Targocid). La quasi-totalité des *S. aureus* est sensible à la vancomycine et à la téicoplanine qui restent les traitements de référence des infections à staphylocoques résistant à la méthicilline (Michel, 2013). Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane. Ils utilisent une caractéristique des précurseurs du peptidoglycane qui est de comporter un acyl-D-alanyl-D-alanine à leur extrémité. Les glycopeptides se lient aux D-Ala-D-Ala terminaux des précurseurs à la surface de la bactérie avec une haute affinité, bloquant ainsi l'addition des précurseurs à la chaîne du peptidoglycane naissant et prévenant des étapes ultérieures de polymérisation. Ces molécules sont lentement bactéricides (Daurel et al., 2008).

d) Résistances aux Fluoroquinolones

Les quinolones agissent en inhibant spécifiquement la synthèse de l'ADN. Les staphylocoques sont naturellement résistants aux quinolones de première génération, mais ils sont en revanche sensibles aux fluoroquinolones. La grande majorité des souches sensibles à la méthicilline restent sensibles aux fluoroquinolones. Par contre, les staphylocoques résistant à la méthicilline sont presque tous résistants aux fluoroquinolones (Batard et al., 2005). Les principaux mécanismes de résistance sont la mutation chromosomique avec modification de la cible et/ou de la perméabilité, et un mécanisme d'efflux actif (Quincampoix et al., 2001).

e) Résistances aux Macrolides, lincosamides et streptogramines

Près de 90 % des souches de *S. aureus* ou *S. epidermidis* sensibles à la méthicilline sont sensibles à l'ensemble des macrolides et apparentés. Ce sont des bactériostatiques. Ainsi Il

existe trois grands mécanismes de résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) : a) modification de la cible constitutive (résistant à tous les MLS) ou inducible (seulement résistant à l'érythromycine) de loin le plus répandu ; b) inactivation enzymatique des antibiotiques ; c) mécanisme d'efflux actif touchant plus particulièrement les streptogramines (Quincampoix et al., 2001).

f) Résistances aux autres antibiotiques

i. Acide fusidique

L'acide fusidique, représentant unique de sa famille, inhibe la synthèse protéique en interférant avec une GTPase (facteur d'élongation G (EF-G)), empêchant la progression de la chaîne polypeptidique au niveau du ribosome. Il existe deux mécanismes de résistance à cet antibiotique chez *S. aureus*: mutation dans le gène *fusA* codant le facteur d'élongation G ou diminution de la perméabilité (Daurel et al., 2008).

ii. Rifampicine

La rifampicine, bactéricide qui inhibe l'ARN polymérase, bloquant ainsi la transcription. Des mutations au sein du gène *rpoB* codant la chaîne bêta de l'ARN polymérase sont responsables du phénotype de résistance à cet antibiotique.

iii. Oxazolidinones

Le linézolide est le seul représentant de cette famille. Inhibiteur de la synthèse protéique, il interagit au niveau de la sous-unité 50S du ribosome et bloque une étape précoce de la synthèse protéique. C'est un antibiotique bactériostatique très actif sur *S. aureus*, incluant les SARM (Dutronc et al., 2005).

iv. Lipopeptide

La daptomycine, un bactéricide, est le seul représentant de cette famille. Le mécanisme d'action de cet antibiotique n'est pas encore complètement élucidé. Son insertion dans la membrane cytoplasmique (mécanisme calcium dépendant) crée une dépolarisation de la membrane et une fuite d'ions potassium. La bactérie arrête alors toute synthèse d'ADN, d'ARN et de protéines (Daurel et al., 2008).

v. Glycylcycline

La tigécycline est le seul représentant de cette sous-classe dérivée des tétracyclines. Cet antibiotique est actif contre les souches de staphylocoques hébergeant les classiques mécanismes de résistance aux tétracyclines par protection du ribosome ou efflux actif. Les souches de staphylocoques résistantes sont exceptionnelles (Rodloff et al., 2008).

vi. Sulfamides et triméthoprim

Chez *S. aureus*, la résistance aux sulfamides est fréquente (30 à 50 % des souches de *S. aureus* sensibles à la méthicilline et 80 à 95 % des SARM), souvent par modification de la cible. Les acides foliques sont impliqués dans la synthèse des acides nucléiques. En raison de leur activité anti-folique, les sulfamides et le triméthoprim interfèrent avec la synthèse des acides nucléiques et des protéines (Daurel et al., 2008).

Vii. Cotrimoxazole

C'est une association de sulfaméthoxazole et de triméthoprim (Bactrim). Il est actif sur les souches de SARM, mais bien qu'existe une fréquente sensibilité sur l'antibiogramme, les SARM sont peu sensibles in vivo, avec des échecs cliniques décrits (Domart., 1997).

II.5.2. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)

Il a été découvert en 1961 en Grande-Bretagne (Jevons, 1961), soit deux ans à peine après le début de l'utilisation de la méthicilline. Le SARM, principale bactérie multirésistante aux antibiotiques, désormais courant en milieu hospitalier, était responsable de 37 % des cas fatals de septicémie au Royaume-Uni en 1999, soit 4 % de plus qu'en 1991. En 2013, il était responsable jusqu' à 14,6% des septicémies obstétriques et de gynécologie à staphylocoques (Butt et al., 2013). Elles causent aussi des maladies graves, souvent mortelles (Arias, 2008). On rapporte des prévalences de SARM en Afrique variant de 25 à 50 % dans la majorité d'études, avec une forte croissance du taux des SARM (de 16 à 41%) en Tunisie sur une période de 2002-2007, une diminution du taux (36 à 24%) de pour l'Afrique du sud entre 2006-2007 et un faible taux de prévalence stable (19%) pour le Maroc entre 2003-2008 (Falagas et al., 2013).

Généralement, les infections du SARM ne se développent pas chez les personnes en bonne santé. Elles sont plus courantes chez celles qui sont déjà hospitalisées car la bactérie trouve souvent un point d'entrée dans le corps, tel qu'une plaie chirurgicale ou un tube d'intraveineuse. Dans une étude conduite en Iran, on retrouve précisément 25,7% de portage nasal à *S. aureus* sensible à la méthicilline (SASM) et 5,3% à *S. aureus* résistant à la méthicilline(SARM) (Askarian et al., 2009).

Bien que les infections du SARM se développent généralement chez les personnes hospitalisées, il peut arriver que le personnel hospitalier et les visiteurs soient infectés. Depuis vingt-cinq ans, des cas d'infections à SARM contractées en dehors de l'hôpital, dites communautaires sont régulièrement rapportés (Li S et al., 2014).

Le plus souvent ces infections surviennent chez des patients ayant des facteurs de méthicillino-résistance comme une hospitalisation récente, une antibiothérapie récente, une toxicomanie, un

contact avec un patient ou un soignant colonisé à SARM. Il s'agit généralement de souches hospitalières qui ont disséminé en dehors de l'hôpital.

III. PORTAGE NASAL DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ET INFECTIONS

Les infections à staphylocoques peuvent se produire régulièrement chez les patients hospitalisés et avoir des conséquences graves, malgré l'antibiothérapie. Le portage nasal de *S. aureus* peut conduire à la propagation de ce germe, à d'autres parties du corps (Kluytmans et al., 1995).

L'association entre portage nasal à *S. aureus* et les staphylococcies a été décrite pour la première fois par Danbolt en 1931 en étudiant les furonculoses (Wertheim et al., 2005). Ensuite d'autres auteurs ont essayé de démontrer la relation entre le portage de *S. aureus* et les infections souvent rencontrées dans les services de soins : en effet, Kluytmans et al. (1995) identifièrent le portage nasal de *S. aureus* comme un facteur de risque d'infections à *Staphylococcus aureus* ; Jakob HG, et al. (2000) trouvèrent que la souche responsable d'infections en chirurgie cardio-thoracique est génétiquement identique à celle qui colonise le nez des patients dans 76 % des cas (origine endogène) ; Kalmeijer et al. (2000), en Chirurgie orthopédique montrèrent que le portage nasal est liée à la survenue des infections à *S. aureus* ; Von Eiff C et al. (2001) trouvèrent que la souche responsable de l'infection fut présente dans le nez du patient dans 80 % des cas ; selon Saadatian-Elahi, et al. (2008), en secteur hospitalier français, les patients porteurs de *S. aureus* nasal ont un risque accru de contracter une infection liée aux soins due à cet organisme. Bode et al.,(2010) dans leur étude, trouvèrent que le risque d'infections à *S. aureus* fut plus élevé chez porteurs de *S. aureus*, et que la décolonisation nasale et extranasale à l'admission peut réduire ce risque. En plus, le portage nasal de *S. aureus* fut identifié comme facteur de risque pour le développement des infections nosocomiales des patients hospitalisés en médecine générale (Davis et al., 2004).

III.1. Prévention des infections liées au portage nasal de *S. aureus*

Après avoir établi l'association du portage nasal de *S. aureus* aux infections, les chercheurs ont étudiés des mesures préventives. La pratique de décolonisation avec ou sans dépistage préalable a été trouvé efficace pour réduire les risques d'infections chez les patients orthopédiques (Lepelletier et al., 2011 ; Kalmeijer et al., 2002). En cas de portage des SARM, les précautions complémentaires sont nécessaires pour éviter une transmission croisée ainsi que d'autres mesures spécifiques comme l'antibioprophylaxie chirurgicale. L'application de mupirocine (antibiotique ayant pour effet l'arrêt de la synthèse protéique bactérienne) intra nasal a été associée à une réduction de l'incidence d'ISO en chirurgie orthopédique et cardio-thoracique (Kallen et al., 2005) ; puis un impact sur les taux d'ISO à *S. aureus* en chirurgie cardiaque a été

démontré suite à l'administration nasale préventive de mupirocine (Nicholson et al., 2006). Par contre Konvalinka et al. (2006) n'ont pas trouvé cet effet en chirurgie cardiaque. Cependant d'autres produits peuvent être utilisés dans la décolonisation nasale comme l'huile essentielle d'arbre à thé (Dryden et al., 2004 ; Ammerlaan et al., 2009), la pâte de Chlorhexidine (Segers et al., 2006), biguanide (Octenidine) (Krishna et al., 2010), prontoderm (surfactant+polyhexanide) (Hamson et al., 2010), récemment LTX-109 (antimicrobien synthétique peptidomimétique) (Nilsson et al., 2015), etc. Ainsi, Wilcox et al.(2003) ont baissé l'incidence d'ISO à SARM de 2,3 à 0,33%, avec des douches de triclosan et une pommade de mupirocine intranasale préopératoire ; Puis Kim et al.(2010) ont démontré que des douches à la chlorhexidine et une crème de mupirocine intranasale pendant cinq jours réduisaient le risque d'ISO parmi les porteurs.

Afin de prévenir le risque de recolonisation à *S. aureus*, certains auteurs proposent de reconduire le schéma de décolonisation toutes les trois semaines en cas d'hospitalisation prolongé (Bode et al., 2010 ; Robicsek et al., 2009). Cependant et malgré son efficacité, cette stratégie ne représente qu'une des mesures à mettre en œuvre pour réduire le taux des ISO d'origine endogène et certaines ISO à *S. aureus* survenant chez des patients non détectés porteurs de *S. aureus*.

MATERIEL ET METHODES

I. POPULATION ET LIEU D'ETUDE

Il s'agit d'une étude prospective menée de Mars à Juin 2015, soit une période de trois mois, dans les services de chirurgie orthopédique du CHU Hassan II de Fès. Nous avons recruté notre population d'étude dans le service de traumatologie ortho pédiatrique et de chirurgie réparatrice (orthopédie pédiatrique), et celui de traumatologie orthopédique et ostéo-articulaire (orthopédie adulte).

Le service d'orthopédie pédiatrique localisé au deuxième étage du bâtiment G ; il comprend 13 salles avec 28 lits, y compris la salle 4 qui est une salle de brûlés. Ensuite, le service d'orthopédie adulte occupe le quatrième étage du bâtiment B ; il comprend deux ailes avec une capacité d'accueil de 12 lits côté femme et 17 du côté homme (annexe 2).

Avant chaque prélèvement, le consentement verbal d'un patient ou d'un adulte responsable du patient (en pédiatrie) a été demandé. A la fin, les informations du patient ont été recueillies grâce à une fiche d'exploitation (Annexe 1) en consultant son dossier médical.

I.1. Critères d'inclusion

Sont inclus tous les patients hospitalisés dans les deux services pendant la période d'étude.

En orthopédie pédiatrique, les prélèvements nasals de tous les patients hospitalisés ont été recueillis sauf pour la salle 4 de brûlés.

II. ECHANTILLONNAGE

Les prélèvements nasaux ont été effectués en enfonçant l'écouvillon humidifié (imbibé dans 0,5ml de l'eau physiologique stérile) dans la narine et en vrillant dans la narine au moins trois fois et en le laissant en place pendant 10 à 15 secondes. Le même écouvillon est utilisé pour les deux narines (droite et gauche).

Immédiatement après les prélèvements, les écouvillons ont été acheminés directement au laboratoire de Microbiologie de la Faculté de médecine et pharmacie de Fès (FMPF), où 0,5 ml du bouillon cœur-cerveille (BHI) concentré a été ajouté puis incubé pendant 24 heures à 37°C pour l'enrichissement.

En cas de prélèvement sur plaie, il a été fait à l'aide d'un écouvillon stérile sec, acheminé au laboratoire où est ajouté 1ml du bouillon cœur-cerveille normal puis incubé pendant 24 heures à 37°C.

III. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION

III.1. Recherche des Staphylocoques

Après l'enrichissement, la culture du bouillon est ensemencée sur milieu Chapman, par la méthode de strie par épuisement tout en diminuant la charge bactérienne sur l'anse afin d'obtenir des colonies isolées, puis incubée à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Le milieu Chapman est un milieu semi-synthétique et sélectif des bactéries halophiles plus particulièrement fermentant le mannitol. Ce milieu est sélectif des *staphylococcus* qui par fermentation du mannitol font virer le milieu au jaune.

Les colonies mannitol + avec un contour lisse, légèrement convexe avec une pigmentation (couleur jaune à jaune-orange) ont été retenues pour les tests d'identification.

Tableau 2. Caractérisation des colonies de *S. aureus*

Aspect	contour lisse, légèrement convexe, Jaune ou jaune-orangé.
Mannitol	Positif (virage au jaune)
Gram	Positive (les coques groupées en grappe de raisin)
Catalase	Positive
Coagulase	Positive

Une purification sur milieu Chapman a été effectuée au cas où on trouvait des colonies caractéristiques de *S.aureus* non isolées. Pour chaque échantillon, une colonie caractéristique bien isolée est repiquée sur la gélose nutritive et incubée pendant 24 heures à 37°C.

Les isolats ont été identifiés grâce aux différents tests dont :

1. Coloration de Gram

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. Elle permet ainsi, avec la reconnaissance de la morphologie et le mode de groupement des bactéries de renseigner sur l'ordre dont fait partie les bactéries étudiées. Cette coloration est effectuée de façon suivante :

a) On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne puis on le fixe à la flamme du bec bunsen

b) La coloration au violet de Geantine : Recouvrir le frottis fixé de cristal violet oxalaté (réactif prêt à l'emploi). Laisser agir une minute. Rejeter le violet.

Recouvrir alors l'étalement de lugol (réactif prêt à l'emploi). Laisser 15 à 20 secondes. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau. Rejeter et remplacer par la même

solution (deux fois et pendant 20 secondes à chaque fois).

Laver à l'eau.

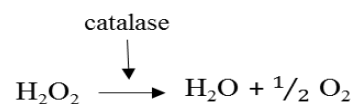
c) Décoloration par l'alcool, en le versant goutte à goutte sur la lame inclinée obliquement. Puis laver immédiatement à l'eau.

d) Contre coloration avec de la Safranine: ajouter une solution de safranine et laisser agir 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau. Puis sécher la lame à la flamme du bec bunsen.

e) observation microscopique, à l'immersion (x1000) ; les bactéries à Gram positif sont colorées en violet, les bactéries à Gram négatif sont colorés en rose. (bioMérieux), Réf. 55542.

2. Recherche de la catalase

Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène. Celui-ci étant très toxique, certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce à des enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette dernière est capable de décomposer de l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



Ce test a pour but d'orienter l'identification des coques et bacilles Gram (+) positives. En effet, il permet de différencier les staphylocoques des streptocoques (qui sont catalases négatifs). Sur une lame de verre propre, on dépose une goutte de H_2O_2 , puis la mettre en contact avec une colonie isolée prélevée directement avec une anse. Ainsi, si des bulles se forment, la bactérie possède la catalase, sinon elle n'en possède pas.

3. Recherche de la coagulase libre

La coagulase ou staphylocoagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence de la coagulase dans un bouillon de culture de *Staphylococcus* est considérée comme un critère absolu d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine.

Ce test a été effectué selon le protocole qui suit :

- Dans un tube à hémolyse contenant 0,3ml du bouillon Cœur-cerveille (BHI), inoculer l'isolat puis incuber 24 heures à 37°C

- Verser 0,3 ml de plasma de lapin;

- Homogénéiser et incuber à 37 °C.

Les résultats ont été obtenus dans un délai de 4 à 24 heures d'incubation. La coagulation a été observée en inclinant le tube à hémolyse ; si le plasma a coagulé, le germe possède une

coagulase. Cela implique que le fibrinogène a été transformé en fibrine (insoluble) : *Staphylococcus aureus* (Biokar, Ref. BR00200).

III.2. Recherche des bactéries à Gram négatif

Les bactéries à gram négatif regroupe de nombreux genres de bactéries, très ubiquitaires, et ceux-ci sont fréquemment rencontrés en pathologie infectieuse, dont les entérobactéries (des bacilles à Gram négatif).

La culture du bouillon (pour le prélèvement sur plaie) est ensemencée sur le milieu EMB pour l'isolement des bactéries à gram négatif ; et sur milieu « PSEUDOMONAS AERUGINOSA SELECTIVE AGAR » sélectif de *Pseudomonas aeruginosa* grâce à sa coloration caractéristique verte sur ce milieu et son odeur caractéristique après incubation pendant 24 heures à 37°C.

Tableau 3. Caractérisation des colonies d'Entérobactéries sur le milieu EMB

Caractéristiques des colonies	Microorganismes
Colonies violet foncé, bombées, faiblement confluentes, de 2 à 3 mm de diamètre, à centre noir étendu à plus des 3/4 du diamètre et qui présentent un éclat métallique verdâtre en lumière réfléchie	<i>Escherichia coli</i>
Colonies bleuâtres, à centre brun foncé, aplaties, plutôt confluentes, de 4 à 6 mm de diamètre, qui ne présentent qu'occasionnellement un éclat métallique	<i>Enterobacter aerogenes</i>
Colonies violettes à léger reflet métallique	<i>Citrobacter</i>
Colonies brunâtres, muqueuses	<i>Klebsiella</i>
Colonies ambrées, transparentes	<i>Salmonella et Shigella</i>

Les colonies caractéristiques bien isolées sont repiquées sur la gélose nutritive pour les tests d'identification dont :

a) Test oxydase

La réaction d'oxydase se fait à l'aide de disques de commerce prêts à l'emploi sur lequel on dépose une colonie. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violet à l'endroit où on a déposé la colonie, soit immédiatement, soit quelques secondes après. Le test est négatif pour les entérobactéries et positif après 20 à 30 secondes pour *Pseudomonas aeruginosa*.

b) Tests d'identification classique

- Milieu Kligler-Hajna (KH)

Coulé en pente et en culot, c'est un milieu renfermant du lactose, du glucose, du thiosulfate et des ions ferreux et le rouge de phénol comme indicateur de pH. C'est un milieu au niveau duquel on recherche 4 caractères : la fermentation du glucose qui se traduit par virage au jaune du milieu qui était rouge à l'origine (culot) ; la fermentation du lactose sur la pente qui se traduit également par virage au jaune ; la présence de gaz qui se matérialise par le décollement du culot et/ou la présence de bulles d'air ; la production de H₂S qui se traduit par une coloration noire.

-Milieu citrate de Simmons

Ce milieu coulé en tubes est utilisé pour l'étude de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone. Les bactéries qui utilisent le citrate comme seule source de carbone entraînent une alcalinisation du milieu, d'où le virage du vert au bleu. Les colonies sont ensemencées en surface de gélose, la lecture se fait après 24 heures d'incubation à 37°C.

-Milieu MRVP

Ce milieu permet l'étude des produits de fermentation du glucose ainsi la différenciation entre les fermentations : « acides mixtes », identifiée par le test de rouge méthyle et « butylène glycolique » par le test VP. Une souche RM (+) est habituellement VP (-) et vice-versa ainsi ces test ont été effectués à travers le test du RM en ajoutant des gouttes de rouge de méthyle dans le milieu MRVP contenant la culture de 24heures. Le virage du milieu en rouge indique le test RM (+) et VP (-), pour le RM (-) le milieu reste inchangé.

-Milieu Urée - Indole

C'est un milieu liquide a été utilisé pour rechercher la production d'uréase qui se révèle par un changement de la coloration du jaune au rose, ainsi que la présence d'indole qui se matérialise par un anneau rouge, après addition du réactif de Kovacs.

c) Galerie API

Une galerie API est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de microorganismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. La galerie API 20E (BioMerieux) a été utilisée pour identifier les entérobactéries. Un inoculum de 0,5McFarland a été préparé à partir d'une culture jeune (18-24 heures), puis ensemencée sur la Galerie selon les recommandations du fabricant. La lecture a été effectuée après incubation de 24 heures à 37°C, puis le code obtenu a été déchiffré en se référant au catalogue.

III.3. Recherche d'autres bactéries

Les autres bactéries ont été isolées sur gélose au sang. Ce milieu est spécialement conçu pour mettre en évidence les réactions hémolytiques et pour favoriser la croissance des germes particulièrement exigeants aérobies et anaérobies. Après l'enrichissement, la culture du bouillon a été ensemencée par la méthode de strie par épuisement tout en diminuant la charge bactérienne sur l'anse afin d'obtenir des colonies isolées, puis incubée à 37°C pendant 24 heures.

IV. ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES

Pour chaque patient ayant fait l'objet d'un prélèvement, un questionnaire a été établi, comportant les données suivantes : Identification du patient (âge, sexe, adresse), date d'entrée et de sortie, motif d'hospitalisation, Hospitalisations antérieures, date de prélèvement et de l'intervention, antibiothérapie en cours, résultat du dépistage nasal,...

Les données ont été entrées et analysées en utilisant le logiciel Epi info 7. La description de la population a été faite en utilisant les fréquences, moyenne, écart-type.

Les variables définies étaient le sexe, l'âge, l'antibiothérapie (si le patient était sous traitement antibiotique ou pas), le moment de prélèvement (à l'entrée c'est-à-dire avant 48 heures dans le service, ou après 48heures), l'antécédent d'hospitalisation antérieure, l'antibiothérapie antérieure, l'habitation, les antécédents de diabétique et/ou de tabagisme chronique et le résultat du dépistage de *S. aureus*.

Un croisement des variables d'étude est effectué sous forme de tableaux 2x2 ou 2xn avec l'utilisation du test exact de Fisher pour comparer les effectifs, à un intervalle de confiance de 95%.

La probabilité p (valeur p) a été utilisée pour définir les facteurs de risque. Ainsi, les variables ayant la probabilité inférieure à 0,05 après croisement avec les résultats du dépistage ont été retenues comme facteurs associés (facteurs de risque).

V. L'ANTIBIOGRAMME

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Il permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. Il a été réalisé par la méthode de diffusion de disques, en milieu gélosé MH selon les recommandations du CA-SFM

2013. Un inoculum de 0,5McFarland a été préparé pour chaque souche bactérienne, puis dilué à un dixième. Le milieu MH a été ensemencé par écouvillonnage et des disques d'antibiotiques ont été déposés. Après une incubation pendant 18 à 24 heures à 37°C, les diamètres d'inhibition ont été mesurés manuellement à l'aide d'une règle graduée. La comparaison pour chaque antibiotique du diamètre d'inhibition mesuré à celui donné par le CA-SFM nous a permis de définir les catégories cliniques des souches: Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

Tableau 4. Antibiotiques testés avec leurs abréviations, les charges de disque et les diamètres critiques (en mm) recommandés par CA-SFM 2013

<i>Staphylococcus spp</i> (A)				Enterobacteries (B)			
ATB	Abréviation	Charge	Diamètre	ATB	Abréviation	Charge	Diamètre
Penicilline G	P	10UI	29	Amoxicilline	AML	15 µg	16-21
Oxacilline	OX	5µg	20	Augmentin	AMC	30 µg	16-21
Gentamicine	CN	15 µg	20	Cefalotine	KF	30 µg	12-18
Vancomycine	VA	30 µg	17	Céfoxitine	FOX	30 µg	15-22
Teicoplanine	TEC	30 µg	17	Cefotaxime	CTX	30 µg	23-26
Erythromycine	E	15UI	19-22	Ceftazidime	CAZ	30 µg	21-26
Lincomycine	MY	15 µg	17-21	Ceftriaxone	CRO	30 µg	23-26
Pristinamycine	PT	15 µg	19-22	Cefepime	FEP	30 µg	19
Cotrimoxazole	SXT	25 µg	13-16	Ertapeneme	ETP	10 µg	26-28
Levofloxacin	LEV	5 µg	17-20	Gentamicine	CN	15 µg	16-18
Rifampicine	RD	30 µg	24-24	Acide nalidixique	NA	30 µg	15-20
Fosfomycine	FOS	50 µg	14	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	22-25
Acide fusidique	FD	10 µg	24	Cotrimoxazole	SXT	25 µg	13-16
				Fosfomycine	FOS	50 µg	14
Lecture : R < D < S R : Résistant, S : Sensible, X-Y : intermédiaire (I)							

<i>Acinetobacter spp.</i> (C)				<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (D)			
ATB	Abréviation	Charge	Diamètre	ATB	Abréviation	Charge	Diamètre
Ticarcilline	TIC	75 µg	18-22	Aztréonam	AM	30 µg	19-27
Ticarcilline/ac clavulanique	TCC	85 µg	18-22	Imipeneme	IPM	10 µg	17-22
Piperacilline	PIP	75 µg	12-18	Tobramycine	TOB	10 µg	16
Piperacilline/Tazobactam	TPZ	85 µg	14-19	Ceftazidime	CAZ	30 µg	19
Ceftazidime	CAZ	35 µg	19-21	Ticarcilline	TIC	75 µg	22
Gentamicine	CN	15 µg	16	Cefepime	FEP	30 µg	19
Tobramycine	TOB	10 µg	16	Piperacilline	PIP	75 µg	18
Amikacine	AK	30 µg	15-17	Gentamicine	CN	15 µg	16
Cotrimoxazole	SXT	25 µg	13	Amikacine	AK	30 µg	15-17
Ciprofloxacine	CIP	5 µg	22	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	22-25
Tigecycline	TIG	30 µg	13-16				
Imipeneme	IPM	10 µg	17-24				
Rifampicine	RD	30 µg	14-19				

La résistance à la méthicilline a été déterminée à l'aide d'un disque d'oxacilline, testé sur gélose Muller-Hinton hypersalé (supplémentée de 3% NaCl). Les bactéries résistantes à l'oxacilline ont été considérées résistantes à la méthicilline.

VI. IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES GENES TOXINIQUES

VI.1. Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN bactérien a été faite par la technique de choc thermique : à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures à 37°C sur gélose nutritive, quelques colonies sont mises en suspension dans 500 µl de l'eau ultra-pure (eau de biologie moléculaire, dépourvue de DNase et ARNase) et portées à 100°C pendant 10 min puis transférées directement dans la glace (0°C) pendant 2 min. 300µl du surnageant sont ensuite récupérés après une centrifugation de 14000rpm pendant 10 min. Le surnageant contenant l'ADN a été conservé à -20 °C.

VI.2. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Le principe de la Polymerase Chain Reaction (PCR), consiste à amplifier spécifiquement une séquence cible.

Les réactions de PCR sont réalisées dans un volume réactionnel d'amplification de 50 µl contenant 2µL de l'ADN des souches; 0,4µM de chaque amorce; 100 µM de déoxynucléosides triphosphates (dTTP, dCTP, dGTP, dATP); 2U de Taq DNA polymérase ; 2,5 mM de MgCl₂ et 5 µl tampon 10 X de PCR.

2.1. Recherche des gènes toxiques de *S. aureus*

Ces gènes codent pour les protéines responsables du pouvoir toxique de *S. aureus*. Les enterotoxines (SE), enterotoxines like (SEL) et le TSST-1 sont des exotoxines superantigéniques. Leurs gènes sont localisés sur des éléments mobiles (plasmides, phages ou îlots de pathogénicité), ce qui favorise leur dissémination horizontale entre les souches. Les exfoliatines (A, B et D) sont des protéines epidermolytiques. L'exfoliatine A étant thermostable est codé par un gène chromosomique (*eta*) alors que l'exfoliatine B, thermolabile est codée par un gène plasmidique (*etb*). Les hemolysines (α , β et δ) ainsi que les toxines synergohymenotropes (Hémolysine γ , les leucotoxines) provoquent la formation de canaux membranaires laissant passer les ions, d'où leur appellation de « pore-forming toxins ». Les toxines inhibitrices de facteurs de différenciation cellulaire (EDIN) sont des exoenzymes qui inactivent par ADP-ribosylation la protéine cellulaire RhoA. Les gènes codants les protéines

EDIN A et C sont portées par un plasmide alors que le gène codant l'EDIN B est chromosomique.

2.1.1. Gènes recherchés

Les gènes des entérotoxines staphylococciques (SE) A, B, C, D, H et R (*sea,seb,sec,sed,seh et selr*), des entérotoxines staphylococciques like (SIE) K, L, M, O, P, et Q (*selk, sell, selm, selo, selp et selq*), de la toxine TSST-1 (*tst*), des toxines inhibitrices de la différenciation des cellules épidermiques (EDIN) A,B et C (*edin A, edinB et edin C*), des exfoliatines A,B et C (*eta,etb,etd*), des leucotoxines M et de Panton-Valentine (*lukM et lukPV*) et de l'hémolysine bêta (*hly*) ont été recherchés par des PCR multiplex.

La détermination du profil des gènes toxiques des souches de *S. aureus* a été effectuée suite à six réactions de PCR multiplex :

- ❖ PCR Multiplex N°1 pour la recherche des gènes : *lukM/seh/selm/tst*, en utilisant comme témoin positif l'ADN des souches de référence SA 72 (*sem, tst*), SA 113 (*seh, tst*) et SA117 (*lukM*) du laboratoire de bactériologie de l'IPM.
- ❖ PCR Multiplex N°2 pour la recherche des gènes : *etb/sed/ser/sec/eta*, en utilisant comme témoin positif l'ADN des souches de référence D11 (*sed, ser, sec*), SA50 (*eta*), SA90 (*etb*) du laboratoire de bactériologie de l'IPM.
- ❖ PCR Multiplex N°3 pour la recherche des gènes : *sea/hly/selp/luk-PV* en utilisant comme témoin positif l'ADN des souches de référence : SA 101 (*sea*), SA 71(*selp*), SA34 (*hly*), SA28 (*PLV*) du laboratoire de bactériologie de l'IPM.
- ❖ PCR Multiplex N°4 pour la recherche des gènes : *seb/selq*, en utilisant comme témoin positif l'ADN des souches de référence : SA 159 (*seb*), SA 147(*selq*) du laboratoire de bactériologie de l'IPM.
- ❖ PCR Multiplex N°5 pour la recherche des gènes : *etd /sell/selo*, en utilisant comme témoin positif l'ADN des souches de référence : SA 74(*etd,sel,seo*) du laboratoire de bactériologie de l'IPM.
- ❖ PCR Multiplex N°6 pour la recherche des gènes : *edin A,B,C / selk* en utilisant comme témoin positif l'ADN des souches de référence : SA 100 (*selk*), SA105 (*edin A/C*), SA136 (*edin B*) du laboratoire de bactériologie de l'IPM.

2.2.2. Mélanges réactionnels pour les différentes PCR multiplex

Le mélange réactionnel d'amplification est spécifique pour chacune des six PCR multiplex. La concentration des différents constituants était variable d'une PCR à l'autre :

- ✓ Pour les PCR multiplex N°1, N°5 et N°6 : les mélanges réactionnels ont été réalisés dans un volume final de 40 µL. Mais en concentration finale, les réactifs nécessaires étaient différents de :
- ✓ 1X du tampon Taq PCR ; 5mM de MgCl₂ ; 0,125mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,187µM de chaque amorce et 2 µL d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°1.
- ✓ 2X du tampon Taq PCR ; 3,75mM de MgCl₂ ; 0,125mM de dNTP ; 1,5 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,187 µM de chaque amorce et 2 µL d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°5.
- ✓ 1X du tampon Taq PCR ; 5mM de MgCl₂ ; 0,125mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,0075 µM de chaque amorce et 2 µL d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°6.

Pour les PCR multiplex N°2, N°3 et N°4 : les mélanges réactionnels ont été réalisés dans un volume final de 50 µL. Mais en concentration finale, les réactifs étaient de :

- ✓ 1X du tampon Taq PCR ; 5 mM de Mgcl₂ ; 0,125mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,15 µM de chaque amorce et 2 µL d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°2.
- ✓ 2X du tampon Taq PCR ; 4mM de MgCl₂ ; 0,1mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,15 µM de chaque amorce et 2 µL d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°3.
- ✓ 2X du tampon Taq PCR ; 3mM de MgCl₂ ; 0,1mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,15 µM de chaque amorce et 2 µL d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°4.

Amorces utilisées

Le tableau suivant montre les amorces utilisées pour les différentes PCR multiplex (Holtfreter et al., 2007).

Tableau 5. Amorces utilisées pour les différentes PCR multiplex

Toxines	Gènes	Nom amorce	Séquence (5'→ 3')	Taille amorce	Taille fragment (pb)
LukM	<i>lukM</i>	luk-M 1	TGGATGTTACCTATGCAACCTAC	23n	780
		luk-M2	GTCGTTTCCATATAATGAATCACTAC	27n	
SEH	<i>seh</i>	seh 1	CAATCACATCATATGCGAAAGCAG	24n	376
		seh 2	CATCTACCCAAACATTAGGACC	22n	
SEIM	<i>selm</i>	selm1	CTATTAATCTTTGGGTTAATGGAGAAC	27n	300
		selm 2	TTCAGTTTCGACAGTTTGTGTCAT	26n	
TSST -1	<i>tst</i>	tst 1	TTCACATTTTGTAAGAGTGCAGACCCACT	30n	180
		tst2	TACTAATGAATTTTTTATCGTAAGCCCTT	30n	

Tableau 5 b. Amorces utilisées pour la détection des gènes <i>etb</i> , <i>sed</i> , <i>selr</i> , <i>sec</i> , et <i>eta</i> dans la PCR MTX 2					
Toxines	Gènes	Nom amorce	Séquence (5'→ 3')	Taille amorce	Taille fragment (pb)
ETB	<i>etb</i>	etb-1	CAGATAAAGAGCTTTATACACACATTAC	23n	612
		etb-2	AGTGAACCTATCTTTCTATTGAAAAACACTC	31n	
SED	<i>sed</i>	sed-1	GAATTAAGTAGTACCGCGCTAAATAATATG	30n	492
		sed-2	GCTGTATTTTCTCCGAGAGT	22n	
SER	<i>selr</i>	ser-1	AGCGGTAATAGCAGAAAAATG	20n	363
		ser-2	TCTTGTACCGTAACCGTTT	20n	
SEC	<i>sec</i>	sec-1	CTTGTATGTATGGAGGAAATAACAAAACATG	30n	275
		sec-2	CATATCATACCAAAAAAGTATTGCCGT	26n	
ETA	<i>eta</i>	eta-1	ACTGTAGGAGCTAGTGCATTGT	23n	190
		eta-2	TGGATACTTTTGCTATCTTTTCATCAAC	30n	

Tableau 5 c. Amorces utilisées pour la détection des gènes <i>sea</i> , <i>luk-PV</i> , <i>hlb</i> , et <i>seip</i> dans la PCR MTX 3					
Toxines	Gènes	Nom amorce	Séquence (5'→ 3')	Taille amorce	Taille fragment (pb)
SEA	<i>sea</i>	sea-1	GAAAAAGTCTGAATTGCAGGGAACA	26n	560
		sea-2	CAAATAAATCGTAATTAACCGAAGGTTT	28n	
PVL	<i>lukSV-PV</i>	pvl-1	ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA	31n	433
		pvl-2	GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAGC	27n	
HLB	<i>hlb</i>	hlb-1	GTGCACTTACTGACAATAGTGC	22n	309
		hlb-2	GTTGATGAGTAGCTACCTTCAGT	23n	
SEIP	<i>seip</i>	seip-1	GAATTGCAGGGAAGTCT	18n	182
		seip-2	GGCGGTGTCTTTGAAC	17n	

Tableau 5 d. Amorces utilisées pour la détection des gènes <i>seb</i> , et <i>selq</i> dans la PCR MTX 4					
Toxines	Gènes	Nom amorce	Séquence (5'→ 3')	Taille amorce	Taille fragment (pb)
SEB	<i>seb</i>	seb-1	ATTCTATTAAGGACACTAAGTTAGGGA	27n	404
		seb-2	ATCCCGTTTCATAAGGCGAGT	21n	
SEIQ	<i>selq</i>	selq-1	ACCTGAAAAGCTTCAAGGA	19n	204
		selq-2	CGCCAACGTAATTCCAC	17n	

Tableau 5 e. Amorces utilisées pour la détection des gènes <i>etd</i> , <i>sell</i> , <i>selo</i> dans la PCR MTX 5					
Toxines	Gènes	Nom amorce	Séquence (5'→ 3')	Taille amorce	Taille fragment (pb)
ETD	<i>etd</i>	etd-1	CAAACATATCATGTATCAAGGATGG	24n	358
		etd-2	CCAGAATTTCCCGACTCAG	19n	
SEIL	<i>sell</i>	sell-1	GCGATGTGTAGGTCCAGGAAAC	20n	235
		sell-2	CATATATAGTACGAGAGTTAGAACCATA	28n	
SEIO	<i>selo</i>	selo-1	AGTTTGTGTAAGAAGTCAAGTGAGA	26n	180
		selo-2	ATCTTTAAATTGAGCAGATATTCATCTAAC	31n	

Tableau 5 f. Amorces utilisées pour la détection des gènes <i>edinB</i> , <i>edinA/C</i> et <i>selk</i> dans la PCR MTX 6					
Toxine	Gène	Nom amorce	Séquence (5'→ 3')	Taille amorce	Taille fragment (pb)
EDIN	<i>edinB</i>	edinB-1	GACTTAGITGAAGCTACTAAATGGGG	26n	560
		edinB-2	CAGCATATTCTGTCCCTCTAGG	22n	
	<i>edinA/C</i>	edinA/B-1	GATTTAGATGAGGCAACTAAATGGGG	28n	
		edinA/B-2	CAGCGTATTCTGTGCCTCTAGG	22n	
SEIK	<i>selk</i>	selk1	ATGCCAGCGCTCAAGGC	17n	134
		selk-2	AGATTCATTGAAAAATTGTAGTTGATTAGCT	31n	
		selK-3	TGCCAGCGCTCAAGGTG	17n	

2.2.3. Conditions d'amplification

Les conditions d'amplification ont été les mêmes pour les six PCR multiplex. Le programme PCR utilisé est décrit dans le tableau 6

Tableau 6. Conditions d'amplifications des gènes toxiques de *S. aureus*

N° PCR multiplex	Nombre de cycle	Température (°C)	Durée
1	1	94	5min
2	25	94	30 secs
3		55	30 secs
4		72	1min
5	1	72	10min
6			

VI.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

La technique de l'électrophorèse sur gel d'agarose est basée sur la séparation des acides nucléiques chargés négativement sous l'effet d'un champ électrique. Cette séparation s'effectue à travers la matrice du gel d'agarose: les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures. Le tampon de migration utilisé a été le Tris-Borate- EDTA 0.5X (TBE 0,5 x).

✓ Protocole de préparation du gel d'agarose

- Dans une bouteille ou flacon en verre stérile, mélanger 3g de poudre d'agarose avec 200ml du Tampon TBE (Tris-Borate-EDTA) 0.5 X.
- Faire fondre le mélange au four à micro-ondes jusqu'à l'obtention d'un mélange parfaitement transparent.
- Laisser refroidir.
- Ajouter la solution de bromure d'éthidium (BET) (3 fois 31.5 µl pour 50ml) et mélanger bien.
- Couler le gel dans le support après avoir mis les peignes.
- Laisser refroidir jusqu'à la solidification de gel.

✓ Electrophorèse des produits d'amplification

- Retirer les peignes après polymérisation du gel.

- Placer le gel dans la cuve d'électrophorèse.
- Remplir la cuve électrophorèse avec le tampon TB 0.5X

On dépose 4µl du DNA marqueur de poids moléculaire dans le premier puits. Ensuite, 4 µl de produit amplifié (ADN) sont mélangés avec une goutte du Blue de bromothymol et déposés dans les puits. Les témoins négatif et positif ont été utilisés. Couvercle fermée, le voltage de migration est réglé à 120V / 45min. Une fois la migration finie, le gel est placé dans le système d'imagerie à UV pour la visualisation des bandes d'ADN.

RESULTATS & DISCUSSION

I. RESULTATS

I.1. Prévalence du portage nasal de *S. aureus*

❖ Description de la population

Nous avons procédé à l'écouvillonnage nasal sur 228 patients dans les deux services de chirurgie orthopédique dont 126 en orthopédie pédiatrique et 102 en orthopédie adulte. Une grande population de sexe masculine a été remarquée. L'âge de la population variait de 0 à 18 ans en orthopédie pédiatrique et de 16 à 90 ans en orthopédie adulte.

Tableau 7. Répartition de la population

	Orthopédie pédiatrique	Orthopédie adulte	Dans les 2 services
Patients	126	102	228
Sexe(%)			
M	63,5 (N=80)	68,63 (N=70)	65,8
F	36,5 (N=46)	31,37 (N=32)	34,2
			Sex ratio : 1,92
Age moyen (ans)	8,27±4,78	47,3±19,7	25,73±23,75
M	9,8±4,53	44,6±19,69	25,66±22,5
F	6,85±5,17	53,22±18,69	25,87±26,14
Prélèvement (%)			
A l'entrée	74,6 (N=94)	71,57 (N=73)	73,25 (N=167)
Plus de 48 hrs	25,4 (N=32)	28,43 (N=29)	26,75 (N=61)
Antibiothérapie (%)			
Aucun	77,8 (N=98)	53,9 (N=55)	67,1 (N=153)
Sous ATB	22,2 (N=28)	46,1 (N=47)	32,9 (N=75)
Hospit. Antérieure (%)			
Non	76,98 (N=97)	68,63 (N=70)	73,25 (N=167)
Oui	23,02 (N=29)	31,37 (N=32)	26,75 (N=61)
Antibio antérieure (%)			
Aucun	88,1 (N=111)	74,5 (N=76)	82 (N=187)
Oui	11,9 (N=15)	25,5 (N=26)	18 (N=41)
Antécédent (%)			
Diabète	1,59 (N=2)	4,9 (N=5)	3 (N=7)
Tabagisme	-	1,9 (N=2)	0,9 (N=2)

❖ Colonisation du *S. aureus*

Sur 228 patients ayant participé dans notre étude, 62 patients (27,2 %) étaient porteurs de *S. aureus* dont 69,35 % d'hommes et 30,65 % de femmes. La moyenne d'âge des patients colonisée était de 8,16 ans pour les enfants et 47,28 ans pour les adultes.

a) Orthopédie pédiatrique

Parmi 126 prélèvements nasaux, 30 *S. aureus* ont été isolés chez les enfants. La prévalence du portage nasal de *S. aureus* est de 23,8% avec 70% des porteurs de sexe masculin et 30% de sexe féminin. Aucune différence significative entre les patients porteurs et non-porteurs n'a été observée selon le sexe, l'âge, le lieu d'habitation, le moment de prélèvement, l'antibiothérapie ni selon les antécédents de diabétique ($p > 0,05$). Par contre, une différence hautement significative a été observée pour le portage nasal de *S. aureus* selon l'hospitalisation antérieure ($P = 0,01$), ainsi que l'antibiothérapie antérieure ($p = 0,002$).

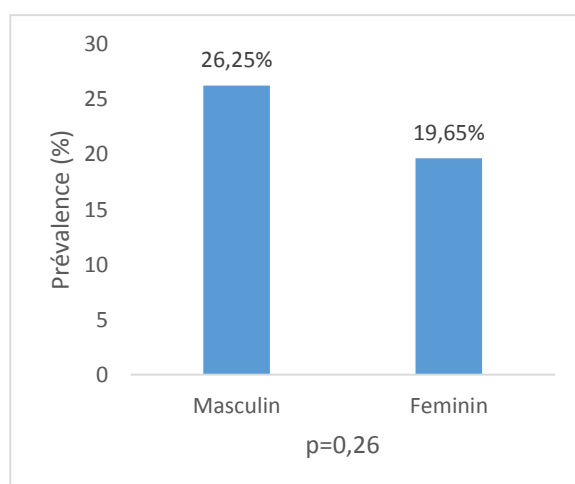


Figure 6. Variation du taux de portage nasal de *S. aureus* en fonction du sexe chez les enfants

Nous avons repartit l'âge des patients selon 3 classes : [0 ; 6 ans [, [6 ; 12 ans [et [12 ; 18 ans].

Selon les classes d'âge, la différence n'était pas significative ($p > 0,05$).

Tableau 8. Répartition du portage nasal de *S. aureus* en fonction d'âge chez les enfants

Service d'orthopédie pédiatrique				
Classe d'âge	M	F	Total	$p = 0,79$
[0 ; 6[	7 (N=23)	4 (N=21)	11 (N=44)	
[6 ; 12[	7 (N=29)	3 (N=13)	10 (N=42)	
[12 ; 18]	7 (N=28)	2 (N=12)	9 (N=40)	

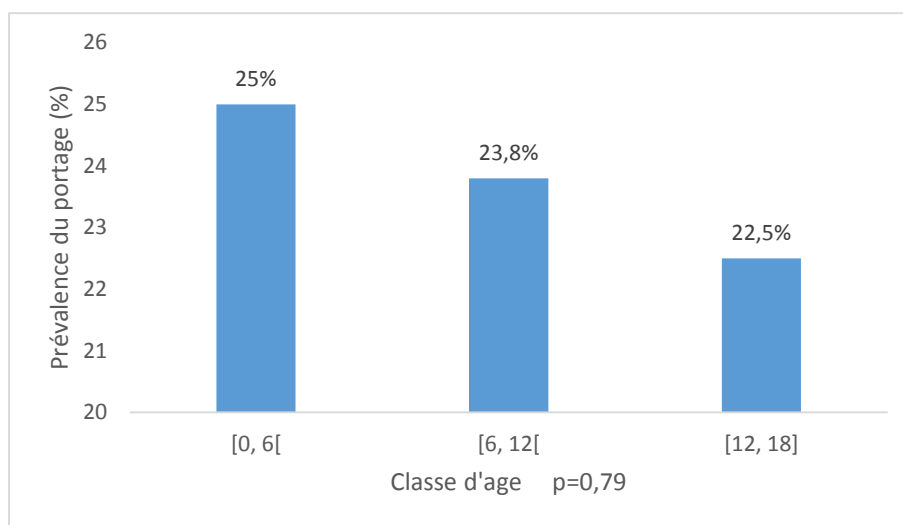


Figure 7. Variation du taux de portage nasal de *S. aureus* en fonction de classe d'âge chez les enfants

b) Orthopédie adulte

Chez les adultes, 31,37 % ont été colonisés à *S. aureus*. 68,75 % étaient de sexe masculin et 31,25 % de sexe féminin (Figure 8). A part l'âge avancé chez le sexe masculin, aucune autre variable n'a été associée au portage nasal de *S. aureus* vue que la différence entre les porteurs et les non-porteurs n'était en aucun cas significative ($p > 0,05$) (Tableau 10). Cependant, les patients de sexe masculin ayant plus de 70 ans avaient un taux élevé de portage nasal de *S. aureus* (Figure 9).

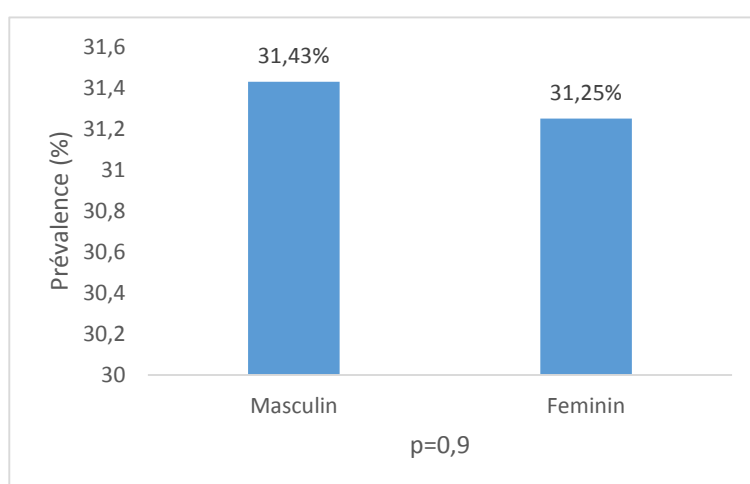


Figure 8. Variation du taux du portage nasal de *S. aureus* en fonction du sexe chez les adultes

L'âge de la population adulte a été reparti en 4 classes : < 30 ans, [30 ; 50 ans [, [50 ; 70 ans] et >70 ans. Une forte variation du taux de portage a été observée entre les hommes de la classe d'âge de « plus de 70 ans » et le reste des patients d'orthopédie adulte (Figure 11).

Tableau 9. Répartition du portage nasal de *S. aureus* en fonction d'âge chez les adultes

Service d'orthopédie adulte				
Classe d'âge	M	F	Total	p=0,4
< 30	5 (N=17)	3 (N=5)	8 (N=22)	
[30 ; 50[	7 (N=28)	1 (N=6)	8 (N=34)	
[50 ; 70]	4 (N=16)	4 (N=15)	8 (N=31)	
>70	6 (N=9)	2 (N=6)	8 (N=15)	

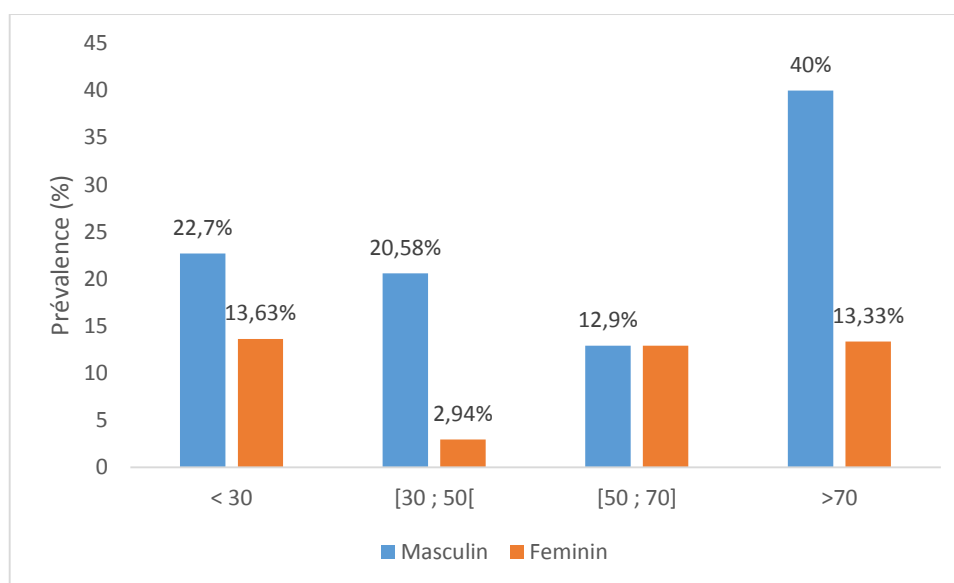


Figure 9. Variation du taux de portage en fonction du sexe et de classe d'âge chez les adultes

Tableau 10. Répartition du portage nasal de *S. aureus*

Service	Orthopédie pédiatrique		Orthopédie adulte	
Prévalence	23,8%		31,37%	
Sexe(%)				
M	21 (N=80)	p=0,26	22 (N=70)	p=0,9
F	9 (N=46)		10 (N=32)	
Selon l'âge		P= 0,79	p=0,4	
Lieu d'habitation		P=0,17	p=0,29	
Prélèvement				
A l'entrée	21 (N=94)	p=0,5	23 (N=73)	p=0,9
Plus de 48 heures	9 (N=32)		9 (N=29)	
Antibiothérapie				
Aucun	23 (N=98)	p=0,87	17 (N=55)	p=0,9
Sous ATB	7 (N=28)		15 (N=47)	
Hospit. antérieure				
Non	18 (N=97)	p=0,01	21 (N=70)	p=0,6
Oui	12 (N=29)		11 (N=32)	
Antibio antérieure				
Aucun	22 (N=110)	p=0,002	23 (N=76)	p=0,68
Oui	8 (N=16)		9 (N=26)	
Antécédent				
Diabète	1 (N=2)	p=0,38	3 (N=5)	p=0,16
Tabagisme	-		0 (N=2)	p=0,33

❖ Facteurs de risques de portage nasal de *S. aureus*

A. Orthopédie pédiatrique

L'étude statistique a montré l'absence de relation significative entre l'âge, le sexe, l'antibiothérapie, les antécédents de diabétique, le lieu d'habitation, le moment de prélèvement et le portage nasal du *S.aureus*. En revanche une relation significative a été démontrée en ce qui concerne la prise antérieure d'antibiotique et l'antécédent d'hospitalisation ($P<0,05$). Les patients hospitalisés auparavant, et ceux qui auraient été sous traitement antibiotique présentent un taux de portage nasal de *S. aureus* très élevé (Figure 10).

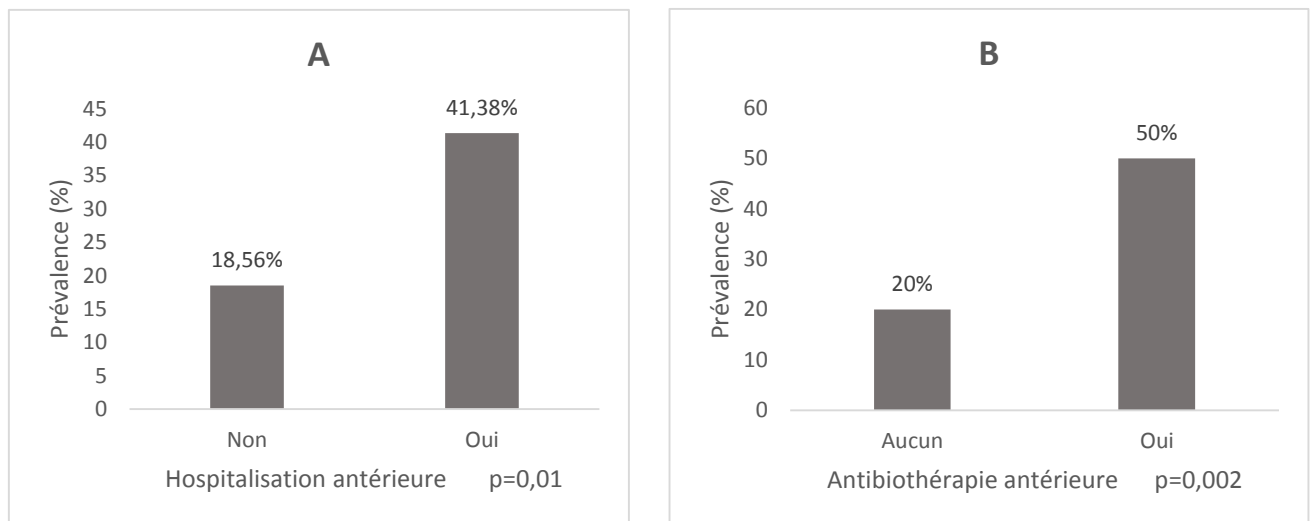


Figure 10. Taux de portage nasal de *S. aureus* en orthopédie pédiatrique selon : (A) Hospitalisation antérieure ; (B) Antibiothérapie antérieure

B. Orthopédie adulte

Dans le service d'orthopédie adulte, les patients de sexe masculin ayant plus de 70 ans avaient un taux de portage plus élevé. Cependant, une différence significative a été observée entre les hommes porteurs et les non-porteurs ayant plus de 70 ans ($p=0,014$). Le fait d'avoir plus de 70ans (être plus âgé) pour les hommes a été retenu comme facteur de risque du portage nasal de *S. aureus*.

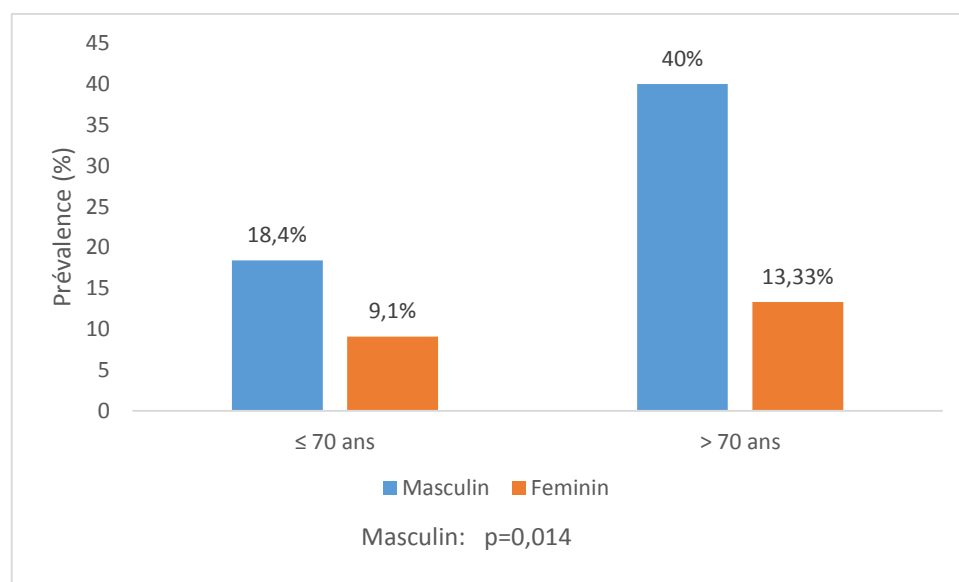


Figure 11. Taux de portage en fonction du sexe et d'âge chez les adultes

I.2. Infections du site opératoire

Au cours de notre étude, le taux de prévalence d'infection a été de 6,1% dans les deux services de chirurgie orthopédique. L'âge moyen des patients infectés était de 10,75 ans pour les enfants et de 47,5 ans pour les adultes. La majorité d'infections a été rapportée chez des adultes. La prévalence d'infection était de 3,17% pour l'orthopédie pédiatrique et 9,8% pour l'orthopédie adulte.

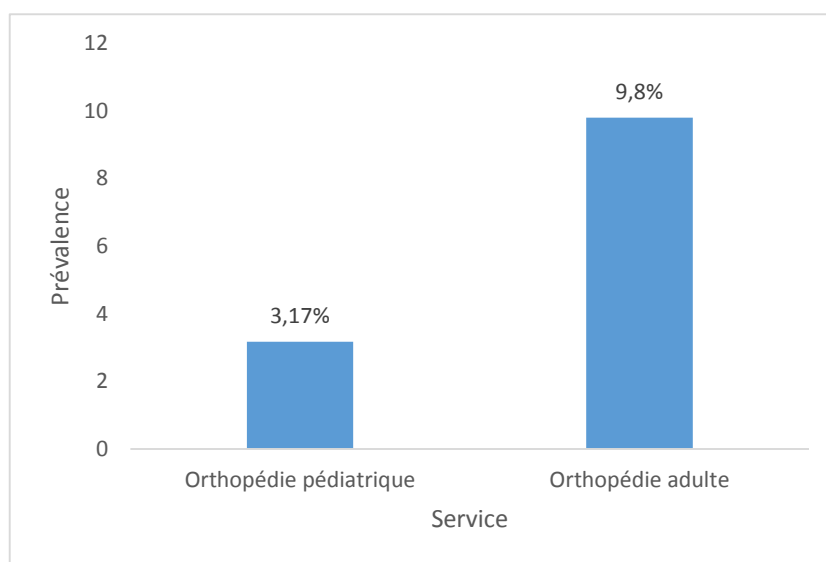


Figure 12. Prévalence d'infections selon le service

L'étude statistique n'a montré aucune relation entre l'infection et d'autres variables étudiées ($p>0,05$). L'âge, le sexe, le diabète et le portage nasal de *S. aureus* n'étaient pas des facteurs de risques d'infections.

Pendant la période d'étude, 7 souches bactériennes ont été identifiées. Nous avons considéré comme « prélèvement négatif », le prélèvement pour lequel aucune colonie n'a poussée après ensemencement sur tous milieux spécifiques d'isolement des bactéries aérobies.

Au service d'orthopédie pédiatrique, le taux d'infections était de 3,17% (4 cas d'infections) parmi lesquelles une infection était multi bactérienne avec 3 germes (*P. aeruginosa*, *K. pneumonia* et *E. coli*). Un prélèvement négatif a été enregistré. Les germes responsables identifiés étaient un staphylocoque à coagulase négatif (SCN), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter cloacae*.

Par contre, l'orthopédie adulte avait le taux d'infections de 9,8 % (10 cas d'infections). Parmi les 8 prélèvements analysés, 4 étaient négatifs. Les germes identifiés étaient *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Figure 13).

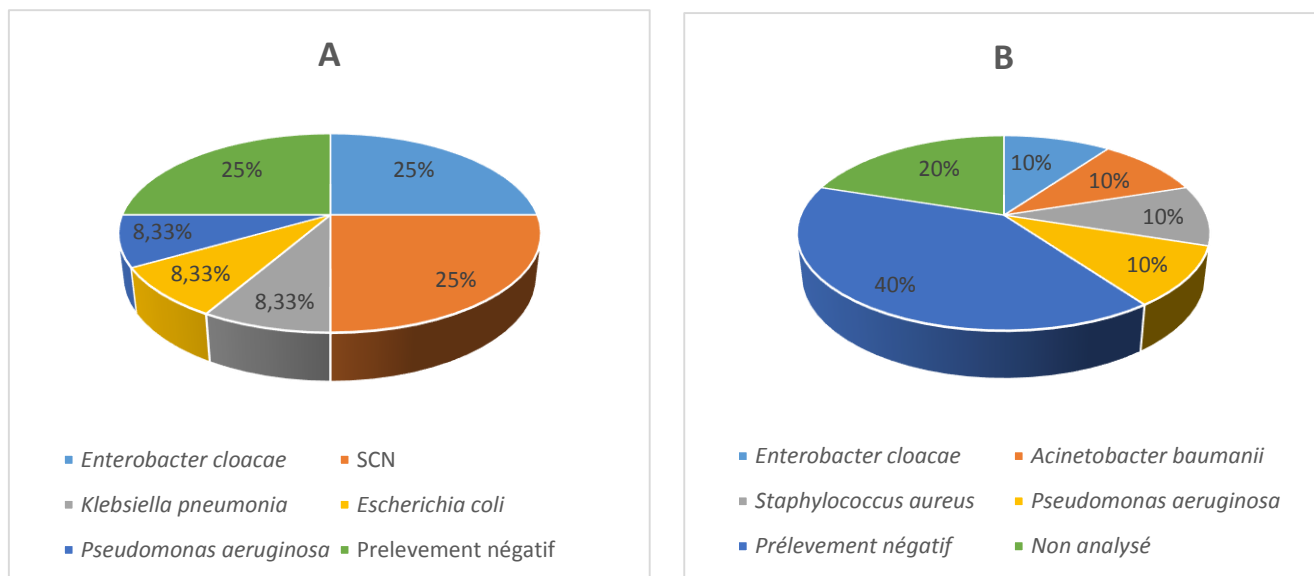


Figure 13. Répartition des bactéries responsables d'infections : (A) en orthopédie pédiatrique ; (B) en orthopédie adulte

Parmi les germes (identifiés) incriminés, *Enterobacter cloacae* était le plus fréquent (16,67%) suivi de *Pseudomonas aeruginosa* (11,1%) (Figure 14).

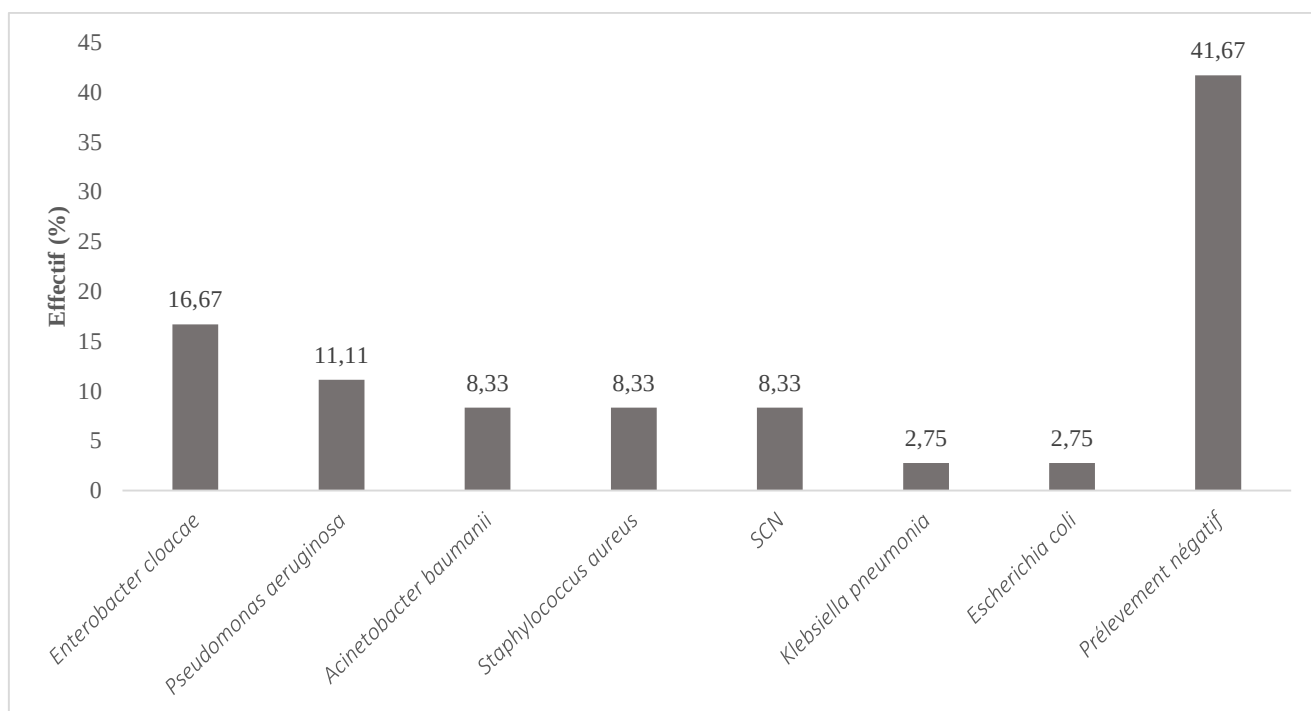


Figure 14. Effectif des bactéries responsables d'infections en chirurgie orthopédique

I.3. Sensibilité des germes aux antibiotiques

Nous avons testé la sensibilité des germes vis-à-vis des antibiotiques en suivant les recommandations de CA-SFM 2013.

❖ Antibiorésistance de *S. aureus* d'origine nasal

Parmi, les 62 isolats de *S. aureus* d'origine nasal, 30 ont été isolées chez les patients du service d'orthopédie pédiatrique et 32 pour l'orthopédie adulte.

La sensibilité des souches vis-à-vis de 13 antibiotiques testés a été décrite dans le tableau 12.

Toutes les souches isolées ont présentés un phénotype sauvage pour les glycopeptides (vancomycine et teicoplanine), la lincomycine, le pristnamycine, la fosfomycine et la rifampicine ; et un faible taux de résistance aux aminosides, au cotrimoxazole, aux fluoroquinolones, à l'acide fusidique et à l'oxacilline (1,6% pour chacun).

Les 6 isolats (9,7%) ont présenté 100% de sensibilité aux bêta-lactamines, aux glycopeptides, aux fluoroquinolones, aux aminosides, à l'erythromycine, lincomycine et pristnamycine, à la fosfomycine, l'acide fusidique, rifampicine et au cotrimoxazole.

Un fort taux de résistance à la pénicilline G a été observé (90,3%) ; 83,3% pour les souches isolées chez les enfants et 96,8% pour les adultes. D'autres résistances ont été retrouvées pour les souches isolés du service d'orthopédie adulte, par contre la résistance à la pénicilline G était la seule trouvée pour les souches d'orthopédie pédiatrique.

Nous avons mis en évidence trois (3) phénotypes de résistances dont Phénotype P, P-E-FD et P-CN-LEV-SXT-OX (Tableau 11).

Tableau 11. Phénotypes de résistance de *S. aureus* d'origine nasal isolé chez les enfants et chez les adultes

Phénotype de résistance	Nombre d'isolats
Sauvage	6
P	54
P-E-FD	1
P-CN-E-LEV-SXT-OX	1

P: Pénicilline G, E: Erythromycine, FD: Acide fusidique,
CN: Gentamicine, LEV: Lévofoxacine, SXT: Cotrimoxazole,
OX: Oxacilline

Au cours de notre étude, aucune résistance à la méthicilline n'a été trouvée au niveau du service d'orthopédie pédiatrique, par contre un SARM (3,1%) a été isolé dans l'orthopédie adulte.

Tableau 12. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats de *S. aureus* d'origine nasal

	Orthopédie pédiatrique			Orthopédie adulte			
Antibiotiques	Nombre de souches qui sont		Taux de Résistance (%)	Nombre de souches qui sont		Taux de Résistance (%)	Taux de Résistance (Global) (%)
	S	R		S	R		
Pénicilline G	5	25	83,3	1	31	96,8	90,3
Oxacilline	30	0	0	31	1	3,1	1,6
Gentamicine	30	0	0	31	1	3,1	1,6
Vancomycine	30	0	0	32	0	0	0
Teicoplanine	30	0	0	32	0	0	0
Erythromycine	30	0	0	30	2	6,25	3,2
Lincomycine	30	0	0	32	0	0	0
Pristinamycine	30	0	0	32	0	0	0
Levofloxacin	30	0	0	31	1	3,1	1,6
Cotrimoxazole	30	0	0	31	1	3,1	1,6
Acide fusidique	30	0	0	31	1	3,1	1,6
Fosfomycine	30	0	0	32	0	0	0
Rifampicine	30	0	0	32	0	0	0
	S. aureus : N=30			S. aureus : N=32			

❖ Antibiorésistance des bactéries responsables d'infections

La sensibilité des bactéries isolées responsables d'infections a été étudiée. Les résultats d'antibiogramme ont montré une grande résistance aux antibiotiques testés.

Les isolats d'entérobactérie ont présenté un haut niveau de résistance aux β -lactamines, gentamicine, cotrimoxazole, ciprofloxacine et à l'acide nalidixique ; cependant, aucune résistance n'a été détectée pour les carbapénèmes (Ertapénème) ni pour la fosfomycine (Figure 15). Les 2 isolats de *Pseudomonas aeruginosa* étaient sensibles à tous les antibiotiques testés sauf la cotrimoxazole (pour une souche), même chose pour *Staphylococcus aureus* qui n'était résistant qu'à la pénicilline G. A part la tigécycline, *Acinetobacter baumannii* était résistant à tous les autres antibiotiques testés, les carbapénèmes inclus. La souche de SCN a montré une multirésistance envers les antibiotiques testés notamment, à la pénicilline G, à la méthicilline, aux glycopeptides, aux MLS, à la rifampicine et à l'acide fusidique.

Tableau 13. Antibiorésistance de bactéries identifiées responsables d'infections

Isolats	Service	Antibiorésistance
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Orthopédie adulte	Tous les antibiotiques testés à part la Tigécycline (Tableau 4. (C))
<i>Enterobacter cloacae</i>	Orthopédie pédiatrique	AMC, AML, KF, FOX, SXT
<i>Enterobacter cloacae</i>	Orthopédie adulte	AMC, AML, KF, CTX, CRO, CAZ, FOX, FEP, CN, SXT, CIP, NA
<i>Escherichia coli</i>	Orthopédie pédiatrique	AMC, AML, KF, CTX, CRO, CAZ, FEP, SXT, CIP, NA
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Orthopédie pédiatrique	AMC, AML, KF, CTX, CRO, CAZ, FEP, SXT, CIP, NA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Orthopédie pédiatrique	Aucune
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Orthopédie adulte	SXT
<i>Staphylococcus aureus</i>	Orthopédie adulte	P
Staphylocoque à coagulase négatif (SCN)	Orthopédie pédiatrique	P, FD, RD, E, VA, TEC, PT, MY, OX

AMC: Amoxicilline/ acide clavulanique, AML: Amoxicilline, KF: Céphalotine, FOX: Céfoxitine, SXT: Cotrimoxazole, CTX: Cefotaxime, CRO: Céftriaxone, CAZ: Céftazidime, FEP: Céfepime, CN: Gentamicine, CIP: Ciprofloxacine, NA: Acide nalidixique, P: Pénicilline G, E: Erythromycine, FD: Acide fusidique, RD: Rifampicine, VA: Vancomycine, TEC: Teicoplanine, PT: Pristinamycine, MY: Lincomycine, OX: Oxacilline

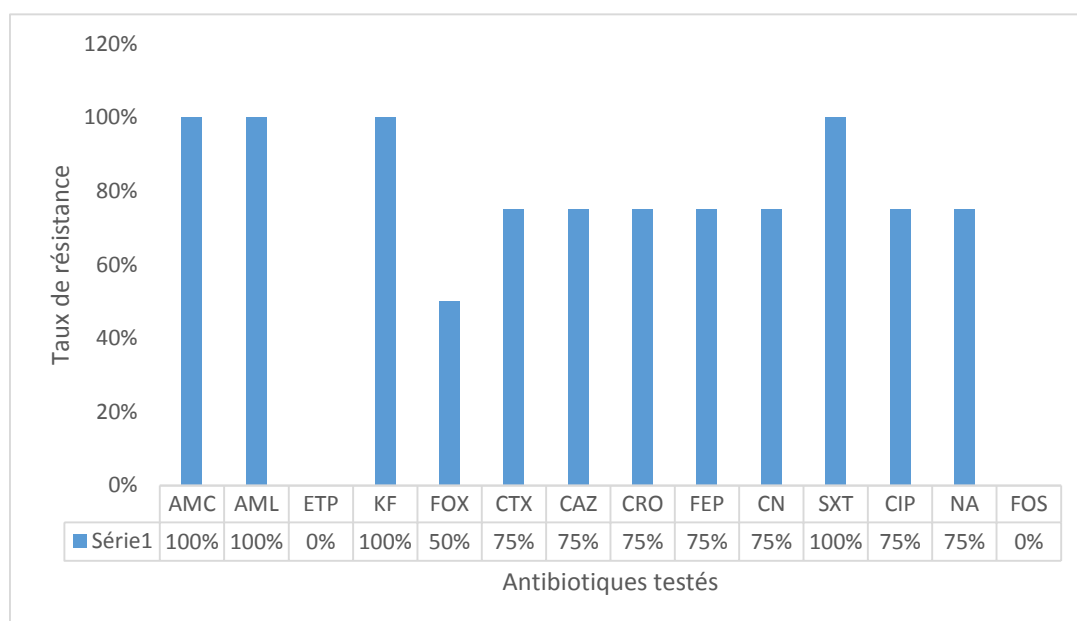


Figure 15. Taux de résistance des entérobactéries responsables d'ISO vis à vis des antibiotiques testés

I.4. Habillage en gènes toxiques de *S. aureus* d'origine nasal

Les 62 isolats de *S. aureus* d'origine nasal ont fait l'objet d'une étude moléculaire pour rechercher les gènes toxiques.

Les six PCR multiplex ont révélé la présence de 11 gènes toxiques parmi les 22 recherchés. Il s'agit des gènes des entérotoxines staphylococciques (SE) C, D, H et R (*sec*, *sed*, *seh* et *selr*), des gènes des entérotoxines staphylococciques *like* K, L, M, O, Q (*selk*, *sell*, *selm*, *selo* et *selq*), du gène de l'exfoliatine B (*etb*) et de la toxine TSST-1 (*tst*).

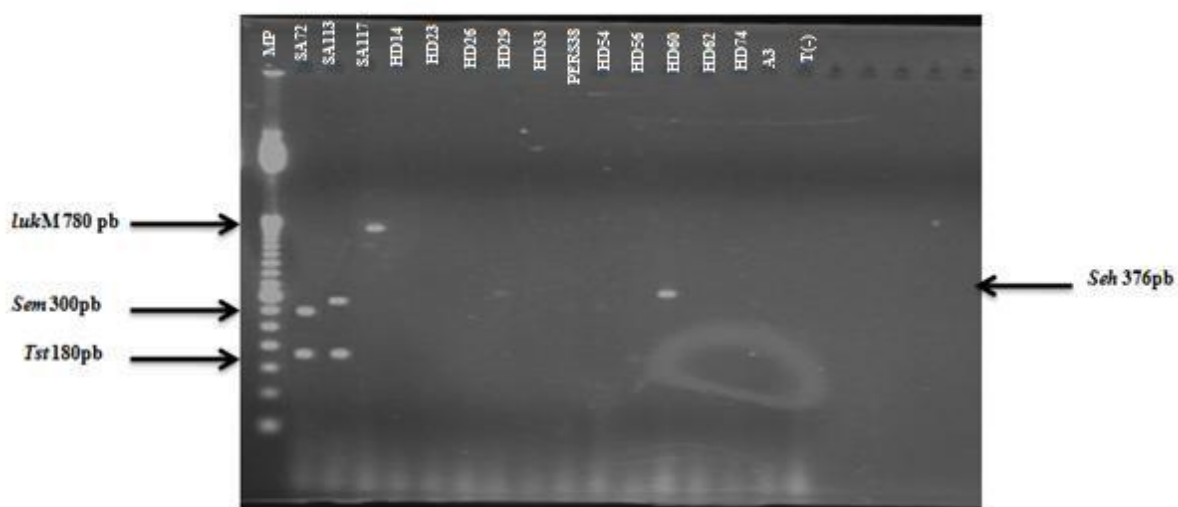


Figure 16. Révélation après migration sur gel d'agarose (1,5%) ; exemple pour le premier PCR multiplex chez les souches de *S. aureus* : gènes recherchés, *lukM*, *seh*, *selm* et *tst*.

MP : marqueur de poids moléculaire (50 pb DNA ladder, Invitrogen) ; **SA72** : souche de contrôle positif pour les gènes *sem* et *tst* ; **SA113** : souche de contrôle positif pour les gènes *seh* et *tst* ; **SA117** : souche de contrôle positif pour le gène *lukM* ; **HD14, HD23, HD26, HD29, HD33, PERS38, HD54, HD56, HD60, HD62, HD74** : ADN des souches de notre étude ; **T(-)** : Témoin négatif.

Parmi les 62 isolats de *S. aureus*, quarante (64,5%) possèdent au moins un gène toxique. Parmi les gènes d'enterotoxines, *selm* était le plus fréquent (57,5%), suivi de gène *selo* (40%) et de gène *seh* (20%). Aucune souche ne possède les gènes d'enterotoxine : *sea*, *seb* et *selp*, ni les gènes de toxines exfoliative *eta* et *etd* ou des gènes codant les leucotoxines (*lukM* et *lukPV*), ni le gène EDIN, ni le gène de la β -hemolysine (*hly*). Une fréquence de 35% a été observée pour le gène de *tst* codant pour le TSST-1.

Tableau 14. Fréquence des gènes toxiques chez les isolats de *S. aureus*

Gènes toxiques	Nombre d'isolats (n=40)	Pourcentage d'isolats
<i>Selm</i>	23	57,5
<i>Selo</i>	16	40
<i>Tst</i>	14	35
<i>Seh</i>	8	20
<i>Sec</i>	5	12,5
<i>sell</i>	5	12,5
<i>selk</i>	2	5
<i>selq</i>	2	5
<i>selr</i>	2	5
<i>Sed</i>	1	2,5
<i>Etb</i>	1	2,5

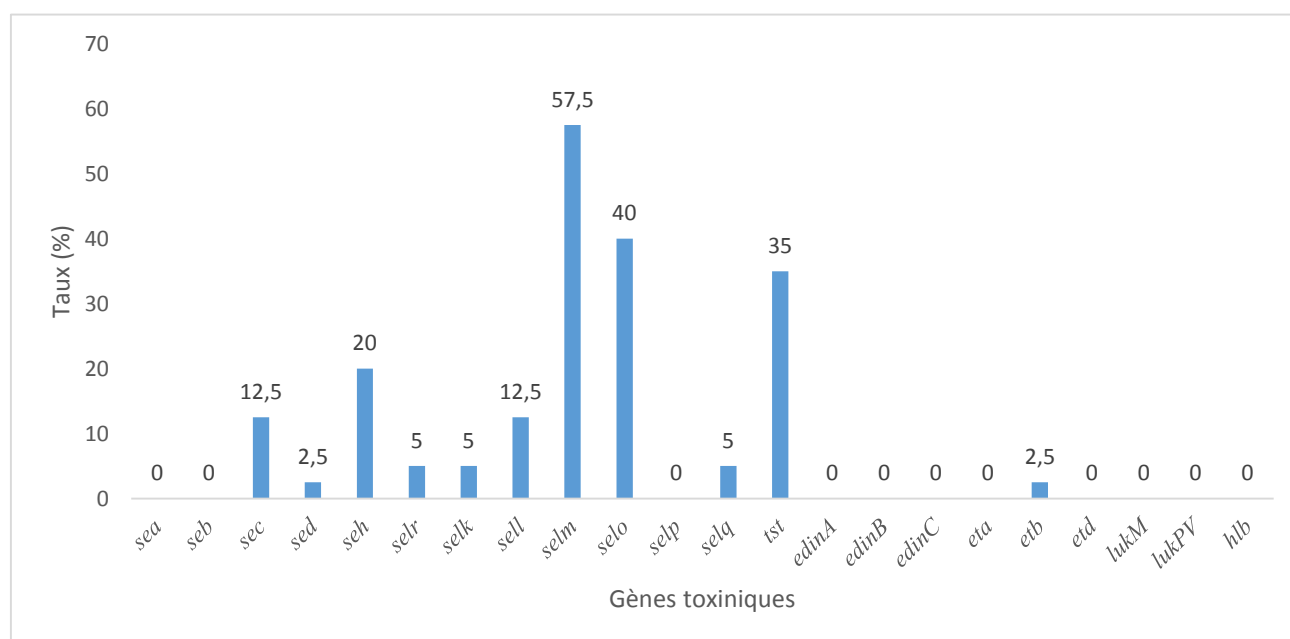


Figure 17. Taux de portage de gènes toxiques chez les isolats de *S. aureus* d'origine nasal

II. DISCUSSION

S. aureus est responsable de plusieurs infections dans le monde. Dans certains cas, il est l'agent pathogène le plus fréquent responsable d'infections hospitalières (Al-Mulhim et al., 2014 ; Magill et al., 2012 ; Osakwe et al., 2014). Les fosses nasales antérieures restent le site de portage préférentiel de *Staphylococcus aureus*. En effet, une meilleure compréhension du taux de prévalence du portage nasal de *S. aureus* pourrait guider à réduire la diffusion des souches résistantes aux antibiotiques dans les établissements de soins. Cependant, notre étude a été réalisée avec objectif principal de montrer la relation entre le portage nasal de *S. aureus* et les ISO.

Nous avons procédé à un écouvillonnage nasal sur 228 patients. La recherche de *S. aureus* a été réalisée en utilisant les techniques de microbiologie. Les isolats qui étaient positifs pour la fermentation du mannitol, coloration gram, test catalase et le test de coagulase ont été retenus comme *S. aureus*. 62 ont été confirmés être *S. aureus*.

Les auteurs définissent dans la population générale trois groupes d'individus porteurs : les porteurs permanents, les porteurs intermittents et les non porteurs de *S. aureus* (Kluytmans et al., 1997). Notre étude ne nous permet pas de conclure sur ces catégories, néanmoins nous pouvons tout de même situer nos résultats entre les porteurs permanents et/ou les porteurs intermittents de *S. aureus*.

Le taux de prévalence de notre étude est de 27,2% dans les deux services de chirurgie orthopédique. ce même taux a été décrit pour la population générale, 27% (Wertheim et al., 2005). Un taux inférieur au nôtre (16,5%) a été décrit en Chine en communauté (Yan et al., 2015). Un autre taux largement élevé (62,8%) a été trouvé en Inde chez les patients en hemodialyse chronique (Sathisha et al., 2014). Aux USA, Olsen M et al.(2003) ont trouvé un taux de 20% en chirurgie cardiaque. Aux Pays-Bas, Kalmeijer et al.(2000) ont trouvé le même taux que le nôtre (27%) en chirurgie orthopédique. Par contre un taux supérieur au nôtre (30%) a été décrit aux USA par Price et al.(2008), pour les patients en attente d'une opération orthopédique. Le taux de 20,2% a été décrit en orthopédie par Berthelot et al.(2010) en France. Le taux de nos patients s'approche à celui décrit en France par Botelho et al.(2014) de 26,3% chez les patients programmés pour l'implantation du matériel orthopédique. Dans la population générale, un taux de portage moyen de 37,2 % (intervalle de confiance, 19-55 %) est trouvé, basé sur plusieurs études durant les années 1934 à 1994 (Kluytmans et al., 1997).

Nous avons réalisé l'écouvillonnage dans deux services d'orthopédie. Au service d'orthopédie pédiatrique le taux était de 23,8%. Ce taux est faible par rapport à celui décrit chez les enfants

(35,7%) par Boada et al. (2015). Malgré que plusieurs littératures associent le sexe et l'âge au portage nasal de *S. aureus* (Wertheim et al., 2005 ; Olsen et al., 2012 ; Boada et al., 2015), nous n'avons trouvé aucune association statistique. Dans notre étude, l'hospitalisation et l'antibiothérapie antérieure ont été des facteurs de risque de portage du *S. aureus* au niveau du service d'orthopédie pédiatrique. D'autres études ont retrouvé que ces mêmes facteurs restent importants dans le portage de *S. aureus* en milieu communautaire ou lors de l'admission à l'hôpital (Wertheim et al., 2005 ; Chemsî et al., 2014).

Cependant, au service d'orthopédie adulte le taux de portage était de 31,37%. Ce taux se rapproche de celui décrit par Chemsî et al., (2014), 31% et supérieur à celui de Boada et al. (2015), 17,8%. Les hommes âgés (>70 ans) présentaient un risque élevé de portage nasal de *S. aureus*. D'autres auteurs ont cité l'âge avancé comme facteur associé au portage nasal de *S. aureus*. En effet, Saxena et al.(2004) trouvèrent un lien pour les personnes ayant plus de 75 ans ; et Eveillard et al. (2006) pour les plus de 80 ans. Nos résultats associant l'âge au portage nasal de *S. aureus* sont en accord avec d'autres études antérieures (Wertheim et al., 2005 ; Boada et al., 2015 ; Yan et al., 2015). Par contre d'autres auteurs n'ont trouvé aucune association entre l'âge et le portage nasal de *S. aureus* (Botelho et al., 2014 ; Chemsî et al., 2014). Le sexe masculin a été associé au portage nasal aussi dans d'autres études antérieures (Olsen et al., 2012 ; Boada et al., 2015).

Le diabète et le tabagisme n'ont en aucun cas été des facteurs associés au portage nasal de *S. aureus* dans notre étude. Alors que les auteurs associent ces facteurs au risque de portage de *S. aureus* (Kluytmans et al., 1997 ; Olsen et al., 2012).

Le lieu d'habitation a été défini comme facteur de risque de portage nasal de *S. aureus* par Yan et al. (2015), en revanche nous n'avons trouvé aucune relation avec le portage nasal de *S. aureus* dans notre étude.

Nous constatons que le taux de portage nasal change selon les différentes études. Ces variations de fréquence de portage de *S. aureus* observées sont liées aux différentes techniques de dépistage, aux différentes populations étudiées et aux interprétations des définitions du statut de portage (Nouwen et al., 2004 ; Berthelot et al., 2010).

Les infections du site opératoire (ISO) constituent une source majeure de morbidité et de mortalité pour les patients soumis à des procédures chirurgicales. Ce sont des complications communes après les chirurgies, conduisant généralement à une augmentation des coûts des soins de santé. Au cours de notre étude, nous avons étudié la prévalence et la cause des ISO en chirurgie orthopédique.

Nous avons trouvé un taux d'ISO de 6,1% dans les deux services de chirurgie orthopédique. ce taux se rapproche de ceux d'autres enquêtes : une étude d'incidence a trouvé un taux d'ISO de 5,3% pour le Maroc, et celui de 6,2% pour l'Algérie (Amazian et al., 2010) ; puis un taux de 7% a été obtenu dans une autre étude réalisée au Kenya (Dinda et al., 2013).

Le taux d'ISO obtenu dans notre étude est inférieur est inférieur à celui trouvé (25 %) à Meknès en Traumatologie (Bouزيد et al., 2015) , aussi à celui de 18% obtenu en RCA dans une étude similaire (Bercion et al., 2007).

Nous avons surveillé les infections en chirurgie orthopédique. Cependant, le taux d'ISO en orthopédie (6,6%) presque similaire au nôtre a été décrit par d'autres auteurs (Kalmeijer et al., 2000). Notre taux est très faible comparé au taux de 22,7% obtenu par Maksimovic et al.(2008), aussi de 25,8% obtenu par Abdel-Haleim et al.(2010) pour les patients en orthopédie. En revanche, d'autres auteurs qui ont surveillé également les infections en chirurgie orthopédique, ont décrit un taux d'ISO inférieur au nôtre : un taux de 2% a été obtenu par Berthelot et al. (2010) en France ; un taux de 2,18% a été décrit par Li G et al. (2013) en chine ; Al-Mulhim et al. (2014) ont trouvé un taux de 2,55%, en Arabie saoudite, et Viqueira et al. (2014) ont obtenu un taux de 2.8% en chirurgie orthopédique pédiatrique, en Espagne.

Nous avons étudié deux services d'orthopédie. Le service d'orthopédie pédiatrique avait un taux d'infections de 3,17%. Un taux qui se rapproche à celui obtenu en Espagne (2,8%) par Viqueira et al.(2014). Par contre, le service d'orthopédie adulte comptait un taux de 9,8%.

Nous constatons une variation du taux d'infections selon les études. Plusieurs explications peuvent être données quant à cette variation du taux d'incidence. Cependant, il n'est pas judicieux de comparer les taux d'ISO car les différents facteurs peuvent avoir influencé le taux d'infections observé et doivent être pris en considération lors de la comparaison de ces résultats à ceux d'autres études.

Dans notre étude, aucun facteur n'a été associé au risque d'infection. L'âge et le sexe n'étaient pas des facteurs associés. D'autres auteurs ont trouvé que l'âge et le sexe n'étaient pas des facteurs (Bercion et al., 2007 ; Ntsama et al., 2013 ; Osakwe et al., 2014). En revanche d'autres les ont associés au risque d'infection (Kalmeijer et al., 2000 ; Olsen M et al., 2003).

L'absence de prophylaxie, le diabète et le tabagisme sont d'autres facteurs de risque d'ISO identifiés par Li G et al. (2013), aussi par d'autres auteurs (Kemfang et al., 2014). Cependant, nous avons remarqué que tous les patients opérés ont été mis sous antibiotique prophylactique (Augmentin) ; ce qui exclue le premier facteur dans notre cas. En effet, nous n'avons trouvé aucun lien entre ces facteurs et le fait de contracter une ISO.

L'incidence des ISO après chirurgie orthopédique varie en fonction de la procédure et d'autres facteurs (Al-Mulhim et al., 2014). Kalmeijer et al. (2000) ont retrouvé des taux d'ISO différents selon les procédures allant de 3% à 8.8%. Maksimovic et al. (2008) ont trouvé des taux variant de 13,2% à 70% selon l'étendue de la contamination préopératoire (de la chirurgie propre, à la chirurgie contaminée), et une variation du taux selon l'état du patient (score ASA) et la durée d'intervention.

Pour plusieurs auteurs, le risque de contracter une infection du site opératoire augmente avec la présence d'un corps étranger. D'après Zimmerli et al. (2004), la mise en place d'un matériel étranger accroît le risque de contracter une infection car les protéines de fixation des bactéries risquent de s'y déposer.

Dans notre étude, nous ne pouvons pas conclure qu'aucun facteur n'était pas lié au risque d'infection car non seulement nous n'avions pas toutes les informations nécessaires pour conclure cette étude. En plus, notre population était faible.

Les germes responsables d'ISO sont normalement inoculés durant l'intervention et peuvent provenir du patient lui-même et/ou d'un foyer infectieux distant concomitant. Le personnel chirurgical, l'environnement de la salle opératoire et tous les instruments qui entrent en contact avec le site opératoire constituent leurs sources exogènes (Benedetto et al., 2013).

Parmi les 14 cas d'infections détectés lors de cette enquête, seulement 12 ont fait l'objet d'un diagnostic microbiologique. Nous avons effectué seulement des diagnostics pour la recherche des bactéries aérobies. 5 prélèvements ont été trouvés négatifs. Cependant, les données sur les principaux microorganismes responsables d'infections ne sont disponibles que sur 58,3% de celles-ci. Nous avons isolé trois (3) microorganismes pour un patient, les autres prélèvements contenaient un seul germe. D'autres auteurs ont trouvé plus d'un germe dans les prélèvements d'infection (Al-Mulhim et al., 2014). Le fait que l'on observe des infections polymicrobiennes suggère la possibilité de fautes d'asepsie à un moment donné de l'acte opératoire ou des soins postopératoires. La majorité des germes isolés étaient des bactéries à gram négatif (BGN). *Enterobacter cloacae* était le plus fréquent (16,7%), suivi de *Pseudomonas aeruginosa* (11,10%). Plusieurs auteurs ont identifiés *Staphylococcus aureus* comme le plus fréquent des responsables d'infection en chirurgie orthopédique (Maksimovic et al., 2008 ; Al-Mulhim et al., 2014). Au cours de notre étude, nous n'avons rencontré qu'une seule ISO à *S. aureus*. Ce résultat nous laisse croire qu'il y ait une relation avec celui d'une étude de prévalence d'infections nosocomiales au CHU Hassan II de Fès, dans laquelle aucune infection à *Staphylococcus aureus* n'a été rencontrée (El Rhazi et al., 2007) ; et celui d'une autre étude

dans laquelle on remarque une émergence des bactéries à gram négatif au sein du CHU Hassan II de Fès (Bahra et al., 2011).

Un staphylocoque à coagulase négatif a été incriminé comme cause d'une infection dans notre étude. Selon Benedetto et al. (2013), ces bactéries opportunistes (SCN) seraient parmi les huit germes responsables de plus de 80% d'infections hospitalières.

La fréquence des bacilles à Gram négatif est le témoin d'une forte contamination de l'environnement hospitalier par ces bactéries et de l'inefficacité des mesures visant à limiter leur dissémination.

Le portage nasal de *S. aureus* a été identifié comme facteur de risque d'ISO à *S. aureus* en chirurgie orthopédique par plusieurs auteurs (Kalmeijer et al., 2000 ; Saadatian-Elahi, et al., 2008 ; Bode et al., 2010 ;...). Dans notre cas, nous ne pouvons pas associer le fait d'être porteur et le risque d'infection car aucune relation statistique n'a été trouvée. En plus, la seule ISO à *S. aureus* déclarée au cours de notre étude, était chez un patient non porteur de *S. aureus* ; mais cela ne peut pas être pris en compte car il pourrait s'agir d'un porteur intermittent.

Au cours de cette étude, nous avons étudié la sensibilité de toutes les bactéries rencontrées vis-à-vis des antibiotiques.

Parmi les 62 souches (27,2%) de staphylocoques dorés isolées du nez, 61 étaient des SASM et un SARM. Nous avons trouvé seulement 3 phénotypes de résistances au cours de notre étude. Dans d'autres études, les auteurs ont obtenu plus de phénotypes de résistance aux antibiotiques (Elazhari et al., 2010 ; Conceição et al., 2014)

Parmi les souches isolées, 56 (90.3 %) sont résistantes à la pénicilline G. Ce taux de résistance est en accord avec la littérature : plus de 80% de *S. aureus* sont résistants au pénicilline G (Daurel et al., 2008). Elazhari et al. (2010) ont trouvé un taux similaire (90,5%) dans leur étude de sensibilité aux antibiotiques des souches de *staphylococcus aureus* communautaires. D'autres auteurs ont trouvés également un taux de résistance supérieur à 90% (Randrianirina et al., 2007). En revanche, dans une étude de portage nasal chez les hémodialysés, Oumokhtar et al., (2013) ont trouvé 82% de résistance à la pénicilline G.

Pour les autres antibiotiques le taux de résistances varie de 0 à 3,2%. Elazhari et al. (2010) ont trouvé des taux de résistances presque similaires sauf pour la rifampicine et l'acide fusidique (taux de résistance supérieur à 10%).

Parmi les 62 souches isolées, une seule (1,6%) a présenté une résistance à l'oxacilline, considérée comme SARM (possédant une PLP2a). Les taux de SARM qui s'approchent au notre ont été trouvés : 2 % de SARM par Yan et al.,(2015) ; 3,1 % pour Berthelot et al. (2010).

à celui de Price et al. (2008), 6%. D'autres auteurs ont trouvé un taux de SARM supérieur au nôtre dans une étude similaire : 19,4% pour Du et al.(2011) ; un taux de 26,9 % pour Conceição et al. (2014); 28,2% pour Saxena et al.(2004) ; 33% pour Chemsî et al. (2014) ; puis un taux de 83,8% a été isolé chez les hemodialysés (Sathisha et al., 2014).

Nous avons effectué des prélèvements dans les services de chirurgie orthopédique. Nous n'avons trouvé aucun SARM au niveau du service d'orthopédie pédiatrique. Une autre étude a trouvé un faible taux de SARM dans les services pédiatriques par rapport aux autres services malgré le test statistique (Askarian et al., 2009).

Des prévalences de SARM rapportés en Afrique varient de 25 à 50 % dans la majorité d'études, avec une forte croissance du taux des SARM (de 16 à 41%) en Tunisie sur une période de 2002-2007 , une diminution du taux (36 à 24%) de pour l'Afrique du sud entre 2006-2007 et un faible taux de prévalence stable (19%) pour le Maroc entre 2003-2008 (Falagas et al., 2013). Dans notre étude, le taux était très faible comparé à ces données. Enfin, nous notons que tous les germes étudiés étaient sensibles à la vancomycine qui demeure avec la teicoplanine les traitements de choix contre les infections à SARM (Michel, 2013).

Au cours de notre étude, les souches de *S. aureus* ont présenté un taux de résistances très faibles vis-à-vis d'antibiotiques. Avec ce résultat nous nous trouvons dans le cas des germes communautaires. La résistance à la pénicilline G très élevée est tout à fait normal car plus de 80% des *S. aureus* produisent une pénicillinase qui inactive la pénicilline G (Daurel et al., 2008). La présence de ces germes communautaires pourrait être en rapport avec le fait que les prélèvements ont été effectués à l'entrée du patient dans le service.

Une grande sensibilité de *S. aureus* isolés vis-à-vis des antibiotiques staphylococciques indique que ces agents antimicrobiens sont fiables pour le traitement des infections à *S. aureus*. Malgré ce faible taux de résistance, une surveillance similaire devrait être faite de façon régulière par précaution dans le but de limiter la diffusion des germes multirésistants.

Au cours de notre étude nous avons remarqué des multirésistances des bactéries responsables d'infection. Les bactéries à Gram négatif représentaient la majorité des germes rencontrés.

Le *S. aureus* rencontré ne présentait qu'une seule résistance à la pénicilline G, caractéristique des germes communautaires. Quant au staphylocoque à coagulase négatif, une multirésistance vis-à-vis des antibiotiques a été observée. Dinda et al. (2013) ont trouvé aussi des SCN responsables d'infections multirésistants dans leur étude.

Nous avons rapporté des infections à *Pseudomonas aeruginosa* sensible à presque tous les antibiotiques. D'autres auteurs ont trouvé un résultat contraire : la résistance à la majorité d'antibiotiques (Adegoke et al., 2010 ; Dinda et al., 2013).

Acinetobacter baumannii était résistant à tous les antibiotiques testés à part la tigécycline. D'autres auteurs ont parlé de la multirésistance de ce germe qui ne cesse d'augmenter (Shlaes et al., 2013).

Nous avons remarqué une résistance aux céphalosporines de la 3^{ème} génération à un taux de 75% des entérobactéries. D'autres taux élevés ont été rapportés : 55% dans les hôpitaux de l'Amérique de Sud (Gales et al., 2002) et 76,9% en Egypte (El Kholy et al., 2012).

Les BGN ayant une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques sont responsables pour un grand nombre d'infections de plaies chirurgicales (Posluszny et al., 2011). La tendance alarmante des infections des bactéries à gram négatif dans les plaies chirurgicales a également été observée par Ali., et al. (2009).

Il faut noter que l'environnement hospitalier contient des germes multirésistants. Cependant nous pouvons évoquer une contamination possible par l'environnement due au manque d'hygiène ou à la propagation de la flore environnementale par le personnel hospitalier et/ou même par les malades eux-mêmes.

Staphylococcus aureus est une bactérie responsable de nombreux types d'infections. Cette variété est probablement liée à diversité des facteurs de virulence dont elle dispose. Certaines toxines staphylococciques sont responsables de syndromes cliniques spécifiques au pronostic parfois très sombre.

Les infections toxiques ne sont pas dues à l'action bactérienne directe mais à des toxines sécrétées, agissant le plus souvent à distance du foyer infectieux. Il s'agit de l'intoxication alimentaire provoquée par les enterotoxines (SE), épidermolyses (due aux toxines exfoliatives Ets), choc toxique et scarlatine dues aux TSST-1, SEB et SEC (Jarraud et al., 2002). Pour chaque groupe de toxines, plusieurs gènes sont identifiés. C'est ce qui rend l'espèce *S. aureus* encore plus virulent.

Ainsi, nous avons étudié la présence de 22 gènes toxiques chez 62 isolats de *S. aureus* d'origine nasal. Parmi toutes les souches, 64,5% possédaient au moins un gène toxique. Ce résultat se rapproche à celui d'Oumokhtar et al. (2013) de 70% ; et à celui d'Elazhari et al. (2011) de 76,4%.

Notre étude a rapporté que le gène toxinique *selm* (57,5%) est le plus fréquent, suivi du gène *selo* (40%). Ce qui est en accord avec les données rapportées par d'autres études antérieures (Holtfreter et al., 2007, Oumokhtar et al., 2013).

Ce gène est localisé avec d'autres (*seg*, *sei*, *seln*, et *selo*) sur l'opéron « *egc* » situé sur l'îlot de pathogénicité SaPI3 (Holtfreter et al., 2007). La prévalence du gène *seh* est de 20%. Elazhari et al. (2011) ont trouvé une prévalence de 14,7% pour ce gène.

Le gène *tst* de la toxine responsable du syndrome de choc toxique staphylococcique (TSST-1) avait une fréquence de 35%. Ce taux est très élevé comparé à celui obtenu dans d'autres études similaires : 20,3 % par Becker et al. (2003), 13,7% par Collery et al. (2008) et 3,3% par Oumokhtar et al. (2013).

Les enterotoxines et la toxine du syndrome de choc toxique (TSST-1) sont des facteurs de virulence importants à activité superantigénique « des puissants activateurs du système immunitaire ». Cependant, la circulation des *S. aureus* productrice du TSST-1 chez les patients reste un défi en termes de pathogénicité, de traitement et de prévention.

Les exfoliatines sont des sérine-protéases agissant comme de véritables « ciseaux moléculaires » impliqués uniquement dans certaines pathologies cutanées (Nhan et al., 2012).

Dans notre étude, la prévalence de gène *etb* était de 2,5%. Cette faible fréquence est comparable à celle rapportée par d'autres auteurs (Becker et al., 2003). Selon Nhan et al. (2012), une relation entre le gène *etb* et la forme généralisée du syndrome exfoliatif a été démontrée.

La leucocidine de panton-valentine (PVL) est une toxine « pore » responsable de la destruction des leucocytes et de la nécrose tissulaire.

Au cours de notre étude, aucun gène de la leucotoxine *lukM*, leucocidine de panton-valentine *lukPV*, hemolysine *hly*, ni des facteurs des *EDIN A/B/C* n'a été détecté.

Enfin la connaissance du profil toxinique des isolats de *S. aureus* est un atout dans la prise de décision en cas d'une infection due à ce germe. Ainsi cette information pourrait aider non seulement à orienter dans le traitement, mais aussi à mettre en place les mesures de prévention.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Conclusion

L'infection du site opératoire reste un défi et représente un fardeau considérable en termes de soins de santé. Bien que beaucoup de facteurs de risque de ces infections aient été établis, il n'y a pas de certitude concernant la manière de les affronter. Cependant, l'émergence des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques dans le milieu hospitalier reste inquiétante.

Les conséquences des infections de sites opératoires orthopédiques sont lourdes en termes de morbidité, de coûts et de récidives. Du coup, la prévention est d'une très grande importance vu les spécificités des opérations orthopédiques.

La détection de porteurs nasaux de *S. aureus* peut être particulièrement utile pour identifier des patients présentant un risque élevé de développer des infections à ce germe le plus cité dans les infections hospitalières.

Nous avons réalisé le dépistage nasal de *S. aureus* pour les patients hospitalisés et évalué les ISO dans les deux services de chirurgie orthopédique de CHU Hassan II de Fès

Dans notre étude, l'incidence globale du portage nasal à *S. aureus* est de 27,2 % dont 1,6 % de *S. aureus* résistant à la méthicilline. Les facteurs de risques de portage ont été l'hospitalisation et antibiothérapie antérieures pour les patients du service de chirurgie orthopédie pédiatrique et l'âge avancé (plus de 70 ans) pour ceux d'orthopédie adulte.

Durant notre étude nous avons rencontré trois phénotypes de résistance aux antibiotiques parmi les souches de *S. aureus* d'origine nasal. Le taux de résistance aux antibiotiques des était variable en fonction des molécules considérées. Il était élevé pour la pénicilline G (90,3%), très faible pour le reste d'antibiotiques (<4%).

Parmi, les 62 souches de *S. aureus* d'origine nasal, 40 soit 64,5% possédaient au moins un gène toxinique, et le gène *selm* était le plus fréquent (57,5%).

Les résultats de notre étude ont révélé un taux d'ISO de 6,1% dans deux services. Le taux de prévalence d'ISO par service a montré un taux de 9,8% pour l'orthopédie adulte et de 3,17% pour l'orthopédie pédiatrique. Aucun facteur n'a été associé au risque d'infection.

Parmi les germes responsables, *Enterobacter cloacae* est le plus fréquent (16,67%). Un grand taux de résistance des germes d'infections vis-à-vis des antibiotiques a été remarqué.

Le portage nasal de *S. aureus* n'est pas associé aux infections selon les résultats de notre étude. En revanche, des ISO à *S. aureus* chez des malades non porteurs nasaux, soulignent la nécessité de mettre en place des mesures d'hygiène préventive.

D'autres études similaires sont nécessaires, pour une meilleure compréhension du rôle du portage nasal de *S. aureus* dans les ISO et l'élaboration de programmes de prévention.

Perspectives

La connaissance et surveillance du profil de sensibilité des germes est essentielle dans la prise en charge des infections post opératoire.

Ainsi, notre étude devrait être complétée par :

- ✓ Une étude similaire sur une longue période incluant un deuxième prélèvement pour identifier les porteurs permanents et intermittents de *S. aureus* nasal.
- ✓ Une autre étude de l'écologie microbienne de l'environnement hospitalier des services de chirurgie orthopédique, et de la transmission des germes
- ✓ Une surveillance régulière des ISO pour des patients après la sortie de l'hôpital

REFERENCES

- Abdel-Haleim KM, Ibraheim A Z, El-Tahlawy M E. Surgical Site Infections and Associated Risk Factors in Egyptian Orthopedic Patients. *Journal of American Science* 2010;6(7): 272-280.
- Adegoke, Anthony A, Tom M, Okoh, Anthony I, Jacob S. Studies on multiple antibiotic resistant bacterial isolated from surgical site infection. *Scientific Research and Essays*, 18 December, 2010. Vol. 5(24), pp. 3876-3881.
- Ali SA, Tahir SM, Memon AS, Shaikh NA. Pattern of pathogens and their sensitivity isolated from superficial surgical site infections in a tertiary care hospital. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad* (2009) 21.2: 80-82.
- Al bustan MA, Udo EE, Chugh TD. Nasal carriage of enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* among restaurant workers in Kuwait City. *Epidemiol.Infect.* (1996)116,319-322
- Al-Mulhim FA, Baragbah MA., Sadat-Ali M, Alomran A S, Azam Md Q. Prevalence of Surgical Site Infection in Orthopedic Surgery: A 5-year Analysis. *Int Surg.* 2014 May-Jun; 99(3): 264–268.
- Amazian K, Rossello J, Castella A, Sekkat S, Terzaki S, Dhidah L, Abdelmoumène T, Fabry J et les membres du réseau NosoMed. Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 2010. Vol. 16 No.10: 1070-1078.
- Ammerlaan HS, Kluytmans JA, Wertheim HF, Nouwen JL, Bonten MJ. Eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage: a systematic review. *Clin Infect Dis.* 2009 Apr 1; 48(7):922-30
- Anonymous. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. (1998) Paris: CLIN.
- Arias C. MRSA USA300 Clone and VREF — A U.S.–Colombian connection? *N Eng J Med*, 2008; 359:2177-2179
- Askarian M, Zein alzadeh A, Japoni A, Alborzi A, Memish A Z. Prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its antibiotic susceptibility pattern in health care workers at Namazi Hospital, Shiraz, Iran. *International Journal of Infectious Diseases* (2009) 13, e241—e247
- Astagneau P, Daniel F, L'héritau F, Olivier M, Jarno P, Thiolet J M, CCLIN Ouest, Institut de veille sanitaire France. La surveillance des infections de site opératoire (iso) en France : expérience d'un réseau pendant la dernière décennie. Symposium HAS-BMJ, 19 avril 2010 - session poster.
- Bahra I, El bouazzaoui A, Boukatta B, Sbai H, Kanjaa N. Infections nosocomiales dans un service de réanimation polyvalente du CHU Hassan II de Fès. Communication orale. 4ème journée scientifique (2011) de la société Marocaine de la Microbiologie Médicale (<http://www.smamm.ma/wp-content/uploads/2014/08/4eme-JS-Livret-des-r%C3%A9sum%C3%A9s.pdf> ; consulté 14/6/2015 à 00 :30)
- Barie P. Surgical site infections: epidemiology and prevention *surg infect.* 2003. 1: 9-21.
- Batard E, Ferron-Perrot C, Caillon J, Potel G. Antibiothérapie des infections causées par *Staphylococcus aureus*. *Médecine thérapeutique* (Dec 2005), Vol 1, Issue 6, p.395-403.
- Becker K, Friedrich AW, Lubritz G, Weilert M, Peters G, Von Eiff C. Prevalence of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens. *J Clin Microbiol.*2003; 41:1434-9.

Becker K, vonEiff C. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci. In: Versalovic J, Carroll K, Funke G, Jorgensen J, Landry M, Warnock D, editors. Manual of Clinical Microbiology, vol. 1. 10th Ed. Washington, DC: ASM Press; 2011. p. 308_30.

Benedetto DC, Bruno A, Bernasconi E. Infection du site chirurgical: facteurs de risque, prévention, diagnostic et traitement. Rev Med Suisse 2013; 1832-1839

Bercion R, Gaudeuille A, Mapouka PA, Behounde T, Guetahoun Y. Chirurgical site infection survey in the orthopaedics surgery department of the "Hôpital communautaire de Bangui" central African Republic. Bull Soc PatholExot, 2007, 100, 3, 197-200.

Berthelot P, Grattard F, Cazorla C, et al. Is nasal carriage of *Staphylococcus aureus* the main acquisition pathway for surgical-site infection in orthopaedic surgery? Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010; 29:373—82.

Berube BJ and Wardenburg BJ. *Staphylococcus aureus* α -Toxin: Nearly a Century of Intrigue. Toxins 2013, 5, 1140-1166; doi: 10.3390/toxins5061140

Boada A, Almeda J, Grenzner E, Pons-Vigués M, Morros R, Juvé R, Pere J S, Casper D J d H, Bolívar B. Prevalence of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* in Primary Care and factors associated with colonization. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (January 2015) (In press).

Bode LGM, Kluytmans AJW, Wertheim HFL, Bogaers DICP, Vandenbroucke-G MJEC, Robert R, Annet T, Adrienne TAB, BA Sc, Andreas V, Ingeborg v d T, Alex van B, Henri A. V, Margreet C V. Preventing surgical- site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med. 2010; 362:9-17.

Bollero D, Cortellini M, Stella M, Carnino R, Magliacani G, Iorio M. Pan-antibiotic resistance and nosocomial infection in burn patients: therapeutic choices and medico-legal problems in Italy. Annals of burns and fire disasters (December 2003)- Vol. XVI – N° 4: 182-187.

Bonnevalle P, Bonnomet F, Philippe R, et al. Early surgical site infection in adult appendicular skeleton trauma surgery: a multicenter prospective series. OrthopTraumatol Surg Res 2012; 98(6):684–9.

Botelho-Nevers E, Berthelot P, Verhoeven PO, Grattard F, Cazorla C, Farizon F, Pozzetto B, Lucht F. Are the risk factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage in patients the same than in healthy volunteers? Data from a cohort of patients scheduled for orthopedic material implantation. Am J Infect Control (October 2014) Volume 42, Issue 10, Pages 1121–1123.

Bouزيد J, Bouhlal A, Chahlaoui A, Aababou S, Aarab M, Jari I. Determining the prevalence of Surgical Site Infections of operated patients in Mohamed V hospital in Meknes. International Journal of Innovation and Scientific Research (Apr. 2015) Vol. 14 No. 2 : pp. 198-207

Butt IJ, Khan S, Butt S, Bhutta S. Frequency and treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in obstetric and gynaecological sepsis. J Coll Physicians SurgPak. (Oct 2013); 23(10):708-10.

Chemsî H, Moutaouakkil Y, Chadli M, Sekhsokh Y. Dépistage du portage nasal du *Staphylococcus aureus* lors de l'admission des patients à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V. Journal Marocain des Sciences Médicales 2014, Tome XIX ; N°3.

Collery MM, Smyth DS, Twohig JM, Shore AC, Coleman DC, Smyth CJ. Molecular typing of nasal carriage isolates of *Staphylococcus aureus* from an Irish university student population based on toxin gene PCR, agr locus types and multiple locus, variable number tandem repeat analysis. J Med Microbiol. 2008; 57:348-58.

Conceição T, Santos Silva I, de Lencastre H, Aires-de-Sousa M. *Staphylococcus aureus* nasal carriage among patients and health care workers in São Tomé and Príncipe. *Microb Drug Resist.* 2014 Feb; 20(1):57-66.

Davis KA, Stewart JJ, Crouch HK, Florez CE, Hospenthal DR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 776–82.

Daurel C et Leclercq R. *Revue francophone des laboratoires* (2008). n°407 //81- 89.

Dinda V, Gunturu R, Kariuki S, Hakeem A, Raja A, Kimang'a A. Pattern of Pathogens and Their Sensitivity Isolated from Surgical Site Infections at the Aga Khan University Hospital, Nairobi, Kenya. *Ethiopian J Health Sci.* 2013 Jul; 23(2): 141–149.

Domart Y. Thérapeutique des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. *Med Mal Infect* 1997; 27S: 241-51.

Dryden MS, Dailly S, Crouch M. A randomized, controlled trial of tea tree topical preparations versus a standard topical regimen for the clearance of MRSA colonization. *J Hosp Infect.* 2004 Apr; 56(4):283-

Du J, Chen C, Ding B, Tu J, Qin Z, Parsons C, Salgado C, Cai Q, Song Y, Bao Q, Zhang L, Pan J, Wang L, Yu F. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of nasal *Staphylococcus aureus* isolates from a Chinese medical college campus. *PLoS One* 2011;6:e27328.

Dutronc H, Bocquentin F, Galpérine T, Lafarie-Castet S, Dupon M. Le linézolide, premier antibiotique de la famille des oxazolidinones. *Med Mal Infect* 2005;35:427-34.

Elazhari M, Zerouali K., Elhabchi D., Cohen N., El malki A., Dersi N., Hassar M., Timinouni M., Saile R. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains in the community of Casablanca (Morocco). *Revue Tunisienne d'Infectiologie.* Octobre 2010, Vol.4, N°4: 134 – 140.

Elazhari M, Elhabchi D, Zerouali K, Dersi N, Elmalki A, Hassar M, Saile R, Timinouni M. Prevalence and Distribution of Superantigen Toxin Genes in Clinical Community Isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol Parasitol* 2011, 2:107.

EL-Kholy A, Saied T, Gaber M, Younan MA, Haleim MM, El-Sayed H, El-Karakasy H, Bazara'a H, Talaat M. Device-associated nosocomial infection rates in intensive care units at Cairo University hospitals: first step toward initiating surveillance programs in a resource-limited country. *Am. J. Infect. Control.* 2012; 40:e216-20.

El Rhazi K, Elfakir S, Berraho M, Tachfouti N, Serhier Z, Kanjaa C, Nejari C. Prévalence et facteurs de risque des infections nosocomiales au CHU Hassan II de Fès (Maroc). *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale* 2007 ; Vol. 13, No 1 : 56-63.

Eveillard M, Mortier E, Lancien E, Lescure F.X, Schmit J.L, Barnaud G, ET al. Consideration of age at admission for selective screening to identify methicillin resistant *staphylococcus aureus* carriers to control dissemination in a medical ward. *Am j infect control.* 2006; 34: 108-13.

Falagas ME, Karageorgopoulos DE, Leptidis J, Korbila IP. MRSA in Africa: Filling the Global Map of Antimicrobial Resistance. *PLoS ONE* (2013) 8(7): e68024.

Gales AC, Sader HS, Jones RN, The SENTRY Participants Group (Latin America). Urinary tract infection trends in Latin American hospitals: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44: 289-299.

Hamson C ; Bignardi, GE. MRSA decolonization with Prontoderm compared with chlorhexidine and mupirocin. *Journal of hospital infection.* 2010/06; 75(2) : 142-143.

- Holtfreter S, Grumann D, Schmudde M, Nguyen HT, Eichler P, Strommenger B, Kopron K, Kolata J, Giedrys-Kalemba S, Steinmetz I, Witte W, Broker BM. Clonal distribution of superantigen genes in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 2007 ; 45 : 3669-2680.
- Jakob HG, Borneff-Lipp M, Bach A, Von Pückler S, Windeler J, Sonntag HG, Hagl S. The endogenous pathway is a major route for deep sternal wound infection. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000; 17:154-60.
- Jarraud S, Mougél C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F, Nesme X, Etienne J, Vandenesch F. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. *Infect Immun*. 2002; 70:631-41.
- Jenny JY. Infections nosocomiales. État de la science, recommandations et législation. In: Cahiers d'enseignement de la SOFCOT. (2005) Paris: Elsevier.
- Jevons MP, "Celbenin"-resistant staphylococci. *British Medical Journal* (1961) ; i:124-125
- Kallen AJ, Wilson CT, Larson RJ. Perioperative intranasal mupirocin for the prevention of surgical site infection: systematic review of the literature and meta-analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:916—22.
- Kalmeijer MD, van Nieuwland-Bollen E, Bogaers-Hofman D, de Baere GA. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is a major risk factor for surgical-site infections in orthopedic surgery. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 319–23.
- Kalmeijer MD, Coertjens H, van Nieuwland-Bollen PM, Bogaers-Hofman D, de Baere GA, Stuurman A, van Belkum A, Kluytmans JA. Surgical site infections in orthopedic surgery: the effect of mupirocin nasal ointment in a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Clin Infect Dis*. 2002 Aug 15; 35(4):353-8.
- Kemfong NJD, Ngassam A, Motzebo MR, Kasia J M. Antibiotic prophylaxis in clean and clean contaminated gynecological and obstetric surgeries the Yaounde General Hospital, Cameroon. *Pan Afr Med J*. 2014; 19: 23.
- Kim DH, Spencer M, Davidson SM, et al. Institutional prescreening for detection and eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients undergoing elective orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Am* 2010; 92:1820-6.
- Kluytmans J, Van Belkum A, Vernurgh H. Nasal carriage of *S. aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10:505–20
- Kluytmans JAJW, Mouton JW, Ijzerman EPF, Vandenbroucke-Grauls C M J E, Maat A W P M, Wagenvoort J H T, Verbrugh H A. Nasal carriage of *S. aureus* as a major risk factor for wound infections after cardiac surgery. *J Infect Dis* 1995; 171: 216-219.
- Konvalinka A, Errett L, Fong IW: Impact of treating *Staphylococcus aureus* nasal carriers on wound infections in cardiac surgery. *J Hosp Infect* 2006; 64: 162–8.
- Krishna BV, Gibb AP. Use of octenidine dihydrochloride in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* decolonization regimens: A literature review. *J Hosp Infect*. 2010 Mar;74(3):199-203.
- Leclercq R. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. *Ann Fr Anesth Réanim* 2002 ; Éditions scientifiques et médicales ; 21 : 375-83.
- Lepelletier D. , Lucet J.-C. Impact of *Staphylococcus aureus* screening and decolonization in preventing surgical site infections. *Journal des Anti-infectieux* (2011) 13, 209—216.
- Li G, Guo F, Ou Y, Dong G, Zhou W. Epidemiology and outcomes of surgical site infections following orthopedic surgery. *American Journal of Infection Control* 41 (2013) 1268-71

Li S, Li J, Qiao Y, Ning X, Zeng T, Shen X. Prevalence and invasiveness of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A meta-analysis. Indian J Pathol Microbiol 2014;57:418-2.

Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med (1998) 339, 520-532.

Magill SS, Hellinger W, Cohen J, Kay R, Bailey C, Boland B, Carey D, de Guzman J, Dominguez K, Edwards J, Goraczewski L, Horan T, Miller M, Phelps M, Saltford R, Seibert J, Smith B, Starling P, Viergutz B, Walsh K, Rathore M, Guzman N, Fridkin S. "Prevalence of health care-associated infections in acute care hospitals in Jacksonville, Florida". Infection Control Hospital Epidemiology, (2012) 33(3): 283-91.

Marshall MJ, Bohach G A, Boehm D F. Characterization of *Staphylococcus aureus* bêta-toxin induced leukotoxicity. Journal of Natural Toxins. (2000) 9(2): 125-138.

Michel MC. Infection nosocomiale à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez un patient adulte hospitalisé : quel antibiotique choisir ? Pharmactuel 2013;46(1).

Nhan T-X, Gillet Y, Vandenesch F. Infections caused by toxin-producing *Staphylococcus aureus* isolates. Journal des Anti-infectieux (2012) 14, 117—126

Nicholson MR, Huesman LA: Controlling the usage of intranasal mupirocine does impact the rate of *staphylococcus aureus* deep sternal wound infections in cardiac surgery patients. Am J Infect Control 2006; 34: 44–8

Nilsson AC, Janson H, Wold H, Fugelli A, Andersson K, Håkangård C, Olsson P, Olsen WM. LTX-109 is a novel agent for nasal decolonization of methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2015 ; 59:145–151.

Nouwen J, Boelens H, van Belkum A, Verbrugh H. Human factor in *Staphylococcus aureus* nasal carriage. Infect Immun 2004; 72: 6685—8.

Ntsama EC, Avomo J, Esiene A, Leme B L, Abologo A L, Masso M P, Essomba A. Prevalence of surgical site infections and evaluation of risk factors after surgery, case of three public hospitals in Cameroon. Journal of Medicine and Medical Sciences 2013; vol 4(6) pp. 241-246.

Olsen K, Falch B M, Danielsen K, Johannessen M, Ericson Sollid J U, Thune I, Grimnes G, Jorde R, Simonsen G S, Furberg A-S. *Staphylococcus aureus* nasal carriage is associated with serum 25-hydroxyvitamin D levels, gender and smoking status. The Tromsø Staph and Skin Study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Apr; 31(4): 465–473.

Olsen MA, Sundt TM, Lawton JS, Damiano RJ Jr, Hopkins-Broyles D, Lock-Buckley P, Fraser VJ. Risk factors for leg harvest surgical site infections after coronary artery bypass graft surgery. J Thorac Cardiovasc Surg. 2003 Oct;126(4):992-9.

OMS. Ampleur et coût des infections résultant de soins de santé. Pourquoi un Défi mondial sur les infections nosocomiales [<http://www.who.int/gpsc/background/fr/> (consulté le 20/05/2015 à 20 :28)]

OMS, prevention des infections nosocomiales, guide pratique 2ème édition (2008)

Osakwe JO, Nnaji GA, Osakwe RC , Agu Uloma, Chineke Henry Nnaemeka. Role of premorbid status and wound related factors in surgical site infection in a tertiary hospital in sub-saharan Africa. Family Practice Reports 2014, Volume 1 | Article 2 ISSN 2056-5690.

Oumokhtar B, Elazhari M, Timinouni M, Bendahhou K, Bennani B, Mahmoud M, El Ouali Lalami A, Berrada S, Arrayhani M, Squalli Houssaini T. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a Moroccan dialysis center and isolates characterization. Hemodialysis International 2013; 17: 542–547.

O’Gara JP, Humphreys H. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. J Med Microbiol 2001; 50:582-7.

Pérez JR, Tapia CO, Herazo CH, Ramos NR. Nasal carriage of Panton Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy preschool children. Rev. salud pública 2011; 13 (5): 824-832

Pires FV, da Cunha MdLRdS, Abraão LM, Martins PYF, Camargo CH, Fortaleza BCMC. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* in Botucatu, Brazil: A Population-Based Survey. Nasal Carriage. PLoS ONE (2014); 9(3): e92537.

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

Posluszny JA Jr, Conrad P, Halerz M, Shankar R, Gamelli RL. Surgical burn wound infections and their clinical implications”. Journal of Burn Care & Research 32.2 (2011): 324-333.

Prevost G, Couppie P, Prevost P, Gayet S, Petiau P, Cribier B, et al. Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. J Med Microbiol 1995;42(4):237—45.

Price S C, Williams A, Philips G, Dayton M, Smith W, Morgan S. *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in Preoperative Orthopaedic Outpatients. Clinical Orthopaedics and Related Research, November 2008, Volume 466, Issue 11, pp 2842-2847.

Quincampoix J.C., Mainardi J.L. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Réanimation (2001) ; 10 : 267-75.

Randrianirina F, Soares J L, Ratsima E, Carod JF, Combe P, Grosjean, Richard V, Talarmin A. In vitro activities of 18 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from the Institut Pasteur of Madagascar. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2007; 6: 5.

Robicsek A, Beaumont JL, Thomson Jr RB, Govindarajan G, Peterson LR. Topical therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization: impact on infection risk. Infect Control Hosp Epidemiol 2009; 30:623—32.

Rodloff AC, Leclercq R, Debbia EA, Cantón R, Oppenheim BA, Dowzicky MJ. Comparative analysis of antimicrobial susceptibility among organisms from France, Germany, Italy, Spain and the UK as part of the tigécycline evaluation and surveillance trial. Clin Microbiol Infect 2008; 14:307-14

Saadatian-Elahi M, Teyssou R, Vanhems Ph. *Staphylococcus aureus*, the major pathogen in orthopaedic and cardiac surgical site infections: a literature review. Int J Surg 2008; 6:238—45.

Sathisha JV, Malleshappa P, Yashaswini MK, Shariff S. Influence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal carriage on MRSA bloodstream infections among patients on chronic hemodialysis. Dial Traspl. 2014; 35(4):143---147.

Saxena AK, Panhotra BR, Chopra R. Advancing age and the risk of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among patients on long-term hospital-based hemodialysis. Ann Saudi Med. 2004 Sep-Oct; 24(5):337-42.

Segers P, Speekenbrink RG, Ubbink DT, van Ogtrop ML, de Mol BA. Prevention of nosocomial infection in cardiac surgery by decontamination of the nasopharynx and oropharynx with chlorhexidine gluconate: a randomized controlled trial. JAMA. 2006 Nov 22; 296(20):2460-6.

Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SM, Kamal MA. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment, Saudi Journal of Biological Sciences (January 2015); Volume 22, Issue 1, Pages 90–101

Shlaes DM, Sahn D, Opiela C, Spellberg B. The FDA Reboot of Antibiotic Development. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013; DOI: 10.1128/AAC.01277-13

Shrestha B, Singh W, Raj VS, Pokhrel BM, Mohapatra TM. High Prevalence of Pantone-Valentine Leukocidin (PVL) Genes in Nosocomial-Acquired *Staphylococcus aureus* Isolated from Tertiary Care Hospitals in Nepal. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume 2014, Article ID 790350, 7 pages.

Solberg CO. Spread of *Staphylococcus aureus* in hospitals: causes and prevention. Scand J Infect Dis 2000; 32: 587–95.

Vandenesch F, Lina G, Henry T. Staphylococcus aureus hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: a redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors? Frontiers in Cellular and Infection Microbiology (2012) Volume 2, Article 12.

Viqueira AQ, Caravaca GR, Quesada Rubio JA, Francés VS. Surgical site infection rates and risk factors in orthopedic pediatric patients in Madrid, Spain. Pediatr Infect Dis J. 2014 Jul;33(7):693-6.

Von Eiff C, Becker K, Machka K, et al. Nasal carriage as a source of Staphylococcus aureus bacteremia. N Engl J Med 2001;344:11–6.

Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. Lancet Infect Dis 2005; 5: 751–62.

Wilcox MH, Hall J, Pike H, et al. Use of perioperative mupirocin to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) orthopaedic surgical site infections. J Hosp Infect 2003; 54:196-201.

Yan X, Song Y, Yu X, Tao X, Yan J, Luo F, Zhang H, Zhang J, Li Q, He L, Li S, Meng F, Zhang J, Grundmann H. Factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage among healthy people in Northern China. Clin Microbiol Infect 2015; 21: 157–162.

Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. N Engl J Med 2004; 351:1645-54.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche d'exploitation

Etude de portage nasal de *Staphylococcus aureus* par les patients en chirurgie orthopédique

IP: N° du lit : N° de prélèvement :

Nom & Prénom:

Sexe: Age: Poids : Taille moyenne :

Adresses :

Motif d'hospitalisation :

Date d'admission : Date d'opération :

Type d'opération :

Durée d'opération : Durée d'hospitalisation:

Hospitalisation antérieure : Oui ☐ Non ☐

Motif d'hospitalisation :

Antibiothérapie :

Date de sortie :

Antibiothérapie :

.....

Pathologies chroniques :

Date du 1^{er} prélèvement :/...../.....

Date du 2^{ème} prélèvement :/...../.....

Résultat de portage nasal

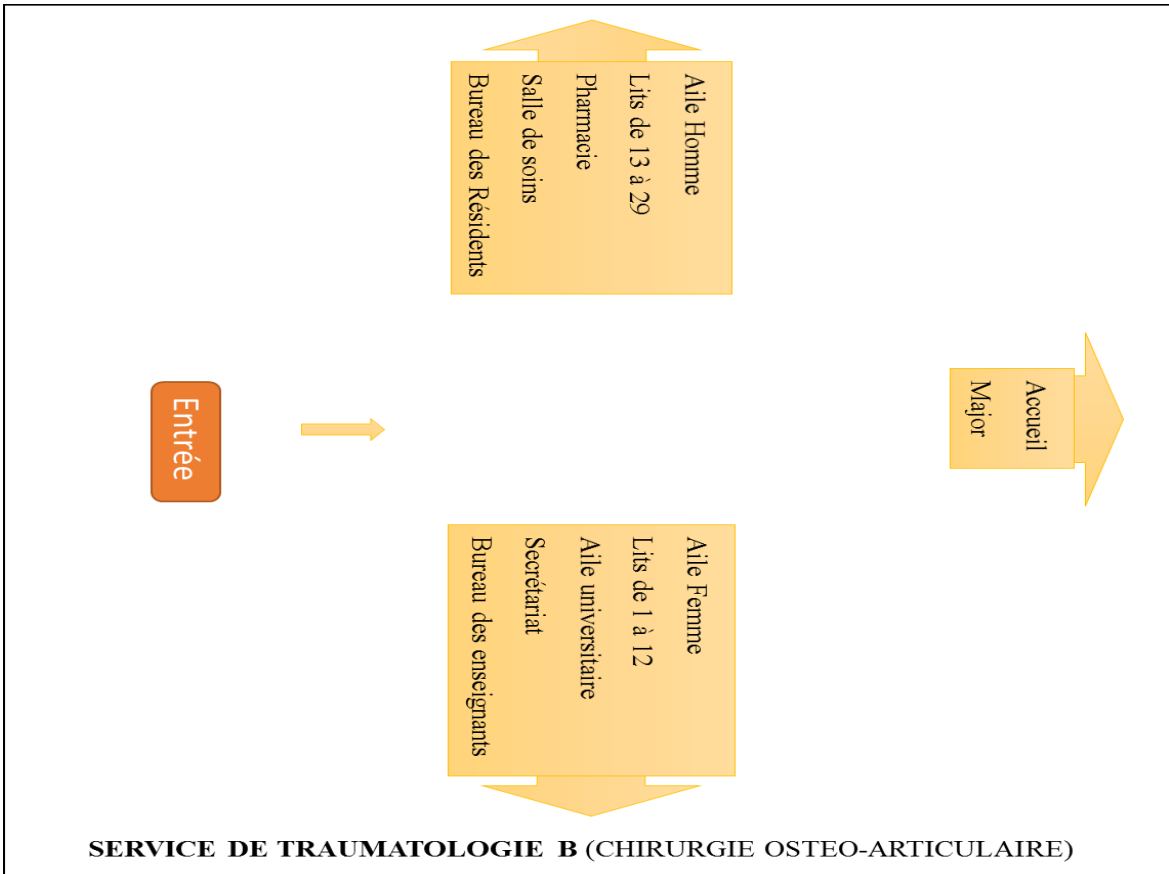
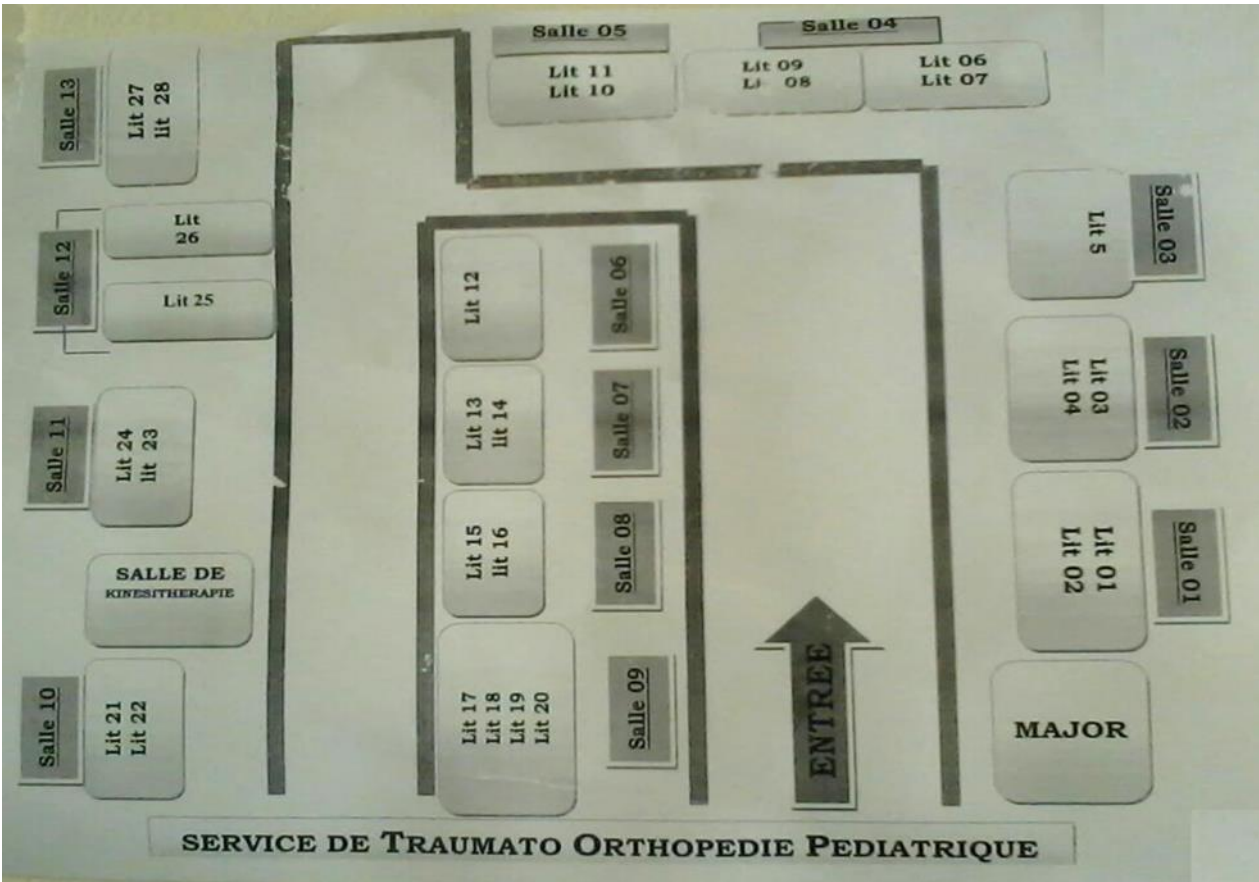
1^{er} prélèvement :

2^e prélèvement :

Cas d'Infection : Date de prélèvement :/...../.....

Résultat d'analyses :

Annexe 2 : Structure des services d'étude



Annexe 3 : Produits microbiologiques

Bouillon cœur-cerveille (BHI)

- protéose-peptone 10,0 g
 - infusion de cerveau de veau 12,5 g
 - infusion de cœur de bœuf 5,0 g
 - glucose 2,0 g
 - chlorure de sodium 5,0 g
 - hydrogénophosphate de sodium 2,5 g
 - Eau distillée :.....qsp 1 Litre
- pH = 7,4

Gélose nutritive

Préparation : 28 g par litre

- extrait de viande 1,0g/L
- extrait de levure 2.5g/L
- peptone 5,0g/L
- chlorure de sodium 5,0g/L
- Agar 15,0g/L
- pH = 7,0

Milieu Chapman

Composition pour la préparation d'un litre de milieu.

- Peptone :.....10,0 g
 - Extrait de viande de bœuf :.....1,0 g
 - Chlorure de sodium :.....75,0 g
 - Mannitol :.....10,0 g
 - Rouge de phénol :.....0,025 g
 - Agar-Agar :.....15,0 g
 - Eau distillée :.....qsp 1 Litre
- pH = 7,4

Gélose Muller-Hinton

Préparation : 38 g par litre.

- infusion de viande de bœuf : 300,0 ml
- peptone de caséine : 17,5 g
- amidon de maïs : 1,5 g
- agar : 17,0 g
- pH = 7,4

Eau physiologique

- NaCl :.....9,0 g
- Eau distillée :.....qsp 1 Litre

Plasma de lapin

Plasma de lapin lyophilisé

Eau distillée stérile 6ml

Milieu EMB

Composition pour la préparation d'un litre de milieu.

Peptone10,0 g

Lactose10,0 g

Éosine 0,4 g

Bleu de méthylène0,0625 g

Hydrogénophosphate de potassium ...2,0 g

Agar15,0 g

pH =6,8

Milieu Kligler-Hejna

Composition pour la préparation d'un litre de milieu.

- Peptone 15 g

- Extrait de viande 3 g

- Extrait de levure 3 g

- Peptone pepsique de viande 5 g

- Glucose 1 g

- Lactose 10 g

- Rouge de phénol 25 mg

- Chlorure de sodium 5 g

- Sulfate ferreux 0,2 g

- Thiosulfate de sodium 0,3 g

- Agar-agar 11 g

pH = 7,5



Fiche pratique

La classe de contamination d'Altemeier

La classification du risque intrinsèque d'un type d'incision particulier est basée sur celle de l'American College of Surgeons (Altemeier), qui définit 4 catégories.

- **Chirurgie propre**

Intervention sur une zone normalement stérile. La peau est primitivement intacte. Si on met en place un drainage, ce doit être un système clos. Pas d'ouverture des tractus digestif, respiratoire, urogénital, ou oropharyngé.

- **Chirurgie propre-contaminée**

Intervention avec ouverture ou traversée d'une zone possédant une flore bactérienne saprophyte. Intervention accompagnée d'ouverture des tractus digestif, respiratoire ou urogénital dans des conditions techniques bien contrôlées et sans contamination inhabituelle (urines stériles, bile non infectée).

- **Chirurgie contaminée**

Intervention avec ouverture ou traversée d'une zone d'inflammation non purulente. Intervention avec contamination massive par le contenu du tube digestif, ouverture du tractus urogénital ou biliaire en présence d'une infection urinaire ou biliaire. Plaies traumatiques ouvertes récentes (moins de 4 heures).

- **Chirurgie sale ou infectée**

Intervention sur une zone contenant du pus, des corps étrangers, des fécès. Plaies traumatiques anciennes (datant de plus de 4 heures). Cette définition suggère la présence des organismes responsables de l'infection opératoire dans le site opératoire avant l'intervention.

Annexe 5 : score ASA

ASA Physical Status Classification System

- 1** : Patient normal
- 2** : Patient avec anomalie systémique modérée
- 3** : Patient avec anomalie systémique sévère
- 4** : Patient avec anomalie systémique sévère représentant une menace vitale constante
- 5** : Patient moribond dont la survie est improbable sans l'intervention
- 6** : Patient déclaré en état de mort cérébrale dont on prélève les organes pour greffe

Société Française d'Anesthésie et de Réanimation

Annexe 6 : Profils toxiniques des isolats de *S. aureus* d'origine nasal

Profil toxinique	Nombre d'isolats
Sauvage	22
<i>selm</i>	8
<i>selk</i>	1
<i>sec</i>	1
<i>seh</i>	2
<i>selo</i>	1
<i>tst</i>	3
<i>selm, selo</i>	3
<i>selm, sec</i>	2
<i>selm, tst</i>	3
<i>selm, selr</i>	1
<i>tst, selo</i>	3
<i>Seh, tst</i>	2
<i>selm, tst, selo</i>	1
<i>selm, sell, selo</i>	1
<i>Seh, selo, sell</i>	1
<i>selm, etb, selo</i>	1
<i>seh, tst, selo</i>	1
<i>seh, tst, sell, selo</i>	1
<i>sem, sec, selo, sell</i>	1
<i>seh, tst, selq, selk</i>	1
<i>sem, sed, selr, selo</i>	1
<i>sem, sec, selq, sel, selo</i>	1