

**UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I**

\*\*\*\*\*

**FACULTÉ DES SCIENCES**

\*\*\*\*\*

**CENTRE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE (CRFD)**

\*\*\*\*\*

*Unité de Recherche et de Formation  
Doctorale en Sciences de la vie, Santé et  
Environnement*



**THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I**

\*\*\*\*\*

**FACULTY OF SCIENCE**

\*\*\*\*\*

**POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE**

\*\*\*\*\*

*Doctoral Unit of Research and Training in  
Science of Life Science, Health and  
Environment*

**DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE**

*DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY*

**LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE**

*LABORATORY OF MICROBIOLOGY*

**Etude de l'antibiorésistance, facteurs de  
risque associés et caractérisation moléculaire  
des souches de *Staphylococcus aureus* dans  
les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-  
Nord du Cameroun.**

**THESE**

Présentée comme requis partiel en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat / *Ph.D* en  
Microbiologie Médicale

Par :

**MOHAMADOU MANSOUR**

Matricule : 17T4869

*Master en Sciences Biomédicales*

Sous la direction de :

**GONSU KAMGA Hortense**

Professeur Titulaire

Université de Yaoundé 1

**RIWOM ESSAMA Sara**

Maitre de Conférences

Université de Yaoundé 1



Année Académique : 2022-2023



ATTESTATION DE CORRECTION DE THESE DE M. MOHAMADOU MANSOUR,  
SOUTENUE LE 10 NOVEMBRE 2023 A L'UNIVERSITE DE YAOUNDE I

Nous soussignés, membres du Jury de la soutenance de Thèse de Doctorat/*Ph.D* de Microbiologie (Option Microbiologie Médicale) de **M. MOHAMADOU MANSOUR**, Matricule 17T4869, soutenance autorisée par la correspondance N°23012/UY1/VREPD-TIC/DAAC/DEPE/SPD/SPDA/CB-AP du 27 Septembre 2023, et soutenue le 10 Novembre 2023 à 14 heures dans la salle Multimédia de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I sous le Thème : « Etude de l'antibiorésistance, facteurs de risques associés et caractérisation moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* dans les Régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord du Cameroun », attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation par les membres de jury ont été effectuées et que ledit document peut être déposé sous sa forme actuelle.

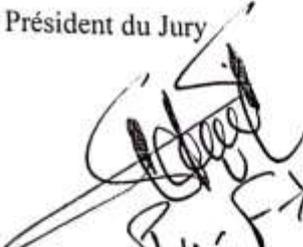
En foi de quoi la présente attestation lui est établie pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le ...20.DEC...2023.....

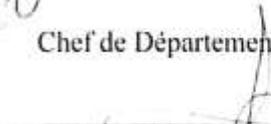
Examineurs

Président du Jury

  
  
  
AISEAGAH

  
FV-FXE10A

Chef de Département de Microbiologie

  
Jean Justin Essia Nyang  
Professeur



<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

**ANNÉE ACADEMIQUE 2022/2023**

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION 31 MAI 2023**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN** : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DPSAA**: ATCHADE Alex de Théodore, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DRC** : ABOSSOLO ANGUE Monique, *Maître de Conférences*

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal,  
*Maître de Conférences*

**Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS** :

AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

**1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)**

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>

	C.		
13.	DJUIDJE NGOUNOUÉ Marceline	Maître de Conférences	En poste
14.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
15.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
16.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
18.	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
19.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
20.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
21.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
22.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
23.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

24.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
25.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
26.	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
27.	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
28.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
31.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
32.	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
34.	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
36.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste

37.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
38.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
39.	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste

40.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
41.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
42.	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistant	En poste
43.	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste

<b>2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (52)</b>
--

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2.	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5.	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7.	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
9.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
10.	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
12.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
13.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i>
14.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

15.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
16.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
19.	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
20.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
21.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste

22.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
23.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
24.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
25.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
26.	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
27.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
28.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste
30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

31.	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
32.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
33.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
34.	FEUGANG YOUMSSI François	Chargé de Cours	En poste
35.	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
36.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
37.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
38.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
39.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
40.	MAPON NSANGOU Indou	Chargé de Cours	En poste
41.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
42.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
43.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
44.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
45.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
46.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
47.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
48.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

49.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Assistante	En poste
50.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste

51.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
52.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste

### 3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (34)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	YOUMBI Emmanuel	Professeur	En poste
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
10.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
12.	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	En poste
13.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
14.	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
16.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
18.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

19.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
20.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargée de Cours	En poste
21.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
22.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL	Chargé de Cours	<i>En détachement</i>

	ANNIE CLAUDE		<i>/UNESCO MALI</i>
25.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
26.	KABELONG BANAHO Louis- Paul-Roger	Chargé de Cours	En poste
27.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
28.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
29.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
30.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
31.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
32.	MANGA NDJAGA JUDE	Assistant	En poste
33.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En poste
34.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste

#### 4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (28)

1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4.	NENWA Justin	Professeur	En poste
5.	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen FS Univ.Ngaoundere</i>
6.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste

8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste
11.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
13.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste

14.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15.	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16.	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
18.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
19.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
20.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
21.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
22.	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste

23.	MAKON Thomas Beaugard	Chargé de Cours	En poste
24.	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
25.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
26.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
27.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste
28.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste

#### **5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (37)**

1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UIYI</i>
3.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5.	WANDJI Jean	Professeur	En poste
6.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste

7.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
8.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
9.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste

11.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
12.	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13.	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14.	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
15.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
16.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
17.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
18.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uté Bertoua</i>
19.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
20.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
21.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23.	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
24.	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

25.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
26.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
27.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
28.	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
29.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
31.	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
33.	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
34.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
35.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

36.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
-----	-------------------------	-----------	----------

37.	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste
-----	---------------------	-----------	----------

**6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)**

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général/ MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste

5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6.	AMINOU HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
15.	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
16.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste
17.	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Sous-Directeur ENSET Ebolowa</i>
18.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

19.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21.	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
22.	NKONDOCK. MI.	Assistant	En poste

	BAHANACK.N.		
--	-------------	--	--

**7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)**

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
----	-----------------------	------------	----------------------------

2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes &amp; Diplômes/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

10.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
16.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
17.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18.	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
19.	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
20.	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
21.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
22.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste

23.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
24.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
25.	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
26.	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste

27.	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28.	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
29.	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
30.	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
31.	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
32.	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste
33.	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

**8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)**

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>

3.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
4.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
5.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste

7.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
9.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

10.	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
11.	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
12.	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
13.	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
14.	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
15.	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
16.	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>
17.	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

18.	NKOUÉ TONG Abraham	Assistant	En poste
19.	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistant	En poste
20.	EZO'O MENGO Fabrice Télésfor	Assistant	En poste
21.	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22.	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23.	NGOUENAM Romial Joël	Assistant	En poste
24.	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste

### 9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (43)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste

3.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
4.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5.	HONA Jacques	Professeur	En poste
6.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
9.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
13.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
16.	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17.	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18.	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19.	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
22.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
23.	MELI'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
24.	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste
25.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
26.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27.	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/Uyi</i>
30.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférence	<i>En stage depuis février 2023</i>

31.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
32.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
33.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
34.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
35.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
36.	FOUEJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
37.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
38.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	Directeur Unité de production des réactifs/IMPM
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42.	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
43.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste

#### 10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /UDs</i>
2.	NDAM NGOUPAYOU Jules- Remy	Professeur	En poste
3.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
4.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
5.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
6.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
7.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
8.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>

9.	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
11.	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
12.	Elisé SABABA	Maitre de Conférences	En poste
13.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. d'Etat/MINMIDT</i>
14.	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
15.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté</i>

			<i>Bertoua</i>
16.	MBIDA YEM	Maitre de Conférences	En poste
17.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
18.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
19.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
20.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
21.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
23.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
24.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
25.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

26.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
27.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
28.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
29.	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	En poste
30.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
31.	MBESSE Cécile Olive	Chargée de Cours	En poste
32.	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté Maroua</i>
34.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
37.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
38.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
39.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
40.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste

41.	KOAH NA LEBOGO Serge Parfait	Assistant	En poste
42.	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste
43.	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

**Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de  
Yaoundé I**

<b>NOMBRE D'ENSEIGNANTS</b>					
<b>DÉPARTEMENT</b>	<b>Professeurs</b>	<b>Maîtres de Conférences</b>	<b>Chargés de Cours</b>	<b>Assistants</b>	<b>Total</b>
BCH	8 (01)	15 (11)	13 (03)	7 (05)	<b>43 (20)</b>
BPA	14 (01)	16 (09)	18 (04)	4 (02)	<b>52 (16)</b>
BPV	6 (01)	12 (02)	13 (07)	3 (00)	<b>34 (10)</b>
CI	7 (01)	15 (04)	5 (01)	1 (00)	<b>28 (06)</b>
CO	6 (01)	18 (04)	11 (04)	2 (00)	<b>37 (09)</b>
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	<b>22 (01)</b>
MAT	1 (00)	8 (00)	17 (01)	7 (02)	<b>33 (03)</b>
MIB	2 (01)	7 (03)	8 (04)	7 (02)	<b>24 (10)</b>
PHY	15 (01)	15 (04)	11 (01)	2 (00)	<b>43 (06)</b>
ST	8 (00)	17 (03)	15 (04)	3 (01)	<b>43 (08)</b>
<b>Total</b>	<b>69 (07)</b>	<b>125 (40)</b>	<b>125 (30)</b>	<b>40 (12)</b>	<b>359 (89)</b>

Soit un total de **359 (89)** dont :

- Professeurs **69 (07)**
- Maîtres de Conférences **125 (40)**
- Chargés de Cours **125 (30)**
- Assistants **40 (12)**

( ) = Nombre de Femmes **89**

# TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	xxi
REMERCIEMENTS .....	xxii
LISTE DES ABREVIATIONS .....	xxiv
LISTE DES TABLEAUX .....	xxvi
LISTE DES FIGURES .....	xxvii
RESUME.....	xxviii
ABSTRACT .....	xxix
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE .....	5
I-1- Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	5
I-1-1- Historique.....	5
I-1-2 Taxonomie .....	5
I-1-3- Habitat et Epidémiologie.....	5
I-1-4- Transmission .....	7
I-2- Caractères bactériologiques.....	7
I-2-1- Morphologie.....	7
I-2-2- Caractères culturels.....	7
I-2-3- Caractères Biochimiques.....	8
I-2-3-1- Catalase.....	8
I-2-3-2- La coagulase .....	9
I-2-3-3- La Dnase .....	9
I-3- Diagnostic biologique <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
I-3-1- Diagnostic Direct .....	10
I-3-1-1- Prélèvements et culture.....	10
I-3-1-2- Test au microscope optique .....	10
I-3-1-3- Le test à la catalase .....	11
I-3-1-4- Test de coagulase .....	11
I-3-1-5- Le test de la DNase .....	11
I-3-1-6- Le mannitol.....	12
I-3-1-7-Test d'agglutination de latex.....	12
I-3-1-8- Les tests immunologiques.....	12
I-3-2- Diagnostic moléculaire.....	13
I-4- La résistance aux antibiotiques.....	13
I-4-1- Origine et définition des antibiotiques .....	13
I-4-2- Mécanismes de résistance aux Antibiotiques.....	14
I-4-3- Résistance aux antibiotiques antistaphylococciques .....	16
I-4-4- Culture des <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM).....	23

I-4-5- SARM d'origine Hospitalier ou Hospital Acquired Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (HA-MRSA).....	26
I-4-5-2- Origines et propagation des infections liées aux HA-MRSA .....	26
I-4-6- SARM d'origine communautaire ou Community Acquired SARM (CA-SARM).....	27
I-4-6-1- Epidémiologie.....	27
I-5- Toxines staphylococciques.....	28
I-5-1-Leucocidine de Panton et Valentine (PVL).....	29
I-5-1-1- Généralités sur la Leucocidine de Panton Valentine .....	29
I-5-1-2- Acquisition des gènes codant la <i>PVL</i> par <i>S. aureus</i> .....	29
I-5-1-3- Structure des gènes <i>lukS-PV</i> et <i>lukF-PV</i> .....	30
I-5-2- Les toxines à activités membranaires : Le Staphylococcal Chromosome Cassette mec (SCCmec) .....	34
I-5-2-1- Caractéristiques des cassettes <i>SCCmec</i> des HA-MRSA.....	38
1-6- Infections causées par <i>Staphylococcus aureus</i> .....	38
I-6-1- Infections suppuratives.....	38
I-6-2- Infections à <i>Staphylococcus aureus</i> liées aux toxines.....	39
I-7- Facteurs de risques associés aux infections à <i>Staphylococcus aureus</i> : cas du VIH/SIDA et du diabète .....	40
I-7-1- Le VIH/SIDA et l'infection à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
I-7-2- Le Diabète et l'infection à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
I-8- Identification phylogénétique.....	42
I-8-1- Typage phylogénique de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
I-8-2- Impact des facteurs de virulence .....	43
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES .....	44
II-1- Présentation des Lieux de l'étude .....	47
II-1-1-Présentation de la région de l'Adamaoua .....	47
II-1-2- Présentation de la Région de l'Extrême-Nord et des sites de notre étude .....	49
II-3- Taille de l'échantillon .....	51
II-4- Population de l'étude .....	52
II-4-1- Critères d'inclusion.....	52
II-4-2- Critères de non inclusion .....	52
II-5-Considérations éthiques .....	52
II-6- Analyses statistiques .....	52
II-7- Echantillonnage.....	53
II-7-1- Procédures de collectes d'échantillons .....	53
II-7-2- Description des techniques de prélèvement.....	53
II-8- Procédure de traitement des échantillons collectés .....	55
II-8-1- Transport des échantillons .....	55

II-8-2- Analyses des échantillons .....	55
II-8-3- Préparation des milieux de culture.....	56
II-8-4- Description des techniques d'identifications réalisées .....	57
II-8-4-1- Gram de Contrôle .....	57
II-8-4-2- Test de la Catalase .....	58
II-8-4-3- Test de la coagulase.....	59
II-8-4-4- DNase : désoxyribonucléase.....	60
II-9- Réalisation de l'antibiogramme .....	61
II-9-1-Résistance aux antibiotiques utilisés contre <i>S. aureus</i> .....	61
II-9-2- Procédure de la détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) des souches résistantes à la vancomycine .....	63
II-9-2-1-Préparation de la gamme d'antibiotique.....	63
II-9-2-2-Préparation de la suspension bactérienne.....	64
II-9-2-3-Distribution des suspensions dans la gamme de dilution d'antibiotiques .....	64
II-10- Réalisation de la partie moléculaire .....	64
II-10-1- Extraction de l'ADN bactérien .....	65
II-10-2- Identification moléculaire du <i>S. aureus</i> .....	67
II-10-3- Détection du gène <i>mec A</i> et des facteurs de virulence PVL (PCR Multiplex).....	68
II-10-4- Détection des SCCmec de types I, II, III, IV et V. ....	69
II-10-5- Identification phylogénétique .....	71
<b>CHAPITRE III : RESULTATS</b> .....	<b>73</b>
III-1- Fréquence d'isolement de <i>Staphylococcus aureus</i> dans prélèvements biologiques et leur profil de résistance aux antibiotiques dans les sites d'études.....	73
III-1-1- Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i> multirésistantes dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord .....	73
III-1-2- Les données socio démographiques et la fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i> multirésistant dans les différents types de prélèvement. ....	75
III-1-3- Profil de résistance aux antibiotiques dans les sites d'études et la CMI des souches résistantes à la vancomycine. ....	79
III-2- Identification du gène de résistance couplé aux facteurs de virulence des isolats multirésistants et répartition des isolats selon leurs origines : hospitalière ou communautaire .....	83
III-3- La résistance chez les patients vivants avec des comorbidités : cas du diabète et le VIH.....	89
III-3-1-Etude de la résistance chez les personnes atteintes du Diabète .....	89
III-3-2- Etude de la résistance chez les personnes atteintes du VIH/SIDA.....	90
III-4- Etude de l'Identité phylogénétique de quelques isolats multirésistants.....	92
<b>CHAPITRE IV DISCUSSION</b> .....	<b>95</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>101</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>105</b>

## **DEDICACE**

**A mon défunt papa  
OUMAROU Ardo,  
paix à son âme !**

## REMERCIEMENTS

Louanges à ALLAH Tout Puissant qui m'a prêté la vie et la force pour mener ce travail ;  
Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent à tous ceux et celles qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail ;

- Le Professeur GONSU KAMGA Hortense, cher maître, pour avoir accepté diriger cette thèse, je ne saurais manquer de vous remercier pour votre disponibilité, votre sens d'écoute, votre simplicité, merci pour tous les efforts que vous avez consacrés pour l'aboutissement de ce travail ;
- Le Professeur RIWOM ESSAMA Sara, cher Professeur vous avez accepté de diriger ce travail. Votre rigueur dans le travail bien fait, votre disponibilité, je vous prie d'accepter ma parfaite reconnaissance ;
- A Monsieur le Doyen de la Faculté des sciences de l'Université de Yaoundé 1, Professeur, acceptez nos sincères remerciements pour les efforts que vous avez toujours consentis pour nous permettre de bien mener nos travaux de recherches et surtout pour votre accord qui m'a permis de traverser les frontières afin d'achever ce travail ;
- A Monsieur le chef de Département de Microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1, le Professeur ESSIA NGANG Jean Justin. Vous avez été toujours présent pour répondre à nos sollicitations, vous avez consenti de gros efforts pour nous permettre de mener sereinement nos travaux, nous vous disons merci pour tout ;
- Le Docteur SUNDUS Javed de COMSATS University Islamabad au Pakistan, dear ma'am vous avez assuré pleinement le rôle d'une mère, vous m'avez accepté et adopté dans votre Laboratoire malgré le peu d'information que vous aviez sur ma personne, pour vos conseils, votre disponibilité et pour tous vos efforts je vous dis grandement merci ;
- Aux responsables de programme de la bourse CUI-TWAS, sans vous il nous était très difficile de voir le bout du tunnel, pour tout ce que vous faites pour l'avancement de la science nous vous en sommes reconnaissant ;
- A Monsieur le coordonnateur de la filière doctorale du département de Microbiologie, le Pr. Sylvain SADO et votre collaboratrice Dr. NJIKI BIKOI Jacky. Nous vous disons merci pour vos efforts et votre soutien permanent ;
- A Monsieur le Directeur Général de l'IMPM et le directeur général adjoint, je suis très reconnaissant pour votre largesse ;
- A Madame le chef centre de recherche en santé et sur les pathologies prioritaires de l'IMPM et mon responsable de Laboratoire, vous avez été toujours présente pour me

soutenir et soutenir mes multiples demandes de descente sur le terrain, je vous en suis très reconnaissant ;

- Aux Directeurs des Hôpitaux suivants : Régional et Protestant de Ngaoundéré, Régional de Maroua. A madame le chef de centre médico-social de l'Université de Maroua, Monsieur le responsable de Laboratoire de la Pharmacie de l'Extrême-Nord, sans vos accords ce travail ne serait jamais réalisé, je vous dis à tous merci ;
- A tous les responsables des Laboratoires des sites de l'étude et tous les majors des différents services des Hôpitaux, je ne pourrai vous citer l'un après l'autre, vous avez été si nombreux à apporter chacun à son niveau un coup de main à ce travail, je vous prie d'accepter ma parfaite reconnaissance et ma très haute considération ;
- A tous les enseignants du département de Microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1 ;
- Mes frères et sœurs : MOHAMADOU Oumarou, Aminou, Bachirou, Nassirou, Moustapha, Hadji, Seini, Mahing, Aissatou, Oummoul, Fadimatou, Haoua, Asmaou, Mairamou, Asta wabi, Mamma Guilé, à tous merci ;
- A mon épouse HABIBA Hamadou, pour ton accompagnement et ton soutien moral, merci biibi am;
- -Mon oncle BOUBA Ardo, merci pour votre soutien et vos conseils ;
- Le Docteur OUMAROU Alim, votre soutien et vos conseils ont été pour moi une boussole qui m'a permis de revenir sur le bon chemin cher grand frère merci ;
- Monsieur Loibé Habib, vous avez été présent pour répondre à mes sollicitations, merci pour m'avoir accueilli parmi les vôtres et fait de moi un petit frère ;
- Le Docteur BAMIA Aline, ma sœur et ma confidente, ton courage, tes conseils, ton soutien ont été d'un apport inestimable pour l'aboutissement de ce travail, je te dis merci pour tous ;
- Monsieur TAOUFICK Youssoufa Baoussi mon ami et frère, reçois toute ma gratitude ;
- A mes collègues et amis du Laboratoire de Biologie Humaine de l'IMPM pour votre patience et l'esprit de partage, je vous remercie sincèrement ;
- A tous mes camarades de Laboratoire de Microbiologie de Comsats University pour vos conseils et votre assistance sur la paillasse, recevez tous mes sincères encouragements et remerciements ;
- -A tous ceux et celles qui, de près ou de loin, ont contribué à la mise en œuvre de cette thèse, tous mes sincères remerciements.

## LISTE DES ABREVIATIONS

AA :	Acides aminés
AAD :	Aminoglycoside adényltransférase
AD :	Adamaoua
ADN :	Acide désoxyribonucléique
Agr :	<i>Accessory gene regulator</i>
APH :	Aminoglycoside Phosphotransférase
ARN :	Acide Ribonucléique
ARN <sub>r</sub> :	Acide ribonucléique ribosomique
AT :	Acides téichoïques
CA-MRSA :	<i>Community acquired methicillin resistant Staphylococcus aureus</i>
Crr :	Cassette Chromosome Recombinase
CD4 :	<i>Cluster de Différenciation 4</i>
CDT :	Centre de Traitement
CDS :	<i>Coding DNA Sequence</i>
CMH :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMS :	Centre Médico-Social
Cnp :	<i>Collagen binding protein</i>
CTS :	Choc Toxic Staphylococcique
CPA :	Cellule Présentatrice d'Antigène
DHFR :	Dihydrofolate Réductase
DHPS :	Dihydroptéroate Synthétase
ELISA :	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
Embp :	<i>Extracellular matrix binding protein</i>
EN :	Extrême-Nord
FAO :	Food and Agriculture Organization
GISA :	Glycopeptide-Intermediate <i>S. aureus</i>
HA-MRSA :	<i>Hospital acquired methicillin resistant Staphylococcus aureus</i>
HRM :	Hôpital Régional de Maroua
HRN :	Hôpital Régional de Ngaoundéré
HPN :	Hôpital Protestant de Ngaoundéré
ICF :	<i>International Classification of Fonctionning</i>
IL8 :	Interleukine 8
Ig G :	Immunoglobulines G
Ig M :	Immunoglobulines M
JNK :	<i>Jun N-terminal kinase</i>
LTA :	<i>Lipo-Teichoic Acids</i>

MDR : *Multi Drug Resistance*

MM : Masse Moléculaire

MRSA : *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

MSSA : *Methicillin sensitive Staphylococcus aureus*

MIC : Concentration Minimale Inhibitrice

MAIC : Molécule d'Adhésion Intercellulaire

MAPK : *Mitogen-Activated Protein Kinase*

MSCRAMMs : *Microbial Surface Components Reconizing Adhesive Matrix Molecules*

NCBI : *National Center for Biotechnology Information*

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAMPs : *Pathogen Associated Molecular Pattern*

PAB : Para-Amino Benzoïque

PBP : *Penicillin Binding Protein*

PCR : *Polymerase chain reaction*

PDG : Protéines associées au peptidoglycane

PDR : Pan Drug Resistance

PKC : Protéine kinase C

PLP : Protéine de liaison à la pénicilline

PTK : Protéine Tyrosine Kinase

PNN : Polynucléaires Neutrophiles

PVL : Panton, Valentine Leucocidine

Rot : *Repressor of toxins*

SCCmec: *Staphylococcal Chromosome Cassette mec*

SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative

*S. aureus* : *Staphylococcus aureus*

SaeRS : *S aureus Exoprotein Expression*

φSLT: *Staphylococcal Leucocytolytic Toxin*

SARM : *Staphylococcus aureus Résistant à la Méricilline*

SCT : Syndrome du Choc Toxique

SIDA : Syndrome de l'Immunodéficience Acquise

SE : Entérotoxine Staphylococcique

TNFα : Facteurs de Nécrose Tumorale Alpha

TSST-1: *Toxic Shock Syndrome Toxin-1*

UPEC : Unité de Prise en Charge

UPGMA: *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*

VISA : *Vancomycine-Intermediate S. aureus*

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

XDR : *Extensively Drug Resistant*

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau II:</b> Antibiotiques testés par famille et charge des disques (CA SFM, 2020) .....	62
<b>Tableau III:</b> Programme d'amplification pour la recherche du gène 16S de l'ARNr .....	67
<b>Tableau IV:</b> Programme d'amplification pour la détection du gène mec A et Luk S/F-PV..	69
<b>Tableau V:</b> Préparation de la réaction PCR Multiplex Sccmec types I à V.....	70
<b>Tableau VI:</b> Programme d'amplification pour le séquençage .....	71
<b>Tableau VII :</b> Fréquence d'isolement de S. aureus multirésistant en fonction des types de prélèvement .....	73
<b>Tableau VIII :</b> Distribution des isolats de S. aureus multirésistants en fonction du groupe d'âge et de la région .....	76
<b>Tableau IX:</b> Fréquence de S. aureus multirésistant chez les patients ayant pris d'antibiotiques et ceux ayant été sous traitement traditionnel .....	78
<b>Tableau X:</b> Profil de S. aureus aux antibiotiques utilisés dans le traitement .....	80
<b>Tableau XI :</b> Distribution statistique des diamètres d'inhibition des antibiotiques testés dans la région de l'Extrême-Nord.....	82
<b>Tableau XII:</b> Distribution statistique des diamètres d'inhibition des antibiotiques testés dans la région de l'Adamaoua .....	82
<b>Tableau XIII :</b> Distribution régionale des types de SCCmec parmi les échantillons cliniques collectés dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord du Cameroun. ....	84
<b>Tableau XIV:</b> Classification du profil de résistance du S. aureus .....	85
<b>Tableau XV:</b> Distribution de SCCmec en fonction de la résistance phénotypique des SARM .....	85
<b>Tableau XVI:</b> Phénotype de résistance en fonction de type de prélèvement.....	86
<b>Tableau XVII:</b> Résistance aux antibiotiques chez les patients diabétiques et non diabétiques .....	90
<b>Tableau XVIII :</b> Répartition de la résistance chez les personnes VIH positif et VIH négatif	91
<b>Tableau XIX :</b> Résultat des tests statistiques effectués pour la diversité des séquences .....	93

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Colonisation humaine par <i>Staphylococcus aureus</i> (Wertheim et al., 2005). .....	6
<b>Figure 2</b> : Colonie de Staphylocoques mannitol positive sur milieu Chapman. ....	8
<b>Figure 3</b> : Représentation des différents mécanismes de résistances aux antibiotiques.....	15
<b>Figure 4</b> : Schéma résistance par production de betalactamase .....	16
<b>Figure 5</b> : Résistance du staphylocoque par modification de la cible .....	17
<b>Figure 6</b> : Résistance par modification du PLP.....	18
<b>Figure 7</b> : Mécanisme de fixation séquentielle et d'assemblage des monomères de LukS-PV et LukF-PV pour former la PVL active.....	32
<b>Figure 8</b> : Représentation illustrative des différents types de SCCmec. ....	37
<b>Figure 9</b> : Exemple de génome de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
<b>Figure 10</b> : Diagramme synoptique du protocole de recherche .....	46
Figure 11 : Localisation des sites de l'Etude.....	47
<b>Figure 12</b> : Illustration des colonies de <i>S. aureus</i> après coloration au Gram. (Présente étude). .....	58
<b>Figure 13</b> : Réaction de catalase (Présente étude).....	59
<b>Figure 14</b> : Illustration réaction de la coagulase (Présente étude).....	60
<b>Figure 15</b> : Illustration de Dnase (Présente étude) .....	61
<b>Figure 16</b> : Préparation des gammes d'antibiotiques .....	64
<b>Figure 17</b> : Présentation structurale des isolats récoltés dans les deux régions au cours de la période de l'étude. ....	74
<b>Figure 18</b> : Distribution des isolats de <i>S. aureus</i> multirésistants en fonction du genre.....	75
<b>Figure 19</b> : Présentation graphique des patients hospitalisés et non hospitalisés en fonction des régions de l'étude .....	76
<b>Figure 20</b> : Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i> multirésistant en fonction des services d'hospitalisation .....	77
<b>Figure 21</b> : Présentation schématique des souches multirésistantes .....	79
<b>Figure 22</b> : Illustration des CMI vancomycine (Présente étude).....	81
<b>Figure 23</b> : Illustration de mec A et Luk S/F PV sur gel d'agarose (Présente étude) .....	83
<b>Figure 24</b> : Répartition de SARM dans Région de l'Adamaoua .....	87
<b>Figure 25</b> : Répartition de SARM dans la Région de l'Extrême-Nord .....	87
<b>Figure 26</b> : Répartition des SARM en fonction du genre.....	87
<b>Figure 27</b> : Répartition des patients en fonction des salles .....	88
<b>Figure 28</b> : Répartition des patients hospitalisés en salle commune en fonction du nombre de lits dans chaque salle .....	88
<b>Figure 29</b> : Arbre phylogénétique des comparaisons entre les souches camerounaises et celles d'autres pays (Présente étude).....	93

## RESUME

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) est une bactérie Gram positif, appartenant à la grande famille de *Micrococcaceae*. Les souches résistantes aux antibiotiques sont de plus en plus enregistrées. Notre étude avait pour objectif général d'étudier le profil de résistance et les caractères génotypiques des isolats de *Staphylococcus aureus* dans les Régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord. Les échantillons ont été collectés chez les patients reçus dans les laboratoires des Hôpitaux. Après culture, un Gram de contrôle et les tests biochimiques d'identification ont été effectués suivis de l'antibiogramme. Les analyses moléculaires ont été réalisées sur les souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) ainsi que la détermination phylogénétique. Après l'identification biochimique et les analyses moléculaires, 92/202 (45,5 %) des souches étaient effectivement de SARM. Les isolats des SARM obtenus présentaient une résistance élevée à la pénicilline (90,2%), suivie par le cotrimoxazole (85,9%), la tétracycline (70,7%). Alors que la rifampicine, l'acide fusidique et la minocycline présentaient une sensibilité élevée respectivement à 90,2%, 75,0% et 64,1%. La détection par PCR multiplex des gènes *mecA* et *Luk S/F PVL* a révélé que 97,8 % des isolats étaient porteurs du gène de résistance *mecA*. Le dépistage des toxines *Luk S/F PVL* a indiqué que 53,3% étaient porteurs du gène de virulence *luk S/F PVL*. Le typage *SCCmec* a montré que le type IV était le plus répandu (29,3%), suivi du type I (23,9%). L'analyse de l'identité phylogénétique et la comparaison des séquences avec la souche de référence (ATCC 21600) ont montré que deux isolats de l'Adamaoua présentent 06 catégories de substitutions en 17 positions. La classification du SARM acquis à l'hôpital (SARM-HA) et du SARM communautaire (SARM-CA) a montré que le SARM-CA était le plus répandu avec 52,1%. La recherche des comorbidités a montré que 9,8 % des patients étaient diabétiques et 8,7 % séropositifs pour le VIH. Il ressort que les deux facteurs de comorbidité augmentent le risque d'apparition des cas de résistance. Il ressort de cette étude que les souches multirésistantes de *S. aureus* circulent dans le septentrion du Cameroun. L'utilisation de lincosamines et macrolides pour le traitement des infections à *S. aureus* s'impose en absence d'un antibiogramme ; ainsi que l'hygiène hospitalière, la limitation des visites à l'hôpital, un suivi particulier du traitement chez les personnes vivant avec les comorbidités s'impose ainsi que l'interdiction de la vente des antibiotiques sans une prescription médicale au préalable.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus*, multirésistant, méticilline, *mecA*, *PVL*.

## ABSTRACT

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is a Gram-positive bacterium belonging to the large Micrococcaceae family. Antibiotic-resistant strains are increasingly being recorded. The overall aim of our study was to investigate the resistance profile and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates in the Adamaoua and Far North Regions. Samples were collected from patients received in hospital laboratories. After culture, a Gram control and biochemical identification tests were carried out, followed by antibiotic susceptibility testing. Molecular analyses were carried out on methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains, as well as phylogenetic determination. After biochemical identification and molecular analysis, 92/202 (45.5%) of the strains were MRSA. These isolates, were highly resistant to penicillin (90.2%), cotrimoxazole (85.9%) and tetracycline (70.7%). They presented high sensitivity to rifampicin, fusidic acid and minocycline with 90.2%, 75.0%, and 64.1% sensitivity rates respectively. Multiplex PCR for *mecA* and *Luk S/F PVL* genes detection revealed that 97.8% of our samples carried the *mecA* resistance gene. While the *Luk S/F PVL* toxin screening indicated that 53.3% carried the *luk S/F PVL* virulence gene. SCCmec typing showed that type IV was the most prevalent (29.3%), followed by type I (23.9%). Phylogenetic analysis and comparison sequence with the reference strain (ATCC 21600) showed that the Adamoua isolates had six different substitutions on seventeen point. However, the Far North isolate was phylogenetically identical to the reference strain. Classification of hospital-acquired MRSA (CA-MRSA) and community-acquired MRSA showed that CA-MRSA was the most prevalent with 52.1%. Research of patients living with comorbidity have showed that 9.8 % of our patients were diabetic and 8.7 % were HIV positive. Our results revealed also both comorbidities increased the risk of developing resistance cases. The present study shows that multidrug-resistant strains of *S. aureus* circulate in the northern part of Cameroon. The use of lincosamides, macrolides, for the treatment of *S. aureus* infections is necessary in the absence of antibiogram tests, as well as hospital hygiene, limiting visits to the hospital, special monitoring of treatment in people living with comorbidities, and the prohibition of the sale of antibiotics without a prior medical prescription.

**Key word:** *Staphylococcus aureus*, multirésistant, methicillin, *mecA*, Panton Valentine *Leucocidine*

## INTRODUCTION GENERALE

Les bactéries résistantes aux antibiotiques ont participé à la mort de 4,95 millions de personnes à travers le monde en 2019 (**Murray et al, 2022**). La résistance aux antimicrobiens devient donc un sujet de plus en plus préoccupant dans le monde entier (**Jindal et al., 2015**). Le fléau n'épargne aucun continent, les pays d'Afrique subsaharienne de l'Ouest sont les plus touchés avec 27,3 morts pour 100.000 habitants (tous âges confondus) sont attribuables à des germes résistants aux antibiotiques.

Cela a poussé l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à produire en 2016 un plan d'action mondial pour combattre les antimicrobiens. Selon ce plan, la résistance aux antibiotiques est l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. Celle-ci touche toutes les couches sociales et est accélérée par le mauvais usage des médicaments chez l'homme et les Animaux avec pour conséquence immédiate la hausse de la morbidité et de la mortalité, l'augmentation des dépenses médicales et la prolongation de la durée d'hospitalisation (**OMS, 2016a**).

Selon le plan d'action mondial de la FAO pour la lutte contre les antimicrobiens 2021-2025, nous avons besoin d'un socle de connaissances et de données scientifiques pour déterminer et gérer les risques liés à la résistance aux antimicrobiens avant la survenue de crises de grande envergure (**FAO, 2021**).

Ce sont autant des raisons qui nous ont poussé à jeter notre dévolu sur la résistance du *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) qui est une bactérie Gram positif, mesurant environ 1 µm de diamètre appartenant à la grande famille de *Staphylococcaceae* selon la classification de Bergey's (**William B, 2009**), cette bactérie est reconnue comme l'un des premiers pathogènes impliqués dans les infections chez l'Homme. Il a été isolé pour la première fois dans le pus d'un abcès par Louis Pasteur (**Kénanian, 2018**). *S. aureus* est responsable d'une plus large variété de pathologies à travers le monde et touche toute les couches sociales (**Taylor et Unakal, 2021**). Les infections causées par cette bactérie, sont entre autres : les infections de la peau et des tissus mous, les bactériémies, les endocardites, les infections du système nerveux central, les infections pulmonaires, les infections des muscles et squelettes, les infections du tractus génito-urinaire, les maladies provoquées par les toxines à l'instar des gastro entérites, également cités comme cause des pathologies nosocomiales (**Köck et al., 2013**).

Selon plusieurs études menées dans le monde, l'incidence d'apparition d'infections à *Staphylococcus aureus* varie selon les régions et la population étudiée (**Laupland et al., 2013**). Elle se situe entre 15 et 40 cas pour 100000 habitants dans le monde avec un taux de

mortalité de 15 à 25 % (**Huggan et al., 2010**). Cependant, ces chiffres sont largement revus à la hausse avec la découverte en 1960 en Grande Bretagne de la souche résistante à la méthicilline qui était jusqu'à lors l'antibiotique utilisé en première intention dans la prise en charge des infections à *S. aureus* (**Brown et al., 2005**). *S. aureus*, est doué d'une très grande capacité d'acquisition et d'expression de larges facteurs de virulence et de résistance aux antibiotiques (**Foster, 2017**). Les souches résistantes à la Meticilline qui autrefois n'étaient rencontrées que dans les Hôpitaux sont aussi actuellement très fortement impliquées dans les infections communautaires (**Kateete et al., 2019**). Cette résistance est aussi favorisée par le portage de certains gènes à l'instar du gène *mecA*, qui dispose d'un élément génétique appelé *Staphylococcal Chromosome Casette (SCCmec)* (**Deurenberg and Stobberingh, 2008**).

Plusieurs études ont aussi démontré que la sévérité des infections à *Staphylococcus aureus* est liée à l'excrétion de certains facteurs de virulence comme la leucocidine de panton valentine (PVL) qui est une exotoxine responsable de la destruction des leucocytes grâce à la formation des pores transmembranaires associés à une réaction inflammatoire et une mort tissulaire (**Chaouch et al., 2015**). Cette toxine dispose de deux composantes appelées *LukS-PV* et *LukF-PV* (**Dujardin et al., 2018**). L'apparition de ces souches résistantes aux antibiotiques pose un sérieux problème dans le traitement des infections à *S. aureus* car plusieurs cas d'échec thérapeutique sont rencontrés et constitue une menace de par le monde (**Guo et al., 2020**).

La prévalence des infections à *S. aureus* résistant à la Meticilline demeure en constante évolution tant dans les pays développés que dans les pays en voie de développement (**Khanal et al., 2021**). Elle est évaluée entre 26 et 73 % dans les pays asiatiques (**Chen et Huang, 2014**). Cependant en Amérique du nord, cette prévalence varie entre 36 et 62,6 % en fonction des pays (**Mejía et al., 2010**). Dans les pays européens, elle oscille entre 1 et 40 %. Des faibles prévalences sont notées dans les pays de l'Europe du Nord alors que des prévalences beaucoup plus élevées sont notées en Europe de l'Ouest (**Dulon et al., 2011**). Les résultats d'une étude menée dans certains pays de l'Afrique orientale et du Maghreb ont révélé une forte prévalence variant entre 16 et 55 % (**Falagas et al., 2013**). Cependant, en Afrique de l'Est à l'instar de l'Ouganda, elle se situe entre 31,5 et 42 % (**Kateete et al., 2011**). Alors qu'un fort taux variant de 31 à 80 % est enregistré au Rwanda (**Seni et al., 2018**), au Cameroun, la prévalence se situe entre 25 et 50 % selon les régions (**Gonsu et al, 2020**). Les patients vivant avec des comorbidités ou pathologie chronique telles que le VIH et le diabète sont beaucoup plus susceptibles de développer des formes graves d'infections à *Staphylococcus aureus* (**CDC, 2013; Lorenc et al., 2014**). Cependant, il demeure que le taux

de mortalité chez les patients atteints par un germe multirésistant reste élevé (**Hidron et al 2010**).

Dans le septentrion du Cameroun, notamment dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord, il y a une insuffisance d'équipement et de moyen pour disposer d'un résultat avec antibiogramme, les cliniciens utilisent un traitement empirique c'est pourquoi ils sont constamment confrontés à des échecs thérapeutique. C'est autant des raisons qui ont poussé à mener l'étude avec pour objectif général d'étudier le profil de résistance et les caractères génotypiques des isolats de *Staphylococcus aureus* dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord

**a)- Questions de recherche**

- ✓ Quel est le profil de résistance, l'origine et le caractère génotypique des souches de *Staphylococcus aureus* retrouvés dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord du Cameroun ?

**b)- Hypothèses de recherche**

- ✓ Il n'y a pas de variabilité dans le profil de résistance ainsi que sur les origines des souches de *S. aureus* en fonction des régions au Cameroun.

**c)- Objectif général**

L'objectif général de notre étude était d'étudier le profil de résistance et les caractères génotypiques des isolats de *Staphylococcus aureus* multirésistants dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord du Cameroun.

**d)- Objectifs spécifiques**

De manière plus spécifique il s'agissait de :

- 1- Déterminer la fréquence de *S. aureus* isolés des prélèvements biologiques et leur profil de résistance dans les sites d'études ;
- 2- Identifier les gènes de résistance couplés aux facteurs de virulence des souches résistantes en ressortant l'origine (hospitalière ou communautaire) des souches multirésistantes ;
- 3- Ressortir la résistance des SARM chez les patients vivant avec une comorbidité : cas du diabète et du VIH ;
- 4- Rechercher l'identité phylogénique de quelques souches multirésistantes.

## CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

### I-1- Généralités sur *Staphylococcus aureus*

#### I-1-1- Historique

*Staphylococcus aureus* a été observé pour la première fois dans les années 1870 (Orenstein, 2011). Mais c'est plus tard en 1884 que le chirurgien Allemand Rosenbach, isole ce dernier et réussit à produire des cultures pures. Par la même occasion, il décrit *Staphylococcus aureus* par la couleur jaune doré des colonies (Dauwalder *et al.*, 2008). Les Staphylocoques dans leur ensemble, sont des cocci Gram positif, initialement appartenant à la famille des micrococcaceae mais qui sont actuellement classés parmi les *Staphylococcaceae* (William B, 2009) *Staphylococcus aureus* est une espèce particulière dans la mesure où elle s'oppose aux autres espèces sur le plan phénotypique et clinique. *Staphylococcus aureus* est capable de produire une enzyme appelée coagulase (car il peut faire coaguler le plasma, d'où l'appellation Staphylocoque à coagulase positive), à la différence des autres espèces qui sont regroupées en Staphylocoques coagulase négative parmi lesquelles on y retrouve : *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. warneri*, entre autre (Harris *et al.*, 2002).

#### I-1-2 Taxonomie

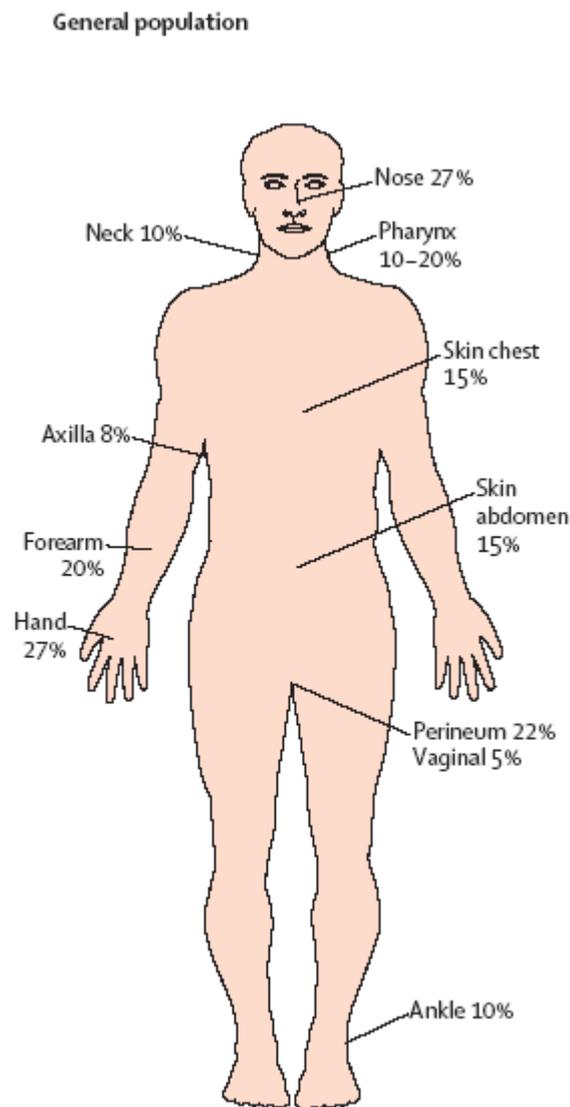
Pribram et son équipe en 1929, ont classé les Staphylocoques dans la famille des *Micrococcaceae*: où on retrouve les *Micrococcus*, *Stomatococcus*, *Planococcus* et *Staphylococcus*. La position actuelle de *S. aureus* est définie dans la famille *Staphylococcaceae* ceci suite aux travaux des chercheurs Garrity et Holt qui ont analysé les séquences de la sous unité 16S de l'acide ribonucléique ribosomique (ARN<sub>r</sub>) (Garrity *et al.*, 2009) ainsi que d'autres analyses génétiques effectuées en 2001. Cette famille comporte les genres *Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus*, *Macrooccus*, ainsi que le plus important le genre *Staphylococcus*. Il se retrouve donc dans le règne bacteria puis dans le phylum firmicutes, classe des Bacilli et dans l'ordre des Bacilliales (Garrity *et al.*, 2009). Il est aussi nécessaire de mentionner que *S. aureus* est un organisme vivant procaryote.

Les principales sont : *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* *S. saprophyticus* (William B, 2009).

#### I-1-3- Habitat et Epidémiologie

Les staphylocoques font partis des bactéries de la flore commensale cutanée de l'Homme et des Animaux, chez l'homme *Staphylococcus aureus* est fréquemment retrouvé au niveau de

la peau et de ses annexes glandulaires, de la gorge et du tube digestif, des fosses nasales, de la région périnéale et des aisselles. La figure ci-dessous illustre les pourcentages de portage de *S. aureus* sur les différentes parties du corps humain (Quinn *et al.*, 2011).



**Figure 1 : Colonisation humaine par *Staphylococcus aureus* (Wertheim *et al.*, 2005).**

*S. aureus* est un germe qui peut vivre sur la peau et des muqueuses (pharynx, vagin, périnée, aisselles) mais ce germe peut aussi survivre sur la partie antérieure du nez. L'habitat préférentiel de *S. aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale (Wylie et Nowicki, 2005). Le taux de portage nasal chez les sujets sains varie entre 20% et 55%. Cependant, les auteurs définissent dans la population générale trois (03) types de portage : les porteurs permanents (20%) constitués principalement par ceux ayant au moins deux (02) prélèvements nasaux positifs à *S. aureus* à une semaine d'intervalle ; Les porteurs intermittents (30%) qui sont colonisés durant une certaine période et les non porteurs (50%) (Heikkila et Saris, 2003).

Les porteurs permanents sont souvent colonisés par une seule souche de *S. aureus*, tandis que les porteurs intermittents peuvent être colonisés par plusieurs souches au cours du temps.

#### **1-1-4- Transmission**

La transmission de ce germe se fait généralement par contact direct (manuportage) d'une personne à une autre. Elle peut aussi être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux). On observe également une diffusion par voie aérienne, chez des patients porteurs de staphylocoques et atteints de pathologies rhino-sinusiennes. Ces deux (02) modes de transmission expliquent la diffusion dans les sphères familiales et hospitalières puisqu'on évalue jusqu'à 80% la proportion de porteurs sains au sein du personnel soignant (**Gordon et Lowy, 2008**). .

### **I-2- Caractères bactériologiques**

#### **I-2-1- Morphologie**

*Staphylococcus aureus*, est une espèce membre de la famille des *Staphylococaceae*, de forme sphérique mesurant environ 1 µm de diamètre. Il est immobile à l'état frais non sporulé, parfois encapsulé. Parmi ces derniers, plus de 90% possèdent une capsule externe de nature polysaccharidique très souvent présente lors de la culture *in vitro* (**Hall, 2013**). La plupart des isolats possèdent une capsule polysaccharidique externe pouvant contenir divers facteurs de virulence et permettant le sérotypage des souches. Le peptidoglycane, formé de chaînes linéaires de N-acétylglucosamide et d'acide N-acétylmuramique, représente 50% du poids de la paroi bactérienne (**Brown et al., 2005b**). La partie restante de la paroi est majoritairement composée d'acides téichoïques (AT) caractérisant les bactéries Gram positives. Ce sont les WTA pour « wall teichoic acids ». Alternativement, ils peuvent être insérés dans la membrane plasmique par une ancre lipidique et sont alors nommés LTA pour « lipo-teichoic acids » (**Xia et al., 2010**). Le Peptidoglycane et acides téichoïques sont d'importants motifs de reconnaissance associés au pathogène (ou PAMPs pour Pathogen Associated Molecular Pattern) impliqués dans l'activation de la réponse immunitaire innée (**Sutton et al., 2021**).

#### **I-2-2- Caractères cultureux**

*S. aureus* pousse facilement sur les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variable. Il est capable de pousser dans des conditions difficiles comme en présence de 7% de NaCl par exemple c'est le cas du Chapman (Mannitol Salt Agar) Ce milieu contient également du mannitol dont la fermentation fait virer l'indicateur coloré le rouge de phénol en jaune, les colonies apparaissent lisses, rondes, bombées et brillantes tel que illustré

sur la figure suivante. Ces souches sont dans la plupart de cas pigmentées en jaune doré (d'où le nom *Staphylococcus aureus* doré), parfois en jaune citron, et parfois sont non pigmentées. La température optimale de croissance est 37°C. Mais elles peuvent aussi pousser dans les températures comprises entre 10 à 45°C. C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative, c'est-à-dire qu'elle est capable de se développer à la surface de la peau, en aérobie et aussi dans les tissus mal oxygénés (Noor et Khetarpal, 2021). Cependant, certains facteurs sont indispensables à la croissance des *Staphylococcus*. Ce sont : la Vitamine B1 et l'acide nicotinique. Ces souches peuvent aussi pousser en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et 14 acides aminés dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique.



Avant la culture : Le milieu Chapman est rouge



Après la culture : *Staphylococcus aureus* mannitol positif font virer le milieu en jaune.

**Figure 2 :** Colonie de *Staphylococcus aureus* mannitol positive sur milieu Chapman.

### I-2-3- Caractères Biochimiques

Le *Staphylococcus aureus* possède certains caractères biochimiques dont les principaux sont :

- Catalase : positive ;
- Coagulase : positive ;
- DNase + ;
- Capable de fermenter le mannitol

#### I-2-3-1- Catalase

La catalase est une oxydoréductase présente chez les procaryotes qui joue un rôle de résistance à la bactéricidie. La différenciation entre les *Staphylococcus* spp des *Streptococcus* spp est faite grâce à ce test. Les *Staphylococcus* sont catalase positive alors que les *Streptococcus* sont catalase négative. Le principe de ce test est basé sur le fait que certaines

bactéries produisent une catalase pour dégrader le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) produit au cours de leur métabolisme en oxygène et en eau (**Schulthess et al., 2013**).

### **I-2-3-2- La coagulase**

La coagulase est une protéine de 60 kDa qui se fixe avec la prothrombine sur un site de liaison situé en N-terminal. Elle forme avec la prothrombine un complexe nommé staphylothrombine. Cette réaction va induire une polymérisation du fibrinogène en fibrine et ainsi la formation d'un thrombus (**Huang, 2006**). La staphylocoagulase libre est le produit du gène *coa*. Elle fait partie des SERAM (secretable expanded repertoire adhesive molecules) qui sont des adhésines. Le SERAM comprend des protéines liant le fibrinogène et la fibronectine, telles que la protéine d'adhérence extracellulaire (Eap) et la protéine de liaison à la matrice extracellulaire (Emp). C'est une exo-enzyme coagulant le plasma de l'homme ou de lapin. C'est une protéine thermostable, toujours produite par les souches de *S. aureus* (**Huang, 2006**). La thrombine qui est activée par cette protéine agit sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine. C'est un facteur indispensable dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et en les protégeant de la phagocytose ; cette dernière est aussi à l'origine des thrombophlébites suppurées (**Agusto et Kim, 2019**). La coagulase peut consister à permettre aux *S. aureus* de résister aux anticorps et à la phagocytose par les leucocytes lorsqu'ils sont localisés dans un caillot.

### **I-2-3-3- La Dnase**

La DNase est une désoxyribonucléase thermostable qui est le produit du gène *nuc*. On l'appelle aussi la thermonucléase. Cette enzyme coupe les acides désoxyribonucléiques (ADN) en nucléotides ou polynucléotides en hydrolysant les liaisons phosphodiester. Cette enzyme est caractéristique des souches *S. aureus* (ainsi que deux autres staphylocoques à coagulase positive). Sa particularité c'est qu'elle n'est pas détruite à des températures élevées (15 minutes à 100°). La mise en évidence de la DNase consiste à cultiver la souche en présence d'ADN et à détecter l'hydrolyse éventuelle de l'ADN grâce au Chlorure d'hydrogène (HCl), qui a la propriété de précipiter l'ADN en formant un halo clair autour de la colonie (**Kateete et al., 2010**).

## **I-3- Diagnostic biologique *Staphylococcus aureus***

Le diagnostic biologique des infections à *S. aureus* consiste à identifier la bactérie ou ses toxines. Après le diagnostic clinique un prélèvement approprié est effectué. De manière générale l'identification de l'espèce bactérienne *S. aureus* s'accompagne de l'évaluation de

leur profil de résistance à la méticilline actuellement remplacé par l'oxacilline mais l'appellation reste et demeure. Cette dernière est appelée *S. aureus* résistante à la méticilline en abrégé SARM. Les souches de SARM sont celles qui sont de plus en plus émergentes et provoquent de plus en plus de problèmes thérapeutiques. De ce fait, les souches SARM sont celles les plus étudiées et donc la majorité de la littérature sur les *S. aureus* porte sur les souches résistantes à la méticilline.

### **I-3-1- Diagnostic Direct**

#### **I-3-1-1- Prélèvements et culture**

Les prélèvements peuvent être des échantillons nasales, du pus, de prélèvements purulents, de l'urine, des prélèvements de la gorge, prélèvement urétral, vaginal, du périnée, des abcès, des plaies, des expectorations, des cathéters veineux, prélèvements de la gorge, des sondes urinaires, du sang (hémocultures) entre autres (**Ghalehnoo, 2018**). Ces spécimens peuvent être inoculés dans une gélose au sang ou un bouillon au thioglycollate, trypticase soja, Chapman (milieu sélectif) encore appelé Mannitol salt Agar pour culture. Les staphylocoques poussent facilement sur des milieux classiques retrouvés dans les laboratoires, surtout s'ils sont supplémentés de sang de mouton par exemple (**Ghalehnoo, 2018**). Après une incubation de 12 à 24h à 37°C, les staphylocoques se présentent sous forme de colonies arrondies de couleur blanche ou couleur crème. Les colonies de *S. aureus* peuvent présenter un pigment jaune ou orangé dans une gélose au sang. Cependant, les caractéristiques précédentes ne sont pas suffisantes pour identifier l'espèce de staphylocoque. C'est pourquoi les tests microscopique, tests biochimiques, voire moléculaires est indispensable (**Ghalehnoo, 2018**).

#### **I-3-1-2- Test au microscope optique**

Pour identifier l'espèce *S. aureus* plusieurs tests peuvent être utilisés (**Brown et al., 2005**). L'étape préliminaire à l'identification est le test microscopique qui permet la mise en évidence de bactéries gram positifs arrondies groupées en amas. Pour distinguer l'espèce *S. aureus* des autres staphylocoques tels que le Staphylococque à coagulase négative, plusieurs tests devront être réalisés (**Zurita et al., 2010**). C'est le cas du test de coagulase, le test d'agglutination sur latex, le test de catalase, le mannitol, la sensibilité à la polymixine B et à la novobiocine et le test de DNase. Il y a aussi les tests automatiques et les tests moléculaires (**Zurita et al., 2010**). La réalisation de ces tests dépend de plusieurs paramètres tels que l'urgence (rapidité des résultats), le coût, le niveau d'équipement en place, la sensibilité et la spécificité des tests (**Zurita et al., 2010**).

### **I-3-1-3- Le test à la catalase**

Ce test permet de différencier après les analyses microscopiques les staphylocoques des streptocoques. La catalase va réagir en présence du peroxyde d'hydrogène en produisant de l'oxygène. Sur une lame en verre sur laquelle on dépose une goutte d'eau oxygénée, quelques colonies bactériennes y sont ajoutées. Une fois en contact du peroxyde d'hydrogène à 3% l'isolat bactérienne produisant la catalase va réagir par une effervescence (bulles) instantanément, traduisant la production de l'oxygène suite à la réaction enzymatique (**Zurita et al., 2010**). La positivité de ce test oriente l'identification vers le staphylocoque.

### **I-3-1-4- Test de coagulase**

Ce test peut se faire en tube. Il met en évidence la production de la coagulase par *S. aureus*. La coagulase est une enzyme qui provoque la coagulation du plasma en convertissant le fibrinogène en fibrine qui est insoluble (**Huang, 2006**). Le test de coagulase permet de distinguer l'espèce *S. aureus* des autres SCN (**Zurita et al., 2010**). Ce test permet une indication de la pathogénicité de la bactérie. Il existe deux types de coagulase produit par l'espèce *S. aureus*, une à l'état libre (enzyme extracellulaire) et une à l'état lié à la paroi cellulaire appelée facteur d'agglutination (Rabbit coagulase plasma) (**Zurita et al., 2010**).

### **I-3-1-5- Le test de la DNase**

Le test de DNase (désoxyribonucléase) est utilisé pour distinguer l'espèce *S. aureus* des autres espèces de staphylocoques. La DNase est une enzyme qui a la capacité de dégrader de l'ADN et à l'utiliser comme source de carbone et d'énergie pour sa croissance. Le milieu à l'ADN contient de l'ADN (gélose à l'ADN) et du vert de méthyle comme indicateur. La pousse de la bactérie produisant de la DNase dans le milieu de culture a pour conséquence la dégradation de l'ADN présent dans le milieu. Le milieu étant vert, la dégradation de l'ADN par la bactérie (Staphylocoque) se traduit par l'éclaircissement du milieu autour des cultures (disparition de la coloration verte du milieu autour des colonies) (**Kateete et al., 2010**).

Pour les milieux ne contenant pas d'indicateur coloré, L'isolat est incubé à 37°C pendant 24h dans une gélose à DNase ensuite le milieu est inondé par le chlorure d'hydrogène. Laisser reposer pendant quelques minute et éliminé l'excès d' HCl. Examiner la boîte au bout de 5 minutes dans un fond noir (fond sombre). L'apparition d'une zone claire (Halo clair) autour des cultures traduit la dégradation de l'ADN incorporé dans le milieu par la DNase (**Kateete et al., 2010**).

### **I-3-1-6- Le mannitol**

Ce test s'effectue en utilisant la gélose chapman qui est un milieu sélectif de culture des staphylocoques. Le milieu chapman (rouge) permet de mettre en évidence des isolats capables de fermenter ou non le mannitol. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 h. La fermentation du mannitol fait changer la coloration du milieu en jaune (acidification du milieu) en présence du rouge phénol (Zurita *et al.*, 2010). L'efficacité des tests de coagulase peut être renforcée par les tests à la DNase et le test du mannitol. Il serait plus intéressant de commencer l'identification du *S. aureus* par le test mannitol puisque la négativité du test à la coagulase (l'absence du facteur d'agglutination) n'exclut pas la présence de l'espèce bactérienne. Pour une identification fiable de *S. aureus* il est recommandé de faire simultanément le test à la coagulase, la détection de la DNase et le test du mannitol (Kateete *et al.*, 2010).

### **I-3-1-7-Test d'agglutination de latex**

Le test sur lame se fait en préparant une suspension d'isolat dans du sérum physiologique qui est déposée sur une lame en verre. La suspension est mise en contact d'une goutte de plasma. L'apparition d'une agglutination au bout d'une minute après mélange de la suspension bactérienne avec le plasma (le réactif) signifie un résultat positif (Rabbit coagulase plasma). le réactif contient des particules de latex au polystyrène qui ont été recouvertes de fibrinogène et d'IgG humain (staphaurex FR). Le test sur lame permet de détecter la présence du facteur d'agglutination, la protéine A (staphaurex FR), les polysaccharides de la paroi (Zurita *et al.*, 2010). Ce test est sensible (sensibilité >98%), rapide et peu coûteux. Il permet de détecter les souches de *S. aureus* sensibles et résistantes à la méticilline (SASM et SARM). Des espèces telles que *S. schleiferi* et *S. lugdunensis* peuvent donner des résultats positifs (Zurita *et al.*, 2010).

### **I-3-1-8- Les tests immunologiques**

Ces tests peuvent être utilisés pour la détection directe et la quantification des antigènes structuraux bactériennes spécifiques de *S. aureus* ou de sa toxine. Parmi ces tests il y'a les tests western-blot, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays), les tests radio-immunologiques ou le test passif d'agglutination sur latex. Certains de ces tests sont effectués grâce à des automates du genre VIDAS, TRANSIA, TECRA, RIDASCREEN (détection de toxines). Les tests immunologiques utilisent les anticorps d'origine mammifères tels que le lapin, la souris, le mouton et la chèvre (Reddy *et al.*, 2017).

### **I-3-2- Diagnostic moléculaire**

Les tests moléculaires peuvent être utilisés pour l'identification simultanée des marqueurs *S. aureus* spécifiques des souches résistantes à la méticilline (SARM) (**Brown et al., 2005b**). Les tests moléculaires d'identification de *S. aureus* ont pour base l'amplification de séquences génomiques ou d'un gène avec la technique de PCR (Polymereae Chain Reaction). D'autres techniques sont : le séquençage de l'ADN et les techniques d'hybridation in situ (**Zurita et al., 2010**). Les gènes cibles à amplifier sont ceux codant la nucléase (*nuc*), la coagulase (*coa*), la protéine A (*spa*), *femA* et *femB*, *Sa442*, ARNr 16S et les gènes des protéines de liaison au fibrinogène associés à la surface (**Reddy et al., 2017**).

Les tests moléculaires sont rapides, pas accessibles par les laboratoires des périphériques. Ils sont robustes et sont donc recommandés pour confirmer l'identification de *S. aureus* en cas d'identification ambiguë par d'autres méthodes ou en cas de suspicion de la présence des souches résistantes à la méticilline (**Brown et al., 2005b**). Les tests moléculaires coûtent chers et ne sont donc pas utilisés en routine dans les laboratoires des Hôpitaux (**Reddy et al., 2017**).

### **I-4- La résistance aux antibiotiques**

#### **I-4-1- Origine et définition des antibiotiques**

Dans l'histoire de la découverte des antibiotiques, il ressort que le staphylocoque a joué un rôle important. En effet, le Bactériologiste Alexander Fleming en 1928 fait une observation fortuite sur des colonies de *Penicillium* car il a remarqué que le champignon *Penicillium* (qui avait contaminé les boîtes de cultures accidentellement) avait inhibé la croissance d'une culture bactérienne qui se trouve être une souche de staphylocoque. De cette observation découle la purification et la production du premier antibiotique utilisé en thérapeutique : la pénicilline G, ce qui a conduit à l'amélioration de la santé mondiale (**David, 2013**). La définition de la notion d'antibiotique a été proposée pour la première fois en 1942 par Waksman, il a défini les antibiotiques comme étant des substances chimiques produites par des micro-organismes et capables, à faible concentration, d'inhiber la croissance d'autres micro-organismes ou même de les détruire (**Kresge et al., 2004**).

Ainsi, toute famille d'antibiotique possède un mécanisme d'action qui lui est propre. Cependant, sur la base de leurs actions on peut les regrouper en trois grandes catégories spécifiques qui sont :

- les Antibiotiques qui agissent sur la paroi bactérienne, parmi lesquels on y retrouve : les betalactamines, les glycopeptides et lipopeptides ;
- Les antibiotiques ayant une action sur les processus de synthèse d'acides nucléiques et de protéines constitués de : Aminoglycosamides, Macrolides, Lincosamides, Synergistine, Fluoroquinolones, Phénicolés, Rifampicines entre autres ;
- Enfin ceux ayant une action sur les voies métaboliques constitués des sulfamides et des synergistines (**David, 2013**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) une souche résistante aux antibiotiques est définie comme étant « une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce » ou « une souche qui supporte une concentration notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre *in vivo* » (**OMS, 2016a**). *S. aureus* est une espèce bactérienne qui présente une capacité d'adaptation vis-à-vis de la contrainte antibiotique. Leur résistance est liée à leur grande plasticité génomique qui peut être acquise ou apportée par un plasmide ou d'autres éléments mobiles appelés transposons. De plus leurs mécanismes de résistance sont différents selon la classe des antibiotiques. Cependant, la notion de résistance naturelle n'est pas à exclure. Pour le cas *Staphylococcus aureus* cette bactérie est naturellement résistante aux monobactames (aztréonam), aux quinolones de 1ère génération (acide nalidixique) et aux peptides cycliques (polymixine B). Ces antibiotiques n'ont aucune action sur le germe (**David, 2013**).

#### **I-4-2- Mécanismes de résistance aux Antibiotiques**

Deux grandes méthodes de résistance bactérienne sont enregistrées : la résistance naturelle et la résistance acquise. Pour les résistances acquises, quatre grands groupes se dégagent qui sont :

- Inactivation enzymatique de l'antibiotique ;
- Altération de la cible bactérienne ;
- Diminution de la concentration de l'antibiotique dans la bactérie ;
- Multiplication ou protection de la cible.

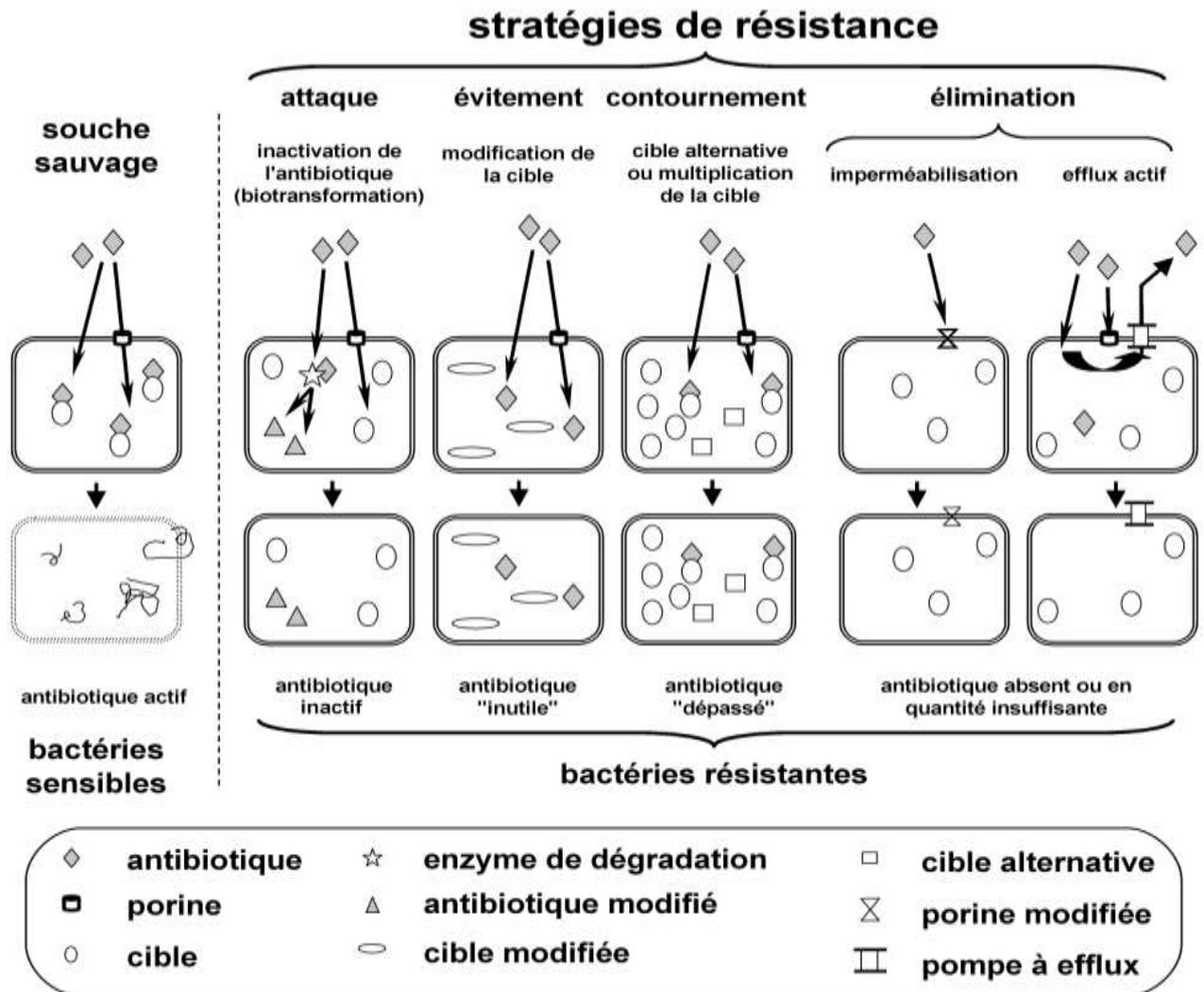


Figure 3 : Représentation des différents mécanismes de résistances aux antibiotiques (Van Bambeke, 2008)

### I-4-3- Résistance aux antibiotiques antistaphylococciques

#### I-4-3-1- Mécanisme de résistance aux Bétalactamines

Deux mécanismes expliquent la résistance des staphylocoques aux Bétalactamines.

La production de Bétalactamase ;

La modification de la cible. Pour ce mécanisme deux possibilités peuvent être évoqués :  
L'acquisition d'une PLP exogène ou la modification des PLP endogène.

#### Mécanisme de résistance par production de Bétalactamase

La pénicillinase ou bétalactamase sont les exo enzymes secrétés par les staphylocoques (Amit and Jyoti, 2018). Elle est une enzyme inductible codée par le gène *blaZ* porté par un plasmide. Cette enzyme hydrolyse le noyau Bétalactame de la pénicilline G et ses analogues de structure. L'expression du *blaZ* est régulée par deux gènes, *blaR1-blaI* situés en amont et transcrits en direction opposée à *blaZ* (Andrew N et al 2023). Cette Bétalactamase est un polypeptide de 257 acides aminés (MM : 28kDa). Au moment de sa synthèse, elle possède, en plus, une séquence leader peptide de 24 acides aminés qui est plus ou moins clivée lors de son excrétion ce qui fait que la pénicillinase peut rester liée à la paroi bactérienne.

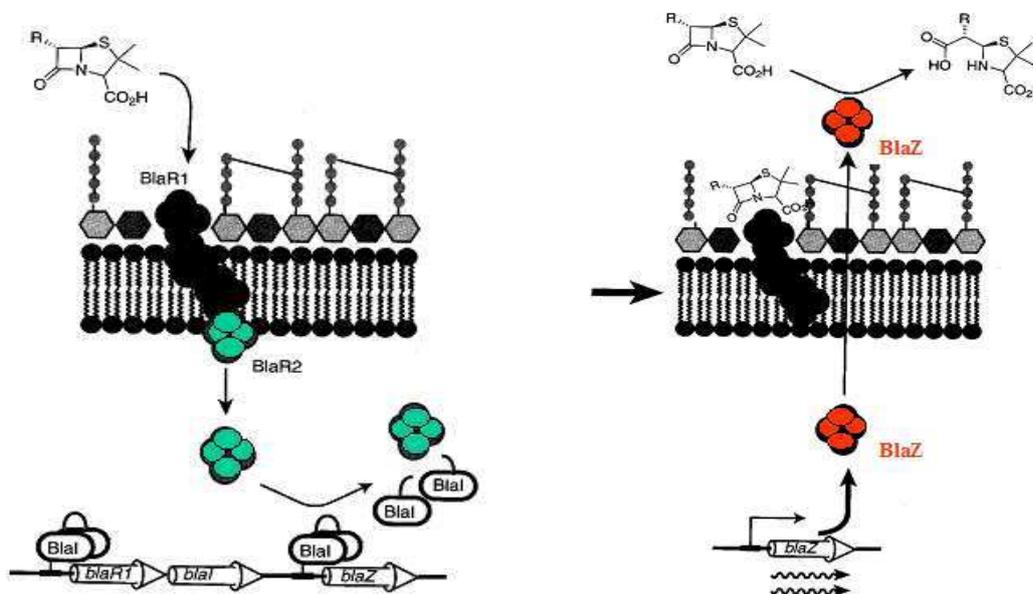


Figure 4: Schéma résistance par production de betalactamase

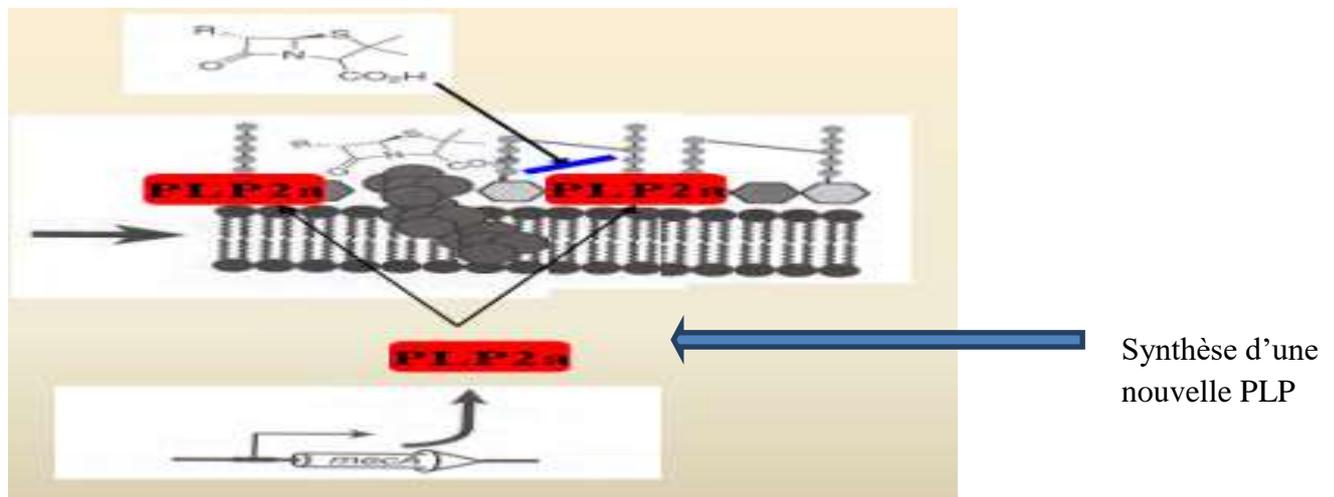
Résistance lié à la modification de la cible

Deux mécanismes de résistance par modification de la cible existent chez les staphylocoques : la résistance par acquisition d'une PLP exogène qui est la PLP2a et celle due à la modification de la synthèse des PrefLP endogènes.

#### Résistance par acquisition d'une PLP exogène : la PLP2a

Elle est apparue peu de temps après la mise sur le marché de la méticilline cette résistance due à la production chez le *S. aureus* d'une PLP dite étrangère : la PLP2a car ne possède aucune similarité avec la PLP du *S. aureus* est très proche d'une PLP du *S. sciuri* (Andrew N *et al* 2023).

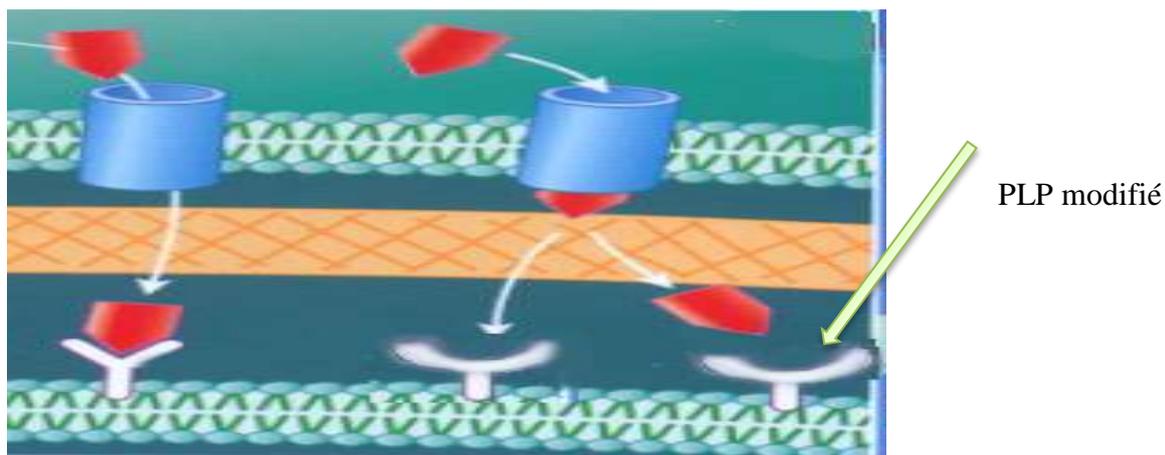
La PLP2a possède une activité transpeptidasique résistante aux Bêta-lactamines. En présence de bêta-lactamines, le peptidoglycane du staphylocoque continue à être synthétisé grâce à l'activité transglycolasique de la PLP2 (Da costa *et al* 2018). La résistance sera donc croisée entre les différentes Bêta-lactamines. Mais elle est un tout petit peu particulier car la PLP2a ne peut pas se substituer aux PLP normales. Elle vient simplement se rajouter et ne s'exprime qu'en présence de Bêta-lactamines. La PLP2a est codée par un gène : le gène *mecA* qui peut être régulé par les gènes *mec1* et *mecR1*. Ces deux gènes sont similaires aux gènes *bla1* et *blaR1* mentionnés ci-dessus régulent également la transcription du gène *mecA* (Dey, T.K *et al*, 2023).



**Figure 5 : Résistance du staphylocoque par modification de la cible**

Modification de la synthèse des PLP endogènes

Résistance par modification des PLP : souches MODSA (modified *Staphylococcus aureus*). Il s'agit surtout de modifications de la PLP4. Ici une discordance peut être observée entre les différents disques d'imipénème (PLP1), céfotaxime (PLP2), oxacilline (PLP3) et céfoxitine (PLP4). Dans ce cas, les recherches de PLP2a par agglutination avec des particules de latex ou par immunochromatographie sur membrane et la recherche du gène *mecA* par PCR sont négatives.



**Figure 6: Résistance par modification du PLP**

### Facteurs influençant la méticillino-résistance

Plusieurs autres gènes sont impliqués dans l'expression de la résistance à la méticilline. Il s'agit des gènes auxiliaires *fem* pour (factor essential for methicillin resistance) nécessaires dans l'expression de la résistance de haut niveau chez les souches présentant une résistance hétérogène à la méticilline (Judith H *et al*, 2007) Leur existence a été initialement suspectée devant l'absence de relation d'une souche à l'autre entre le niveau de résistance et le niveau d'expression de PLP2a. Ces autres gènes de résistance sont trouvés chez toutes les souches de *S. aureus*, indépendamment de la présence du gène *mecA*. Ils ne sont pas responsables à eux seuls de la résistance à la méticilline, mais peuvent augmenter le niveau de résistance chez une souche SARM.

### I-4-3-2- Les Fluoroquinolones

Les fluoroquinolones constituent la 2<sup>ème</sup> génération de quinolones et ont la particularité de posséder un fluor dans leur structure moléculaire. Cependant la 1ère quinolone, découverte en

1962, est l'acide nalidixique et elle dérive de la chloroquine. Ces premières quinolones présentait peu d'intérêt parce qu'elles avaient quelques défauts d'un point de vue pharmacocinétique et antibactérien (présentant un spectre assez étroit). L'apparition des quinolones de deuxième génération, en 1985, a totalement comblé les lacunes des premières quinolones. Il est important de noter que toutes les molécules de cette classe thérapeutique sont synthétiques (Bond, 2015).

#### **I-4-3-2-1- Mécanisme d'action des fluoroquinolones**

Ces antibiotiques ont comme cible la synthèse des acides nucléiques. Ils agissent sur une enzyme qui permet de déplier l'ADN qui est « surenroulé », ces enzymes sont appelées topoisomérases ou ADN gyrases. Les fluoroquinolones vont interagir avec les complexes ADN/topoisomérases et inhibent cette activité indispensable à la réplication et à la survie de la bactérie. Ces molécules ont une activité bactéricide concentration-dépendante vis-à-vis de *S. aureus* (David, 2013).

#### **I-4-3-2-2- Mécanisme de résistance des Fluoroquinolones**

Deux mécanismes de résistance de type chromosomique sont relevés chez les Fluoroquinolones. Le premier étant lié à une surexpression des protéines, codées par le gène *NorA*, permettant l'éjection des fluoroquinolones (efflux) hors du cytoplasme de la bactérie. En d'autres termes, il y a une mutation des pompes *Multi Drug Resistance* (MDR) qui se retrouvent en plus grande quantité ou qui voient leur affinité augmentée avec l'antibiotique. Le deuxième est une mutation du gène *parC* codant une partie de la topoisomérase IV (sous-unité C), l'antibiotique ne pourra plus se fixer sur le complexe ADN/topoisomérase et il n'y aura plus d'effet (Bondeelle *et al.*, 2019).

#### **I-4-3-3- Les Aminocyclitolides**

En 1943, l'équipe de recherche fondée par le microbiologiste Américain de son vivant Selman Abraham Waksman en occurrence Albert Schatz a découvert le premier aminocyclitolide qu'il a appelé la streptomycine et a été utilisé contre la tuberculose. Cette molécule est isolée de souches de *Streptomyces griseus*. Ainsi les aminocyclitolides sont principalement produits par *Streptomyces* (molécule se terminant par -mycine) ou *Micromonospora* (molécule se terminant par -micine) qui sont tous les deux des actinomycètes (bactéries). Il faut préciser que quelques aminocyclitolides, découverts dans les années 1970, sont héli-synthétiques à l'instar

de l'amikacine et netilmicine. Ici nous allons décrire la Gentamicine car elle est la plus fréquemment utilisée (**Kresge et al., 2004**).

#### **I-4-3-3-1- Mécanismes d'action des aminosides**

Ces molécules agissent sur la traduction des acides ribonucléiques messagers (ARNm) et la synthèse des protéines. Après avoir pénétré de façon passive dans la bactérie, elles sont transportées vers les ribosomes et interfèrent ainsi avec la sous-unité 30S des ribosomes qui jouent un rôle dans la synthèse peptidique en lisant l'ARNm. On obtient ainsi des protéines dites « non-sens » qui entraînent la mort bactérienne. Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides rapides et puissants et présentent un effet post-antibiotique (c'est-à-dire que la durée d'activité est beaucoup plus importante que le temps d'exposition) (**Larburu, 2015**).

#### **I-4-3-3-2- Mécanismes de résistances aux aminosides**

La résistance est apportée par des transposons ou des plasmides. Pour contrecarrer l'action des aminosides, *S. aureus* possède des enzymes comme l'aminoglycoside phosphotransférase (APH(3') III par exemple). Cette enzyme va greffer sur l'antibiotique un radical phosphoryl qui annihile l'antibiotique. Il existe d'autres enzymes comme l'aminoglycoside adényltransférase AAD (4')(4'') ou l'enzyme bifonctionnelle AAC(6')-APH(2') qui vont rajouter des radicaux aux aminosides (**David, 2013**).

#### **I-4-3-4- Les Macrolides, Lincosamides et Synergystines (MLS)**

Cette famille d'antibiotiques regroupe les macrolides et les macrolides apparentés (lincosamides et synergystines) sous le terme MLS. D'un point de vue moléculaire, les MLS sont différents et hétéroclites structurellement parlant, mais ils sont regroupés dans la même famille, car leurs mécanismes d'action ainsi que leurs spectres antibactériens sont similaires.

#### **I-4-3-4-1- Mécanismes d'action des MLS**

Ces antibiotiques ont la particularité de pouvoir se fixer sur la fraction 50S des ribosomes et inhibent ainsi la synthèse protéique. Cette interaction induit un blocage du complexe aminoacyl-ARNt et les acides aminés apportés par l'ARN de transfert ne s'incorporent plus aux chaînes polypeptidiques. La synthèse protéique ne pouvant plus se réaliser, la survie de la bactérie est compromise. Les MLS sont des antibiotiques bactériostatiques, sauf les synergystines qui sont bactéricides vis-à-vis des *S. aureus* (**David, 2013**).

#### **I-4-3-4-2- Mécanismes de résistances aux MLS**

Le mécanisme de résistance le plus connu est une modification de la cible ribosomale. La partie ribosomale est modifiée par une attaque enzymatique, l'adénine en position 2058 de l'ARNr 23S se retrouve alors méthylée. Les enzymes en cause sont des méthylases codées par des gènes de la famille *erm* (erythromycin resistance methylase). La méthylation empêche la

fixation du MLS et son action. Cette résistance peut être inductible (induite en présence de macrolides) ou constitutive (exprimée en permanence). Elle ne touche pas les streptogramines A, c'est pourquoi la pristinamycine reste active, même en cas de résistance constitutive (David, 2013).

#### **I-4-3-5- Les tétracyclines**

Ces molécules font partie d'un groupe homogène structurellement. Elles ont comme point commun d'avoir quatre cycles (tétracyclines) dans leurs structures moléculaires formant un noyau naphtacène. En 1948, M. Duggar isole d'un *Streptomyces aureofaciens* la 1ère tétracycline : la chlorotétracycline. En 1957, les premières tétracyclines hémi-synthétiques sont apparues et leur tolérance digestive est augmentée (Veyssière, 2019).

##### **I-4-3-5-1- Mécanismes d'action des tétracyclines**

Ces antibiotiques agissent au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en inhibant l'élongation peptidique. Ils ont une action bactériostatique envers le *S. aureus*.

##### **I-4-3-5-2- Mécanismes de résistances des tétracyclines**

Il existe deux types de résistance aux tétracyclines. La première est liée à un plasmide (le plus connu est pT181), elle entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines Tet situées dans la membrane interne. La seconde résistance entraîne une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines. La protéine Tet(K) est une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines et les protéines Tet(O) ou Tet(M) vont elles, protéger les sites actifs ribosomiaux (Li *et al.*, 2013).

#### **I-4-3-6- Les autres types d'antibiotiques**

Parmi ceux-ci nous avons parlé ici entre autre des Fusidamines, on y retrouve l'Acide Fusidique, des Rifampicines et du Cotrimoxazole.

##### **L'Acide Fusidique**

La structure de l'acide fusidique est assimilée à un stéroïde et est donc plutôt lipophile. L'acide fusidique est d'ailleurs le seul représentant des antibiotiques stéroïdiques ou fusidanines. La molécule est d'origine naturelle car elle est produite par un micromycète, le *Fusidium coccineum*.

##### **La Rifampicine**

Les antibiotiques de la famille de rifamycine font partie de la famille des ansamycines et ils ont été isolés de *Streptomyces mediterranei* (actuellement renommé *Amycolatopsis rifamycinica*) en 1957. Il faut préciser que la molécule rifamycine est divisée en sept rifamycines différentes A, B, C, D, E, S et SV. Les deux autres molécules (rifampicine et rifabutine) découlent des rifamycines.

### **Mécanismes d'action de la Rifampicine**

Ces molécules se lient à la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase-ADN dépendante et bloquent l'initiation de la transcription de l'ADN bactérien en ARN messager. Les antibiotiques sont des agents bactéricides sur les souches sensibles de *S. aureus*.

### **Mécanismes de résistance aux Rifampicines**

Des mutations sur le gène *rpoB* qui code la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase-ADN dépendante entraînent le mécanisme de résistance. Ces mutations altèrent la structure de l'ARN polymérase sur laquelle l'antibiotique ne pourra plus agir (David, 2013).

### **Sulfamides et triméthoprime ou pyriméthamine (Cotrimoxazole).**

Les premiers sulfamides ont été décrits par D. Domagk en 1935. Ces travaux sur les sulfamides ont abouti à la découverte des antibactériens ainsi que des antidiabétiques. Aujourd'hui, ils ne sont plus utilisés seuls (sauf pour le sulfaméthizole) mais en association avec le triméthoprime ou la pyriméthamine connue depuis 1942 mais utilisée depuis moins de cinquante ans.

### **Mécanisme d'action des sulfamides en association ou non avec le triméthoprime ou la pyriméthamine**

Ces différentes molécules sont impliquées directement dans la synthèse des folates (processus important dans le métabolisme bactérien). Normalement, l'acide para-amino benzoïque (PAB) doit subir l'intervention de la dihydroptéroate synthétase pour obtenir la synthèse des dihydrofolates, il se trouve que les sulfamides vont entrer en compétition avec PAB car ils ont une structure moléculaire analogue. Cette compétition va enrayer l'action de la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et ainsi la synthèse serait bloquée (David, 2013). Le triméthoprime exécute son intervention en aval des sulfamides, il neutralise la dihydrofolate réductase (DHFR) et stoppe la synthèse des folates. Les sulfamides sont des antibiotiques bactériostatiques mais leur association avec le triméthoprime rend leur activité bactéricide, les deux molécules agissant en synergie (David, 2013).

### **Mécanisme de résistance aux sulfaméthoxazole/triméthoprime**

La résistance à cette classe antibiotique peut trouver sa cause dans divers mécanismes : une imperméabilité aux antibiotiques d'origine chromosomique ou plasmidique, une augmentation significative de DHPS ou de DHFR par hyperproduction, enfin la présence de DHPS ou de DHFR distincts (acquis par un gène plasmidique ou par suite de mutation génique) ne subissant pas l'action des antibiotiques (David, 2013).

### **I-4-3-7- Les Glycopeptides**

La vancomycine est une molécule d'origine naturelle car elle est produite par un champignon, *Amycolatopsis orientalis*. En 1956, la vancomycine était déjà utilisée pour lutter contre les staphylocoques résistants à la pénicilline.

#### **Mécanisme d'action de la vancomycine**

La vancomycine agit sur le peptidoglycane des bactéries. En effet, elle se lie avec le dimère D-alanyl-D-alanine qui est en position terminale de la chaîne pentapeptidique du peptidoglycane. Cette fixation masque les sites d'action des transpeptidases et empêche la réaction de transglycolisation lors de la synthèse du peptidoglycane. La bactérie ne peut donc plus renouveler son peptidoglycane, ni se diviser et elle finit par mourir (**Bourgeois-Nicolaos and Guillet-Caruba, 2012**).

#### **Mécanisme de résistance à la vancomycine**

La résistance des *S. aureus* est liée à une diminution de la pénétration des glycopeptides dans la bactérie. Le D-alanyl-D-alanine se retrouve en abondance dans la paroi du staphylocoque et est capable de piéger et d'immobiliser les molécules d'antibiotiques lors de la phase de pénétration. Cette résistance est due à une anomalie de la biosynthèse du peptidoglycane et est connue chez les souches glycopeptide-intermediate *S. aureus* (GISA) ou vancomycine-intermediate *S. aureus* (VISA) (**David, 2013**).

### **I-4-4- Culture des *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)**

Les bactéries sont cultivées sur du milieu contenant la méticilline, l'oxacilline et la cefoxitine pour la sélection des souches de *S. aureus* des autres espèces bactériennes. Dans le milieu est incorporé les inhibiteurs de croissance tels que le NaCl, ciprofloxacine, polymyxin B, aztreonam, tellurite et desferrioxamine. Le milieu nutritif (Trypticase Soja, Mueller Hinton) peut aussi comporter des indicateurs tels qu'un indicateur coloré, le rouge phénol qui va indiquer la dégradation du mannitol par les souches SARM potentielles. Plusieurs méthodes moléculaires sont utilisées pour détecter les SARM en dehors de la culture. C'est le cas de la PCR multiplex avec les amorces spécifiques des gènes *nuc*, *fem* et *mecA* (**Brown et al., 2005b**). Des automates tels que le Vitek et le système Phoenix peuvent aussi être utilisés pour détecter les SARM. La méthode la plus utilisée en routine pour identifier la souche SARM est la détection de la concentration minimale inhibitrice (MIC) des antibiotiques. Les souches résistantes aux bêta-lactamines étaient traitées avec les glycopeptides (vancomycine ou téicoplanine). Par la suite ces souches ont développé de la résistance à la vancomycine d'où l'intérêt de l'identification de cette résistance pour un bon diagnostic (**Zurita et al., 2010**). La

méthode de dilution en gélose (Kirby-Bauer) sur milieu Mueller Hinton à 2% de NaCl utilisant un inoculum de  $10^4$  cfu/mL permet de distinguer les souches de *S. aureus* sensibles des résistantes. L'incubation se fait entre 33 et 37°C pendant 24h. Une CMI pour l'oxacillin  $\leq 2$  mg/L indique la sensibilité de la souche et une CMI  $> 2$  mg/L indique la résistance de la souche. Quant à la méticilline une CMI de  $\leq 4$  mg/L traduit la présence d'une souche de *S. aureus* sensible et une CMI  $> 4$  mg/L traduit la présence d'une résistance (**Zurita et al., 2010**).

Pour la technique de diffusion sur gélose, un inoculum de 0.5 McFarland est ensemencé sur du MH à 4% de NaCl, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. Il existe un autre test rapide permettant la détection de PBP2a (penicillin-binding protein 2a), c'est un test d'agglutination de latex sur lame. Les particules de latex sont recouvertes d'anticorps anti- PBP2a (**Zurita et al., 2010**).

#### **I-4-4-1- Le gène *mec A***

L'identification des souches de Staphylocoques résistants à la méticilline consiste à la détection du gène *mec A* (gène de la résistance à la méticilline). Ce gène peut être présent à la fois chez les SCoN et chez les *S. aureus*. Le gène *mec A* est porté par un élément génétique mobile, la cassette du génome *mec* staphylococcique (SSC*mec*, staphylococcal cassette chromosome *mec*). Son homologue le gène *mec C*, est quelque fois identifié chez des souches SARM (**Buonomini et al., 2020**). Cette détection peut se faire par les techniques de biologie moléculaire telles que la PCR simple ou la PCR multiplexe. Cette identification commence par une extraction de l'ADN bactérienne issue des colonies de staphylocoques ou des bouillons de culture. La technique la plus fiable est celle permettant la mise en évidence du gène *mec A*, *nuc A* (gène de la thermonucléase) et de l'ARNr 16S utilisé comme contrôle interne d'amplification de l'ADN des staphylocoques (**Zhang et al., 2005**). Ces séquences du génome sont amplifiées et les différents fragments sont séparés sur un gel d'agarose. L'identification des SARM à partir d'une colonie de *S. aureus* par la PCR est plus rapide que la technique classique (méthode traditionnelle). La technique classique peut durer 24 à 48 h alors que la PCR dure 6 h (**Chung et al., 2016**).

#### **I-4-4-2- La cassette de résistance à la méticilline**

Elle a été introduite pour résoudre le problème de résistance des *S. aureus* aux  $\beta$ -lactamines. Plus tard des souches résistantes à la méticilline (SARM) ont été identifiées. Ces souches sont résistantes à toutes les  $\beta$ -lactamines, y compris les céphalosporines et les céphems.

Les souches SARM sont observées à la fois dans le milieu hospitalier et en communauté. Le SARM est associé à une morbidité et une mortalité de 15 à 60 %. La résistance à la méticilline est due à l'expression de la PBP2a (Penicillin Binding Protein) une protéine de liaison à la pénicilline qui est codée par le gène *mec A*. Les PBP sont des protéines impliquées dans le métabolisme des peptidoglycanes au niveau de la paroi bactérienne. Les  $\beta$ -lactamines ont pour effet d'interférer avec l'activité des PBP et inhibent ainsi la synthèse de la paroi bactérienne (Assoni *et al.*, 2020). Les souches résistantes à la méticilline produisent la PBP2a de faible affinité aux  $\beta$ -lactamines, la synthèse de peptidoglycanes n'a pas lieu, donc pas de fatalité pour les bactéries concernées (Assoni *et al.*, 2020).

Le gène *mec A* est porté par un élément génétique mobile, la SCCmec (Staphylococcal Chromosome Cassette *mec*) qui est la cassette portant le gène de résistance à la méticilline (El-Hamid, 2016). Cette cassette est présente dans le gène *orfX* du côté C-terminal. C'est un gène conservé dans tout le genre staphylocoque (Boundy *et al.*, 2013). La cassette SCCmec possède des séquences d'insertion de part et d'autre du gène *mecA*. Le complexe *mec* est composé du gène *mecA*, de ses gènes régulateurs *mecI* et *mecR1* des séquences de régulations et ainsi que de diverses séquences d'insertions. Plusieurs complexes *mec* ont été décrits en fonction de leurs types de séquences d'insertions (Miragaia, 2018). Chez l'espèce *S. aureus* 11 cassettes ont été décrites, chacune d'elle est représentée par un chiffre romain. Cette classification est issue de la combinaison entre les classes du complexe *mec* et les types de complexes *ccr* (gènes des recombinaisons). La cassette SCCmec possède aussi des gènes codant pour des recombinaisons. Ces recombinaisons ont pour rôle d'intégrer la cassette SCCmec dans le chromosome bactérien. Les gènes du groupe de recombinaison sont appelés *ccr* (cassette chromosome recombinaison) (Miragaia, 2018). Il en existe 3 types : *ccrA*, *ccrB* et *ccrC* codé par les gènes *ccrA*, *ccrB* et *ccrC* respectivement. Il peut exister plusieurs allotypes pour un même type de recombinaison. Au final on distingue 8 différents types de recombinaison. Il existe aussi les régions jointives (région J) situées entre la fin des complexes *ccr*, le complexe *mec* et la cassette SSCmec. Les régions jointives contiennent des structures telles que les plasmides ou les sites d'insertions qui peuvent conférer les résistances supplémentaires (Zong *et al.*, 2011).

La région J1 se situe entre le chromosome droit (*orfX*) et le complexe *ccr*, la région J2 est localisée entre le complexe *ccr* et le complexe *mec* et enfin la région J3 est située entre le chromosome droit (liaison, *orfX*) et le complexe *mec* (Miragaia, 2018).

## **I-4-5- SARM d'origine Hospitalier ou Hospital Acquired Methicillin Resistant**

### ***Staphylococcus aureus* (HA-MRSA)**

#### **I-4-5-1- Epidémiologie**

Le SARM associé à l'hôpital généralement appelé Hospital Acquired MRSA (HA-MRSA) est l'une des causes les plus fréquentes d'infection nosocomiale multirésistante en milieu hospitalier (**Köck *et al.*, 2010**). Les patients dont le système immunitaire est affaibli ou qui présentent d'autres comorbidités courent un risque accru aux infections à HA-MRSA. Depuis l'émergence du SARM en 1960, il a été reconnu comme un pathogène nosocomial avec des taux d'incidence très élevés dans les pays de l'Union européenne (**Lee *et al.*, 2018**). Les infections à HA-MRSA sont souvent difficiles à traiter sur le plan clinique en raison de leur résistance à plusieurs classes d'antibiotiques créant un énorme problème économique et logistique, avec une mortalité et une morbidité assez élevées (**Köck *et al.*, 2010**). Des méta-analyses montrent que la bactériémie à SARM est deux fois plus susceptible d'être fatale que la bactériémie à SASM, ce qui entraîne des séjours hospitaliers plus longs et une utilisation accrue des ressources hospitalières y compris les produits pharmaceutiques (Lakhundi and Zhang, 2018) se traduisant par la hausse du coût du traitement qui très souvent est multiplié par trois (**Singh-Moodley *et al.*, 2020**). Les stratégies de lutte contre les infections, y compris le lavage des mains, les programmes de vigilance, les politiques de gestion des antibiotiques, les lois sur la déclaration obligatoire des taux d'infection, ainsi que le dépistage et la décoloration d'infection, ont dans certains pays du monde contribué à réduire l'incidence des infections à SARM (**Lindsay, 2013**). HA-MRSA décrit le comportement épidémiologique de souches particulières de SARM qui sont particulièrement bien dans les milieux hospitaliers. Elles peuvent également être endémiques dans certains établissements de santé, provoquant des niveaux d'infection épidémiques qui dépassent généralement la limite de tolérance (**Stefani *et al.*, 2012**). Des épidémies dues à la propagation de clones de SARM ont été enregistrées dans pratiquement toutes les régions géographiques du monde (**Chambers and DeLeo, 2009**).

#### **I-4-5-2- Origines et propagation des infections liées aux HA-MRSA**

Les souches HA-MRSA sont parmi les causes les plus courantes d'infections associées aux cathéters intraveineux, d'infections associées aux ventilateurs et de maladies infectieuses intraveineuses, de pneumonies sous ventilation mécanique, d'endocardites infectieuses nosocomiales, et des infections de plaies chirurgicales, même dans les pays comme les États-Unis (**Rosenthal *et al.*, 2012**). Etant donné que le SARM-HA est responsable d'une

proportion élevée d'infections chez les patients hospitalisés, afin de contrôler le taux d'infection, il est important de mettre en place des mesures de prévention chez les patients hospitalisés, il est important de comprendre les facteurs de risque associés afin de contrôler le taux d'infection (**Eiff et Peters, 2001**). De nombreux facteurs contribuent au succès de cet agent pathogène ; cependant, sa capacité à persister en tant que commensal, sa capacité à lutter contre de multiples agents antimicrobiens et sa capacité à s'adapter à des conditions de vie difficiles et sa multitude de déterminants de virulence, souvent avec des fonctions redondantes, sont parmi les plus importants contributeurs à ce succès (**Liang et al., 2011**).

#### **I-4-6- SARM d'origine communautaire ou Community Acquired SARM (CA-SARM)**

##### **I-4-6-1- Epidémiologie**

Jusque dans les années 1990, la très grande majorité des souches de SARM étaient observées à l'hôpital et étaient responsable d'un nombre important d'infections nosocomiales. Lorsque de telles souches étaient retrouvées dans la communauté, il existait le plus souvent des liens indirects avec l'hôpital tels des contacts rapprochés avec une personne travaillant à l'hôpital ou une hospitalisation récente (**David and Daum, 2010**). Dans ce cas ces souches sont appelés des SARM-communautaires (SARM-C) « évadés » de l'hôpital car ces dernières présentaient les mêmes caractéristiques génotypiques que les clones hospitaliers. Ces souches étaient donc considérées, bien que survenant dans la communauté, comme associées aux soins (**Lescure et al., 2006**). Cependant à partir de la fin des années 90, un nouveau type de SARM a été décrit dans des infections communautaires survenues chez des patients ne présentant aucun facteur de risque d'acquisition de clones de SARM hospitaliers. Ces souches semblaient en outre être responsables d'infections sévères, parfois mortelles (**Udo, 2013**). Par opposition aux SARM-C « évadés », ces clones ont été appelés SARM-C « natifs » et on peut considérer qu'il s'agit des seuls véritables SARM communautaires (**Gillet, 2013**).

##### **I-4-6-2- Aspects cliniques**

La plupart des infections dues à des SARM-C ont des caractéristiques cliniques très différentes des infections dues à des SARM hospitaliers. Cette distinction concerne aussi bien les populations concernées que la présentation clinique de l'infection (**Dumitrescu et al., 2008**). Ainsi, les souches hospitalières s'observent principalement chez des individus aux défenses immunitaires amoindries et présentant des pathologies chroniques alors que les SARM communautaires, quelle que soit la souche concernée, ont été observés initialement essentiellement chez des sujets jeunes, sans antécédents ainsi que chez l'enfant (**Watkins et al., 2012**). Les infections à SARM-C, elles, sont principalement des infections primitives de la peau et des tissus mous, volontiers suppurées et nécrosantes. Des pathologies plus sévères

telles que des infections ostéo-articulaires, des bactériémies et des pneumonies nécrosantes ont été décrites avec les SARM-C ; toutes ces infections ayant en commun leur caractère primitif (**Gillet, 2013**).

#### I-4-6-3- Facteurs associés à l'acquisition de SARM-C

Les facteurs conduisant aux infections associées aux SARM-C ont été étudiés essentiellement aux Etats-Unis avec la lignée USA 300 (Watkins et al., 2012) et l'acquisition d'une souche de SARM-C est donc sous-tendue essentiellement par des facteurs environnementaux. Cependant, les facteurs liés à l'hôte sont habituellement très différents de ceux observés avec les SARM hospitaliers : alors que les SARM hospitaliers touchent principalement des individus aux défenses immunitaires amoindries et présentant des pathologies chroniques ; les SARM communautaires, quelle que soit la souche concernée, ont été observés initialement chez des sujets jeunes, sans antécédents ainsi que chez l'enfant (**Watkins et al., 2012**). La promiscuité, le bas niveau socio-économique, le manque d'hygiène et les contacts cutanés fréquents et répétés sont les facteurs de risque principaux retrouvés dans la plupart des études (**Ellis et al., 2014**). Le risque d'acquisition de SARM-C augmente donc avec le nombre de personnes présentes à domicile mais également en cas de fréquentation de collectivités plus ou moins fermées telle que le milieu carcéral ou les crèches. Dans les régions où l'incidence des SARM-C reste faible, il est vraisemblable que, la notion d'un voyage récent dans un pays d'endémie constitue un facteur de risque important (**Dumitrescu et al., 2008**).

#### I-4-6-4- Facteurs de diffusion des SARM-C

Dès leur apparition, les SARM-C ont connu, à des degrés variables, un succès épidémiologique qui a conduit à leur diffusion rapide. Ce succès est dû à une adaptation particulièrement élevée à l'environnement communautaire (**Dufour et al., 2002**). Cependant les déterminants de cette adaptation demeurent mal connus mais sont vraisemblablement communs à toutes les souches compte tenu des différences importantes observées. Il est donc probable que la résistance à la méticilline et la présence des gènes codant la PVL constituent les éléments principaux du succès des SARM-C (**Dumitrescu et al., 2010**). La PVL pourrait également jouer un rôle important de part sa propension à donner des infections cutanées car ce type d'infection est relativement peu sévère mais associée à un inoculum bactérien très important et situé dans des zones superficielles facilement en contact avec l'environnement, favorise la transmission (**Gillet, 2013**).

### I-5- Toxines staphylococciques

*S. aureus* sécrète de nombreuses exotoxines qui peuvent être classées en fonction de leur activité biologique :

## **I-5-1-Leucocidine de Panton et Valentine (PVL)**

### **I-5-1-1- Généralités sur la Leucocidine de Panton Valentine**

La Leucocidine de Panton et Valentine (PVL) est une exotoxine responsable d'une lyse leucocytaire par formation de pores transmembranaires associés à une réaction inflammatoire et une mort tissulaire (**Chaouch et al., 2015**). La PVL est majoritairement sécrétée par les *Staphylococcus aureus* (SA) résistants à la méthicilline (MRSA) communautaires mais peut aussi être produite par les SA sensibles à la méthicilline (MSSA) (**Gillet-Vittori et al., 2014**). Les infections à SA-PVL sont potentiellement sévères, ayant une très grande variabilité dans leurs formes cliniques (**Kreienbuehl et al., 2011**). Elles touchent le plus souvent un sujet jeune, sans comorbidité et se présentent par un état septique très sévère d'aggravation rapide (**Dujardin et al., 2018**). Des atteintes cutanéomuqueuses peuvent s'associer à ce tableau entraînant des abcès ou de fasciite nécrosante, des atteintes respiratoires à type de pneumopathie nécrosante avec hémoptysies et détresse respiratoire aiguë ou encore des lésions osseuses multifocales (ostéomyélites) accompagnées d'atteintes des parties molles avoisinantes (myosite, abcès musculaire ou sous-périoste) (**Doudoulakakis et al., 2016**). La LPV détruit les leucocytes en formant des pores dans la membrane de surface ce qui entraîne une libération des enzymes et des médiateurs de l'inflammation grâce à un afflux calcique intracellulaire. La formation de ces pores nécessite l'implication des 02 composants de la toxine (LukS-PV et LukF-PV). Cette formation conduit également à la mort cellulaire par nécrose ou apoptose (**Dujardin et al., 2018**). Son action sur la nécrose et l'apoptose des polynucléaires neutrophiles est dépendante de la concentration plasmatique (**Gillet-Vittori et al., 2014**). L'implication de cette toxine est bien connue dans les pneumopathies nécrosantes et les infections cutanées superficielles ainsi que profondes à l'instar des pneumopathies nécrosantes à *Staphylococcus aureus* sécréteurs de LPV. Ces infections sont très sévères et présentent un taux de mortalité plus élevé, de l'ordre de 37% de la même façon que les infections musculo cutanées à *Staphylococcus aureus* (**Libert et al., 2009**). Les infections cutanées superficielles ainsi que profondes causées, à l'instar des pneumopathies nécrosantes à *S. aureus* sécréteurs de LPV (*S. aureus* LPV+) sont très sévères et présentent un taux de mortalité assez élevé comparé aux autres, de l'ordre de 37 % (**Hoppe et al., 2019**).

### **I-5-1-2- Acquisition des gènes codant la PVL par *S. aureus***

Comme pour la plupart des facteurs de virulence de *S. aureus*, les gènes de la PVL, sont portés par un élément génétique mobile qui est un phage tempéré. Le premier phage portant les gènes *lukS-PV* et *lukF-PV* a été décrit en 1998 grâce à un lysat de la souche de référence

V8 (**Kaneko et al., 1998**). Il s'agissait d'un phage à tête isométrique, dénommé  $\phi$ PVL, dont le pouvoir infectieux s'est avéré relativement faible puisque le lysat phagique s'est révélé incapable de transférer les gènes codant la PVL à des souches réceptives. Un second phage portant la PVL a été décrit en 2001 et nommé  $\phi$ SLT (*Staphylococcal Leucocytolytic Toxin*). Il s'agit d'un phage à tête allongée ayant montré un fort pouvoir de lysogénisation et de transfert des gènes de la PVL tel que décrite par Narita *et al* (**Narita et al., 2001**). Après séquençage des génomes de ces deux phages, il ressort qu'ils présentent un locus hautement conservé composé du gène de peptidoglycane hydrolase (*lyt*), les gènes *LukS-PV* et *LukF-PV* et le site d'attachement *attR*. Le site d'intégration dans le génome hôte s'avère aussi être identique aux deux phages. Il est situé au sein d'une séquence spécifique de 29 pb localisée dans la région C-terminale d'un cadre de lecture ouvert codant une protéine de 750 acides aminés dont la fonction est à ce jour inconnue (**Kaneko et al., 1998**).

Les principaux phages codant la PVL (figure 4) peuvent être classés en :

Phages à tête isométrique :  $\phi$ PVL ;  $\phi$ 108PVL.

Phages à tête allongée :  $\phi$ SLT ;  $\phi$ Sa2mw  $\phi$ Sa2958 (**Baba et al, 2002**),

### **I-5-1-3- Structure des gènes *lukS-PV* et *lukF-PV***

Quel que soit le phage porteur, la PVL est codée par deux gènes consécutifs séparés d'une seule base, formant un opéron de 2000 paires de bases. Les deux protéines (*LukS-PV* et *LukFPV*) sont synthétisées sous la forme de deux peptides de 312 et 325 acides aminés respectivement, puis sécrétées et maturées au niveau de leur extrémité N-terminale. Les protéines fonctionnelles matures formées de 284 et 301 résidus pour un poids respectif de 32 374 Da et 34 336 Da. Il s'agit de protéines fortement hydrophobes, dégradées par le formaldéhyde et susceptibles d'être adsorbées sur des parois plastifiées. L'homologie entre les séquences de *LukS-PV* et *LukF-PV* est relativement faible, de l'ordre de 23%, alors qu'il existe des similitudes bien plus marquées avec les composés de même classe issus des autres toxines SHT (**Gillet, 2013**).

### **I-5-1-4- Les différentes formes de la PVL**

Les séquences de la PVL sont généralement hautement conservées d'une souche à l'autre. L'analyse des séquences codant la Leucocidine a démontré l'existence d'au moins 12 formes (8 sur *lukS-PV* et 4 sur *lukF-PV*) dont deux formes non complémentaires dans la séquence *lukS-PV* (**O'Hara et al., 2008**). L'analyse effectuée sur certaines séquences a montré 3 variations nucléotidiques sur *lukS-PV*, en position 527, 663 et 1396, permettant l'individualisation de 4 haplogroupes classés en deux types R et H. Le type R est caractérisé par la présence d'une guanine en position 527, codant l'acide aminé Arg176 alors que dans le

type H, la position 527 est occupée par une Adénine codant His176. Ce dernier type est divisé en sous-groupes en fonctions des nucléotides 663 et 1396. Sur le plan phylogénique, la PVL de type H, retrouvée dans la majorité des souches PVL positives sensibles à la pénicilline, serait issu de la PVL de type R que l'on retrouve essentiellement dans les souches de SARM communautaires (O'Hara et al., 2008).

#### **I-5-1-5- Régulation des gènes *lukS-PV* et *lukF-PV***

L'expression de la PVL n'est pas constante et dépend essentiellement des phases du cycle de multiplication bactérienne. Cette expression reste coordonnée et séquentielle (Novick, 2003). Elle est sous la dépendance de plusieurs systèmes régulateurs, eux même étant dépendants de la densité bactérienne et de divers facteurs environnementaux. Au début de son pic de croissance, c'est la transcription des facteurs d'adhésion qui est induite puis réprimée en fin de phase. A ce moment précis et durant la phase post-exponentielle, la transcription des gènes codant les facteurs de virulence extracellulaire parmi lesquelles les leucocidines au même titre que les hémolysines et les toxines superantigéniques, est activée pour décroître ensuite très progressivement au cours de la phase stationnaire. La régulation de l'expression de ces facteurs est sous la dépendance de plusieurs systèmes régulateurs interdépendants parmi lesquels figurent des systèmes de transduction du signal tels que *agr* (*accessory gene regulator*), *saeRS* (*S aureus exoprotein expression*) et des facteurs de transcription tels que *sarA* (*Staphylococcal accessory regulator*) (Chen et al., 2013) et son homologue *rot* (*repressor of toxins*) (Liang et al., 2011).

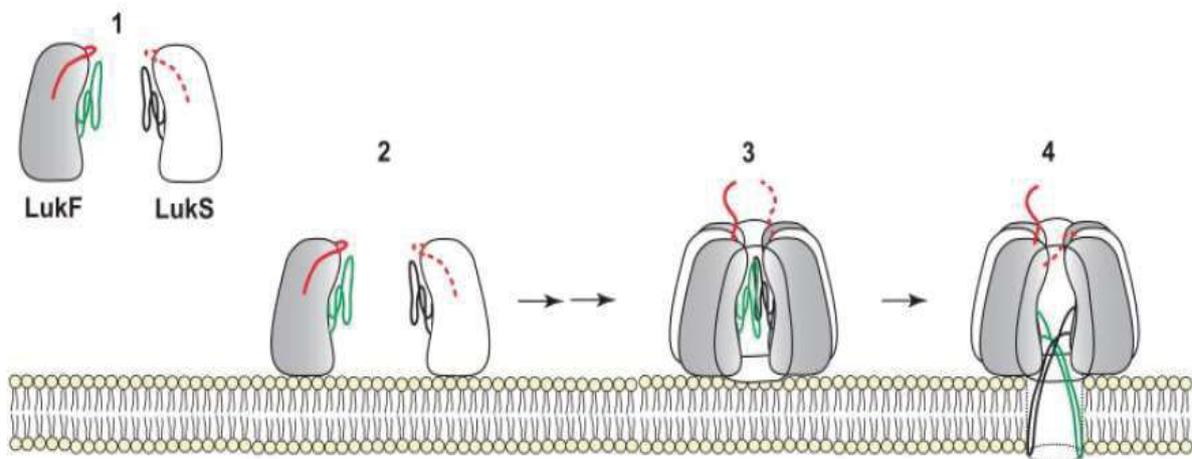
#### **I-5-1-6- Activité physiologique de la Pantone Valentine Leucocidine (PVL)**

Les cellules cibles de la PVL chez l'homme sont entre autres les polynucléaires neutrophiles (PNN), les monocytes et les macrophages. Comme pour les autres SHT, l'activation de la PVL passe par la fixation séquentielle des différents composés.

##### **Fixation aux cellules cibles**

C'est très récemment que les chercheurs ont pu identifier les récepteurs cellulaires de la PVL sur les PNN. Il s'agit du récepteur pour le composé C5a du complément et dans une moindre mesure du récepteur C5L2, tous deux exprimés par les cellules myéloïdes : PNN et monocyte macrophages (Zimmermann-Meisse et al., 2017). Cependant, l'existence d'un ou de plusieurs récepteurs spécifiques avait été prédite car d'une part, la fixation de *LukS-PV* est un préalable nécessaire à la fixation secondaire de *LukF-PV* qui permettra d'obtenir un oligomère actif et d'autre part, la liaison de *LukS-PV* avec la cellule ne peut être obtenue qu'à partir d'un certain stade de maturation du PNN, au-delà du stade promyélocyte (Nishiyama et al., 2012). Il était donc vraisemblable que le récepteur de *LukS-PV* ne soit présent à la surface des PNN

qu'à partir du stade métamyélocytaire. L'affinité de *LukS-PV* varie en fonction des cellules avec une affinité plus importante pour les monocytes que pour les PNN. Néanmoins, la densité des récepteurs à la surface des cellules est également fonction du type de cellule et cette fois, il se peut que les PNN possèdent au moins deux fois plus de sites de fixation de *LukS-PV* que les monocytes. Outre le type de cellule, d'autres facteurs semblent susceptibles d'influencer l'expression des hypothétiques récepteurs. Ainsi, la protéine kinase C aurait un rôle de régulation du nombre ou de l'affinité des récepteurs puisque l'activation préalable de cette enzyme conduit à une diminution significative de la fixation de *LukS-PV* (**Gauduchon et al., 2004**). Selon le modèle généralement admis, commun à toutes les toxines synergohyménotropes, la fixation de *LukS-PV* au récepteur membranaire est suivie de l'incorporation de *LukF-PV* puis d'une oligomérisation alternée des composés S et F aboutissant à la formation d'un complexe moléculaire heptamérique de type tonneau- $\beta$ . Ce complexe, constituant la PVL proprement dite, est perpendiculaire au plan de la membrane cellulaire et résulte à la formation d'un pore hétéro-octamérique qui est responsable des effets toxiques (**Bezrukov and Nestorovich, 2016**).



**Figure 7 :** Mécanisme de fixation séquentielle et d'assemblage des monomères de LukS-PV et LukF-PV pour former la PVL active. (Miles et al., 2001)

### Formation de pores membranaires

L'action de la PVL sur les cellules cibles peut se traduire par des modifications morphologiques avec une turgescence des cellules, une diminution de la réfringence en microscopie en contraste de phase et une augmentation en volume des noyaux traduisant la mort cellulaire (**Tromp and van Strijp, 2020**). Ces modifications sont la conséquence de la formation de pores dans la membrane des granulocytes. Précédant la formation des pores proprement dits, l'activation de la PVL induit l'ouverture de canaux membranaires spécifiques d'ions divalents, provoquant ainsi un influx calcique important et irréversible. La

présence de calcium semble donc être un élément fondamental de l'action de la PVL car, en l'absence de calcium, la formation de pores est retardée. Le calcium agirait donc soit directement sur l'activation de la PVL, soit en interagissant positivement dans les mécanismes d'interaction PVL-récepteur membranaire (Gillet, 2013). Après l'ouverture des canaux calciques, les pores membranaires de grande taille se forment, entraînant un influx de sodium et une fuite de potassium ainsi que d'autres constituants intracellulaires. Ces modifications ioniques sont responsables de la mort cellulaire par choc osmotique (Diep *et al.*, 2010). Certains chercheurs ont montré que l'ouverture des canaux calciques et la formation des pores membranaires étaient deux phénomènes indépendants mais qui peuvent être complémentaires pour la toxicité de la PVL. A cet effet, l'ouverture des canaux calciques serait responsable d'une activation des cellules cibles alors que la formation des pores induirait la lyse cellulaire (Alonzo and Torres, 2014).

### **Libération de médiateurs de l'inflammation**

La fixation de la PVL induit l'activation des cellules cibles via l'ouverture des canaux calciques et la transduction de signaux transmembranaires. La principale conséquence de cette activation induite par la PVL est la libération de quantités importantes de médiateurs de l'inflammation (Gillet, 2013). Cette action pro-inflammatoire a été montrée pour le leucotriène B4, l'interleukine-8 et l'histamine.

### **Libération de leucotriène B4**

La PVL à concentration sub-lytique active la 5 lipoxygénase qui est nécessaire à la formation du leucotriène-B4 (LTB4) et inhibe la dégradation du LTB4 en composés inactifs. Le Lymphocyte TB4 agit *in vivo* comme un facteur chimiotactique, capable d'attirer d'importantes quantités de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles vers le foyer inflammatoire. Il peut également agir en provoquant la dégranulation des polynucléaires qui génère la libération d'enzymes de dégradation tissulaire, la libération d'ions superoxydes et favorise l'adhérence puis la diapédèse du PNN (Dupont, 2018). Cette libération de facteurs toxiques est susceptible d'induire d'importantes lésions tissulaires locales ; ces lésions étant d'autant plus sévères que le chimiotactisme induit un afflux massif de polynucléaire au site de l'inflammation. Dans un second temps, il se peut que la PVL soit capable, au contraire d'inhiber la production de LTB4 par les PNN en réponse à un stimulus extérieur, réduisant alors les capacités de défense antibactérienne et favorisant donc l'invasion et la multiplication bactérienne (Malachowa *et al.*, 2013).

### **Libération d'interleukine-8**

La PVL est également capable d'induire, toujours à des concentrations sublytiques, la libération d'Interleukine-8 (IL-8) (Spaan *et al.*, 2017). Les effets de cette cytokine proinflammatoire sont proches de ceux observés avec le LTB4 dont elle induit par conséquent la production. L'IL-8 est produite par les monocytes, les granulocytes mais également par les cellules endothéliales et épithéliales ; elle est un puissant facteur chimiotactique des PNN. La production d'IL-8 entretient donc le flux des PNN vers le foyer d'inflammation et provoque leur prolifération et leur différenciation (Gillet, 2013) Elle induit également, soit directement, soit à travers le LTB4, la dégranulation des PNN, la production d'enzymes lytiques et d'ions superoxydes. La production d'IL-8 amplifie donc les lésions tissulaires, là encore de façon d'autant plus importante que l'afflux de PNN est massif

### **Libération d'histamine**

La PVL induit également la dégranulation des polynucléaires basophiles et des mastocytes. Ceci provoque une libération d'histamine induisant une puissante vasodilatation locale et une augmentation de la perméabilité capillaire qui vont favoriser l'infiltration du foyer par les cellules inflammatoires.

### **I-5-2- Les toxines à activités membranaires : Le Staphylococcal Chromosome Cassette mec (SCCmec)**

SCCmec est un élément génétique mobile qui porte le gène *mecA* (gène de résistance à la pénicilline) et d'autres gènes fonctionnels. Zong et al (Zong *et al.*, 2011) ont déclaré que SCCmec contient les deux composants essentiels suivants : le complexe de gènes *mec* et le complexe de gènes *ccr*. Le complexe de gènes *mec* est constitué de *mecA*, des gènes régulateurs et des séquences d'insertion associées. Les séquences d'insertion associées ont été classés en six classes différentes (A, B, C1, C2, D, et E) ainsi que de la cassette chromosome recombinase (*ccr*) (*ccrC* ou la paire de gènes *ccrA* et *ccrB*) codant les recombinases qui médient l'intégration et l'excision de SCCmec à partir du chromosome (Saber *et al.*, 2017). La prise de conscience que *mecA* était largement disséminé parmi les espèces de staphylocoques a conduit à l'hypothèse qu'il pouvait être porté par un élément mobile ayant la capacité de se transférer d'un organisme à l'autre facilement, d'où la découverte que l'émergence de lignées de staphylocoques résistantes à la pénicilline était due à l'acquisition et à l'insertion de la cassette staphylococcique (Lakhundi and Zhang, 2018), l'élément mec du chromosome cassette staphylococcique (SCCmec) dans le chromosome des souches sensibles. Cet élément génétique mobile de 21 à 60 kb est la caractéristique déterminante des souches de

SARM et est à l'origine de la résistance à large spectre aux Bétalactamines. Le transfert de la cassette SCCmec entre les souches de *S. aureus* et les autres espèces de staphylocoques telles que les coagulase négatives pourrait expliquer l'existence des staphylocoques non *aureus* résistants à la méticilline chez les humains (**Katayama et al., 2013**).

A ce jour, 13 types de SCCmec ont été identifiés dans les souches MRSA. Nous allons nous attarder sur les 05 premiers qui ont été découverts.

#### ✓ Le SCCmec de type I

Le SCCmec de type I a été décrit pour la première fois en 2001 dans la souche MR NCTC10442, isolée au Royaume-Uni en 1961. Ce type de SCCmec a également été décrit dans des souches de SARM de Malaisie, d'Afrique du Sud et d'Italie collectées dans les années 1980. Ensuite cette cassette a été retrouvée dans le monde entier, principalement dans des souches HA-MRSA. Le SCCmec de type I de la souche NCTC10442 a une longueur de 34 359 nucléotides de long et contient 4 régions répétées, 2 éléments mobiles et 41 séquences d'ADN codantes (CDS) (**Hiramatsu et al., 2001**).

#### ✓ Le SCCmec de type II

Le SCCmec de type II a été décrit pour la première fois en 1999 dans la souche caractéristique de SARM N315. Il se retrouve principalement dans les souches de SARM-HA. Le SCCmec de type II porte un complexe de gènes *mec* de classe A, un complexe de gènes *ccr* de type 2, une copie intégrée du plasmide staphylococcique pUB110 dans la région J3, et un régulateur *kdp* dans la région J1. Le SCCmec de type II de N315 est long de 53 017 nucléotides et contient 4 régions répétées (**Lakhundi and Zhang, 2018**).

#### ✓ Le SCCmec de type III

Le SCCmec de type III a été découvert pour la première fois dans l'isolat venant des Nouvelles Zélandais 85/2082 en 2001, comme pour les types I et II, on le trouve principalement dans les souches HA-MRSA. Le SCCmec III porte un complexe de gènes *mec* de classe A, un complexe de gènes *ccr* de type 3, dans la région J3, une copie intégrée du plasmide pT181 codant pour la résistance à la tétracycline et au mercure. Le SCCmec de type III de 85/2082 est long de 66 896 nucléotides et contient 10 régions répétées (**Lakhundi and Zhang, 2018**).

#### ✓ Le SCCmec de type IV

Le SCCmec de type IV a été découvert pour la première fois en 2002 dans deux souches caractéristiques de SARM, CA05 et 8/6-3p. MRSA, CA05 et 8/6-3p, isolées du liquide articulaire de patients. Alors que SCCmec de types I, II et III étaient les types les plus

fréquemment rencontrés au cours des années précédentes, SCCmec IV est devenu l'un des types de SCCmec les plus fréquemment isolés en raison de sa présence dans deux souches en pleine expansion du groupe CA-MRSA. Le type SCCmec IV est le plus petit jusqu'à présent et présente une combinaison unique d'un complexe de gènes *mec* de classe B avec un gène *ccr* de type 2. Il abrite le transposon Tn4001 dans la région J3. Le SCCmec de type IV de CA05 contient 24 244 nucléotides avec 4 régions répétées, 2 éléments mobiles et 22 CDS, dont 17 CDS n'ont apparemment pas d'ORF fonctionnels clairs. En raison de sa plus petite taille et sa constitution génétique plus simple, aucun gène de résistance aux antibiotiques n'est trouvé dans le SCCmec de type IV à l'exception de *mecA* (Lakhundi and Zhang, 2018).

#### ✓ Le SCCmec de type V

Le SCCmec type V a été identifié pour la première fois en 2004 dans la souche australienne WIS (JCSC3624) et se retrouve principalement dans le SARM-CA. Après avoir trouvé plusieurs souches SCCmec non typables, le séquençage de la région de la souche WIS a été effectué et a permis d'identifier une nouvelle cassette SCCmec contenant un complexe de gènes *mec* de classe C2 et un complexe de gènes *ccr* de type 5 (Ito *et al.*, 1999). Cet élément a une longueur de 27 638 pb avec 6 régions répétées, 2 éléments mobiles et 23 CDS dont 15 CDS n'ont apparemment pas d'ORF fonctionnels clairs. L'ensemble de l'élément est structurellement divisé en la région amont du complexe génique *mec* contenant une région répétée et 1 CDS, le complexe génique *mec* avec la classe B en plus de 4 CDS. La recombinaison de ce type d'élément SCCmec n'est effectuée ni par *ccrA* ni par *ccrB* mais par un nouveau gène *ccrC*. Par conséquent, l'intégration et l'excision sont réalisées par une seule cassette chromosome recombinase C (*ccrC*), contrairement au cas de *ccrA* et *ccrB*, où l'intégration est réalisée par un gène et l'excision par un autre. Comme le type IV, le type V n'a pas de gènes de résistance aux antibiotiques identifiables autres que *mecA* (Lakhundi and Zhang, 2018).

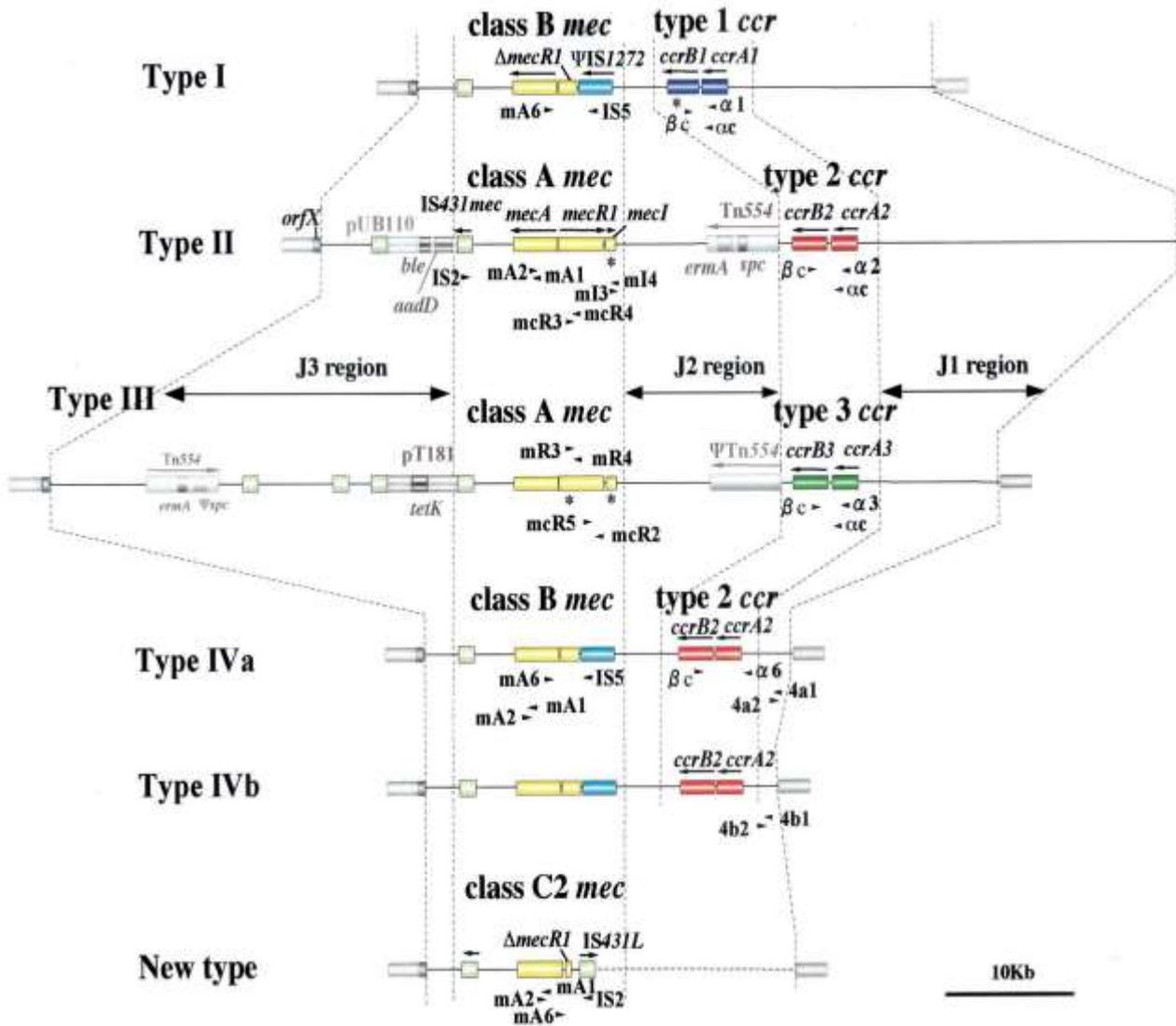


Figure 8: Représentation illustrative des différents types de SCCmec (Okuma et al., 2002).

Le type de SCCmec est défini par la combinaison du type de complexe génique *ccr* et de la classe du complexe génique *mec*. Le SCCmec de type I est défini par la combinaison du *ccr* de type 1 et du *mec* de classe B (*IS1272-mecR1-mecA*) ; le type II est défini par le *ccr* de type 2 et le *mec* de classe A (*IS1272-mecR1-mecA*); le type III est défini par le *ccr* de type 3 et le *mec* de classe A ; et le type IV est défini par le *ccr* de type 2 et le *mec* de classe B. Le SCCmec de type IV est en outre classé en sous-types (type IVa et type IVb) sur la base de la différence de séquence dans la région J1 de SCCmec (J signifie "junkyard"). La classe allélique du complexe génique *mec* est déterminée par la détection par PCR de la présence ou de l'absence de *IS1272*, *mecI*, et *mecR1* dans deux domaines (PB, domaine de

liaison à la pénicilline ; et MS, domaine de propagation membranaire), *mecA*, et *IS431mec*. (Katayama *et al.*, 2001).

#### **I-5-2-1- Caractéristiques des cassettes SCC*mec* des HA-MRSA**

Ainsi, les cassettes des SARM hospitaliers, de grande taille, possèdent un nombre important d'éléments génétiques dit accessoires codant pour des mécanismes de résistance aux antibiotiques autres que les  $\beta$ -lactamines. Cette propriété confère à ces souches leur profil de multi-résistance mais s'accompagne par contre d'une perte de « fitness » de la souche qui peut entraver ses capacités métaboliques, de sécrétion de toxines et de réplication (Collins *et al.*, 2010). Ces caractéristiques expliquent que ces souches ne diffusent que modérément en dehors du milieu hospitalier où elles trouvent à la fois des hôtes aux défenses amoindries et une niche écologique entretenue par la pression de sélection antibiotique (Gillet, 2013).

#### **I-5-2-2- Caractéristiques des cassettes SCC*mec* des SARM-C**

Outre la présence de la PVL, les SARM-C ont donc en commun la présence de variants alléliques particuliers de la cassette SCC*mec*; les types IV et V (Dufour *et al.*, 2002). La principale différence entre ces cassettes est leur taille et le nombre de gènes associés au complexe du gène *mecA*. Les cassettes SCC de type IV et V des SARM-C sont de petite taille et ne comportent pratiquement aucun autre gène de résistance (Gillet, 2013). Ces souches sont donc habituellement sensibles aux antibiotiques autres que les  $\beta$ -lactamines mais par contre, leurs capacités métaboliques et de multiplication restent identiques à celles des souches sensibles, leur conférant une capacité intacte de diffusion (Okuma *et al.*, 2002).

### **1-6- Infections causées par *Staphylococcus aureus***

Le *Staphylococcus aureus* est à l'origine de deux grands types d'infection chez l'Homme il s'agit : d'Infections suppuratives et infections toxiques.

#### **I-6-1- Infections suppuratives**

Les infections suppuratives sont de deux ordres :

- Soit elles sont primitives, provoquant des infections locorégionales de localisations cutanées superficielles, sous-cutanées et muqueuses : impétigos, folliculites, panaris, abcès, furoncles, anthrax, cellulites, lymphangites (Perez, 2013).
- Soit elles profitent d'une porte d'entrée, généralement une effraction cutanée parmi lesquelles on retrouve les atteintes cutanées (plaies quelle que soit leur origine, brûlures, ulcères), le diabète, les traitements immunosuppresseurs et les corticoïdes, mais aussi les déficits immunitaires cellulaires (Perez, 2013). Cependant, les souches productrices de PVL sont généralement impliquées dans les infections cutanées récidivantes et les tableaux de

furunculoses familiales (**Vandenesch et al., 2012**). *Staphylococcus aureus* est aussi fortement impliqué dans les infections de la sphère ORL (otites, sinusites, mastoïdites, angines), mais aussi de pneumopathies (**Perez, 2013**). Des infections profondes peuvent aussi compliquer les infections superficielles soit par extension directe locorégionale, comme c'est le cas pour la staphylococcie maligne de la face secondaire à un furoncle de l'aile du nez, soit par dissémination par voie hématogène (**Perez, 2013**). *Staphylococcus aureus* est aussi incriminé dans les septicémies, à l'origine de localisations viscérales pleuro-pulmonaires (abcès bulleux), ostéo-articulaires (ostéomyélites, arthrites), cardiaques (endocardites), méningées, cérébrales (abcès cérébraux) et urinaires (phlegmons péri-néphrétiques) (**Vincenot et al., 2008**).

### **I-6-2- Infections à *Staphylococcus aureus* liées aux toxines**

Certaines infections à l'instar des infections staphylococciques ne sont pas dues directement à l'action bactérienne mais plutôt à la sécrétion de toxines par la bactérie qui constitue l'agent causal. Ces toxines agissent le plus souvent à distance du foyer infectieux. Elles sont produites par un nombre limité de souches et provoquent un syndrome spécifique (**Durand, 2009**). Dans le cadre des infections staphylococciques nous pouvons citer : Les syndromes d'exfoliation staphylococcique sont dus à des souches produisant des exfoliatines A et B (ETA, ETB) ; Le syndrome d'exfoliation généralisée (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome, SSSS*) ; L'impétigo est une infection cutanée bactérienne, superficielle (sous la couche cornée de l'épiderme) et non folliculaire, réalisant une dermatose vésiculo-bulleuse ou ulcéro-croûteuse, très contagieuse et non immunisante. Elle évolue généralement vers une érosion puis une croûte (**Hartman-Adams, 2014**).

Infections à *Staphylococcus aureus* liées aux exotoxines : Plusieurs infections ont une causes directes aux exotoxines Staphylococciques parmi ces derniers on peut citer : les toxi-infections alimentaires à Staphylocoques, le choc toxique staphylococcique, le choc toxique néonatale, la maladie de KAWASAKI, les maladies autoimmunes entre autres (**Nanoukon, 2017**).

## **I-7- Facteurs de risques associés aux infections à *Staphylococcus aureus* : cas du VIH/SIDA et du diabète**

### **I-7-1- Le VIH/SIDA et l'infection à *Staphylococcus aureus***

Le taux de morbidité lié aux infections dues à *Staphylococcus aureus* est généralement assez élevé chez les personnes infectées par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (**Gebremedhn et al., 2016a**). Plusieurs études ont montré que le *S. aureus* colonise les narines antérieures des patients infectés par le VIH avec une fréquence plus élevée que celle des patients non infectés par le VIH. Les patients infectés par le VIH sont donc reconnus comme l'un de ces groupes à haut risque en raison des taux accrus de colonisation et d'infection par le SARM (**Hull et al., 2014**). Les interactions et les manifestations pathologiques de l'organisme avec l'hôte immunodéprimé sont complexes et diversifiées car l'épidémiologie du SARM et celle du VIH continuent d'évoluer au fil du temps (**Hidron et al., 2010**).

#### **I-7-1-1- Le VIH /SIDA et la défense de l'hôte contre *Staphylococcus aureus***

L'immunité innée représente la principale défense de l'hôte contre le *S. aureus*, les neutrophiles étant la principale défense cellulaire de la réponse immunitaire innée (**Askarian et al., 2018**). La fonction des neutrophiles nécessite la coordination de nombreuses étapes, notamment la chimiotaxie, la phagocytose, la destruction intracellulaire et l'apoptose qui s'ensuit. Bien qu'elle ne soit pas aussi bien étudiée que l'immunité cellulaire ou adaptative, la réponse immunitaire innée chez les personnes atteintes du VIH a révélé un dysfonctionnement important des neutrophiles qui peut augmenter le risque d'infections bactériennes. C'est le cas avec l'infection à *S. aureus* (**Hidron et al., 2010**). L'étiologie de la neutropénie chez les personnes infectées par le VIH est multifactorielle car peut provenir des infections opportunistes, les toxicités hématologiques liées au traitement et les carences nutritionnelles, qui peuvent toutes jouer un rôle (**Kuritzkes, 2000**). Un autre mécanisme peut être une augmentation de l'apoptose des neutrophiles qui s'est avérée accélérée chez les personnes infectées par le VIH (**Salmen et al., 2007**). Enfin, les lymphocytes B produisent des anticorps qui sont une composante essentielle de la réponse immunitaire antibactérienne et augmentent l'efficacité de la phagocytose des neutrophiles. Depuis l'épidémie du VIH, les anomalies des lymphocytes B et la production d'anticorps dysfonctionnels ont été reconnues chez les personnes infectées par le VIH et on pense qu'elles augmentent le risque d'infections bactériennes (**Nicholas et al., 2013**). Les défauts démontrés de l'immunité innée contribuent

certainement aux taux élevés d'infections à *S. aureus* chez les personnes infectées par le VIH (**Hidron et al., 2010**).

I-7-1-2- L'épidémiologie et les manifestations cliniques de l'infection à *Staphylococcus aureus* chez les personnes vivantes avec le VIH/SIDA

### **Colonisation**

La prévalence de la colonisation par *S. aureus* varie selon la population étudiée. Des groupes de patients présentant des taux de colonisation plus élevés ont été identifiés, notamment les patients VIH positifs (**Hsu et al., 2020; Popovich et al., 2013**). En ce qui concerne spécifiquement le SARM, des taux de colonisation de 0-17 % ont été signalés chez les patients séropositifs en consultation externe et 17%-31% pour les patients hospitalisés (**Hidron et al., 2010**). Le VIH a été identifié comme facteur de risque indépendant pour déterminer la colonisation par le SARM. La raison des taux de colonisation plus élevés observés ne sont pas clairs, mais pourraient inclure des facteurs tels que le contact fréquent avec les milieux de soins de santé et les milieux communautaires, et l'exposition fréquente aux antibiotiques, ce qui augmente la probabilité d'être colonisé par des souches résistantes. Certains des facteurs de risque pour la colonisation chez les patients infectés par le VIH suggèrent un contrôle immunologique et virologique, ainsi que l'utilisation de Cotrimoxazole en prophylaxie pourraient être une des mesures de protection importantes (**Gebremedhn et al., 2016b**).

### **Infections**

Le taux d'infections par le SARM a augmenté au fil du temps chez les patients séropositifs et a été signalé comme étant de 6 à 18 fois plus élevé que dans la population générale. La proportion de SARM par rapport à celle de *S. aureus* sensible à la méticiline (MSSA) a aussi augmenté au cours des dernières années chez les enfants et les jeunes adultes infectés par le VIH (de 17 % à 100 % de tous les cas). Les patients séropositifs au VIH sont plus susceptibles de souffrir d'infections communautaires à *S. aureus*, mais ils sont également plus susceptibles d'avoir une infection nosocomiale causée par *S. aureus* que les patients séronégatifs (**Chinnambedu et al., 2020**)

### **Bactériémie**

*S. aureus* est la cause la plus fréquente de bactériémies communautaires et hospitalières chez les patients séropositifs et le SARM peut expliquer 32% à 67% des cas de bactériémie à *S. aureus* dans cette population de patients. Cependant, la source de la bactériémie à *S. aureus* est quelque peu différente selon les données rapportées par l'étude de Hidron *et al* ; ainsi on distingue : un cathéter dans 17 % à 54 % des cas, l'utilisation de médicaments par voie

intraveineuse (ou endocardite) dans 3 % à 49 % des cas, et inconnue dans environ 19 % des cas (**Hidron et al., 2010**).

### **I-7-2- Le Diabète et l'infection à *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus*, est à l'origine de graves infections des plaies, infections de la peau et des tissus mous (SSTI), ostéomyélite, et d'autres infections inhabituelles dans le monde entier ceci, d à ses nouveaux clones émergents (Shettigar and Murali, 2020). Le plus souvent, *S. aureus* se focalise beaucoup plus sur la peau ou les surfaces muqueuses des enfants et des patients séropositifs ou diabétiques, qui sont généralement les plus exposés à la colonisation par de *S. aureus* (**Lin et al., 2017**). Dans la littérature, la plupart des données suggèrent que le diabète peut entraîner une augmentation de la colonisation de *S. aureus* et de SARM dans les hôpitaux ainsi que dans la communauté (**Ahmadi et al., 2019**). Cependant, les études concernant la colonisation nasale par le SARM dans la population diabétique sont limitées, et la plupart d'entre elles sont axées sur les patients hospitalisés (**Reveles et al., 2016**).

Le diabète est une maladie de plus en plus courante qui a des effets néfastes sur presque tous les systèmes organiques et sur la qualité de vie des patients. Les patients diabétiques peuvent présenter une susceptibilité accrue à la bactériémie à *S. aureus* (BSA) pour un certain nombre de raisons, notamment l'hyperglycémie tissulaire et la diminution de l'efficacité du traitement et une immunité généralement réduite, l'âge avancé, les morbidités coexistantes et les complications liées au diabète peuvent encore accroître le risque de BSA (**Saeedi et al., 2019a**).

## **I-8- Identification phylogénétique**

### **I-8-1- Typage phylogénique de *Staphylococcus aureus***

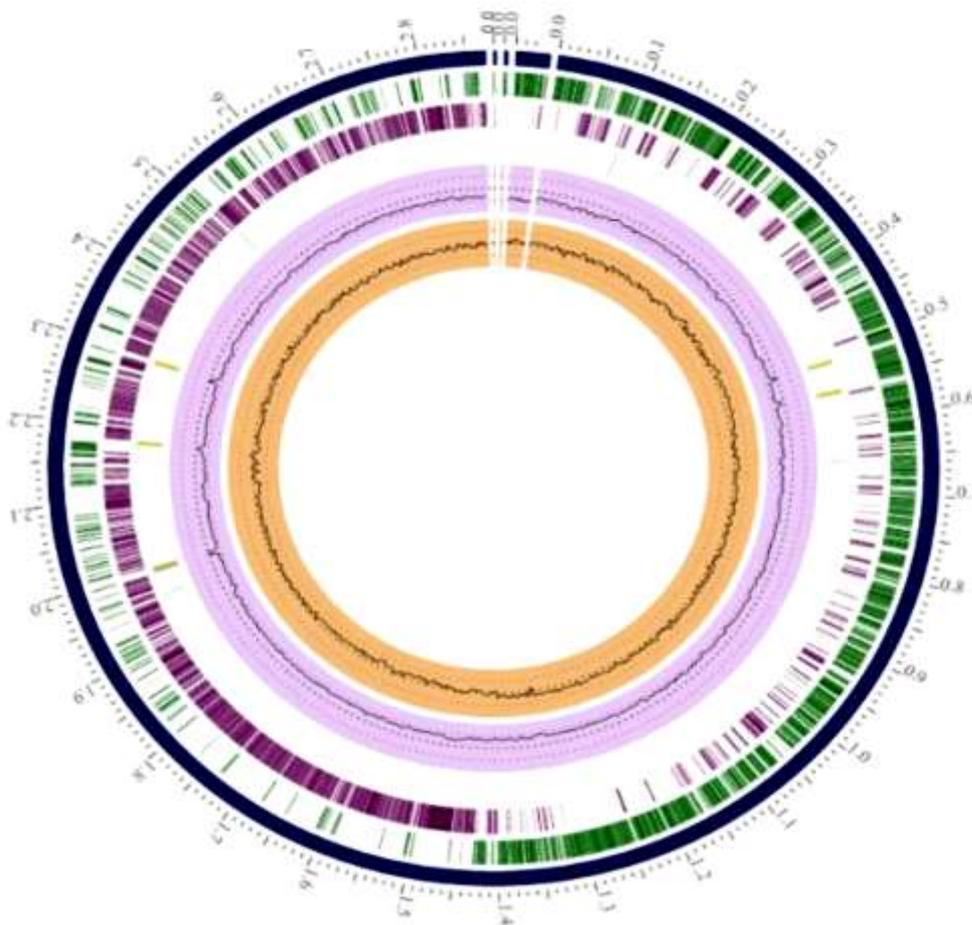
La classification phylogénique indique que *S. aureus* appartient au phylum des firmicutes, regroupant les bactéries Gram positifs. Elle est parmi les bacilles, de l'ordre des Bacillales, de la famille de Staphylococcaceae, du genre *Staphylococcus* et *Espèce aureus* (**Parte, 2018**).

Cette technique de typage est basée sur la différenciation de souches de microorganismes provenant d'une même espèce à l'instar de *Staphylococcus*. Elle est fondée sur la détection de caractères présents dans l'espèce mais qui peuvent varier au sein de cette même espèce. La technique permet de différencier les souches sans lien clonales et associer les souches issues d'une même chaîne de transmission. Sur le plan phylogénétique, le typage peut permettre d'étudier l'hétérogénéité d'une espèce bactérienne sous différents aspects tel

que la diversité génomique des souches en fonction de leur répartition géographique, leur profil de résistance aux antibiotiques ou de leur virulence (Holmes *et al.*, 2010).

### I-8-2- Impact des facteurs de virulence

Les souches de *S. aureus* disposent de très grandes variabilités génétiques dues très souvent à des facteurs de virulence dont elles disposent et d'une bonne capacité d'acquisition de l'information génétique qui permet à cette dernière de s'adapter à de nombreuses contraintes (Kenian, 2018).



**Figure 9: Exemple de génome de *Staphylococcus aureus*.**

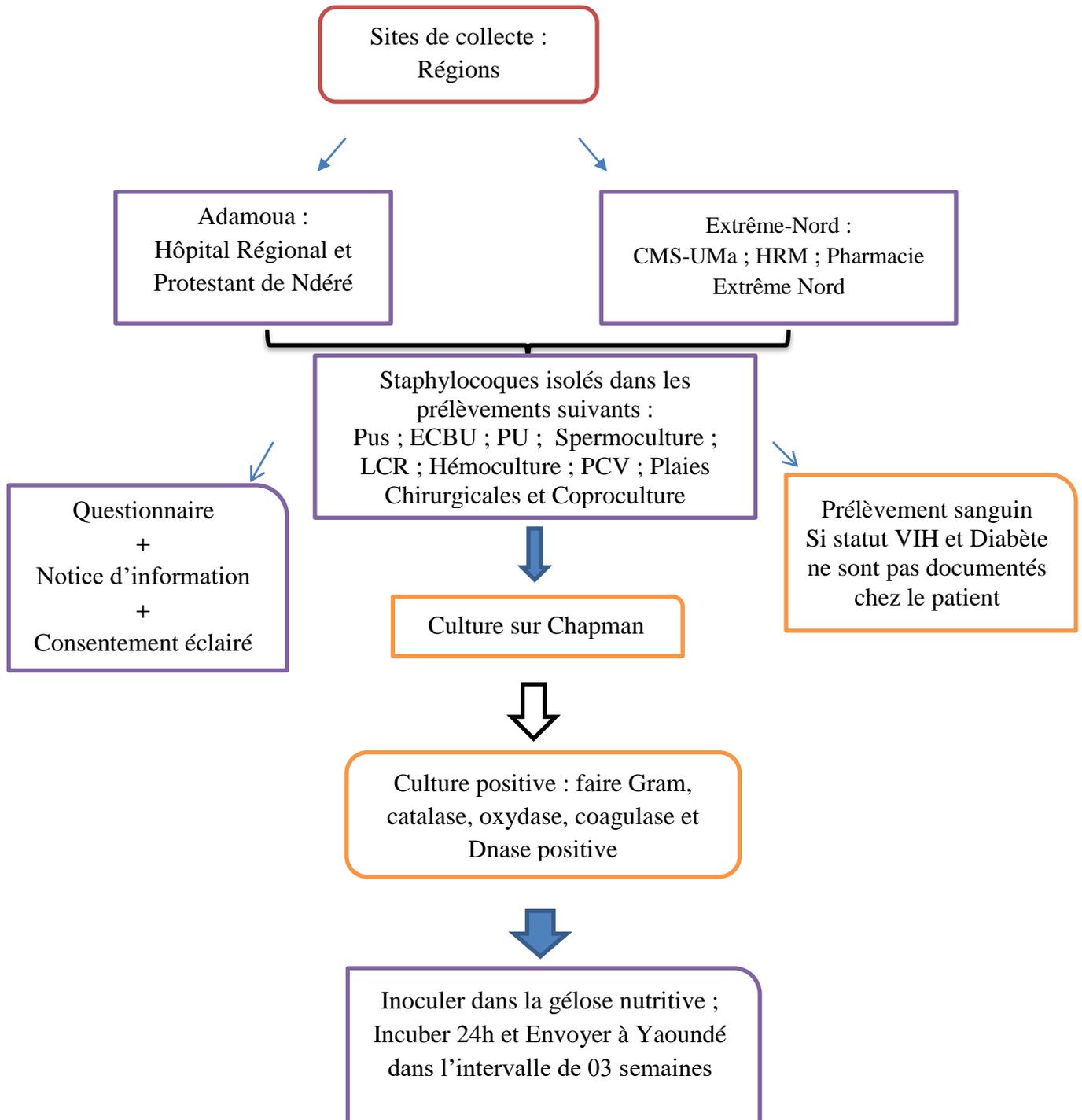
*La souche FPR3757 (isolat de l'espèce USA300, un MRSA ou methicillin resistant *S. aureus*) est ici représentée en bleu pour le contig, en vert les CDS forward, en violet les CDS reverse, en rose le contenu en GC et en orange le GC skew (Wattam *et al.*, 2017).*

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

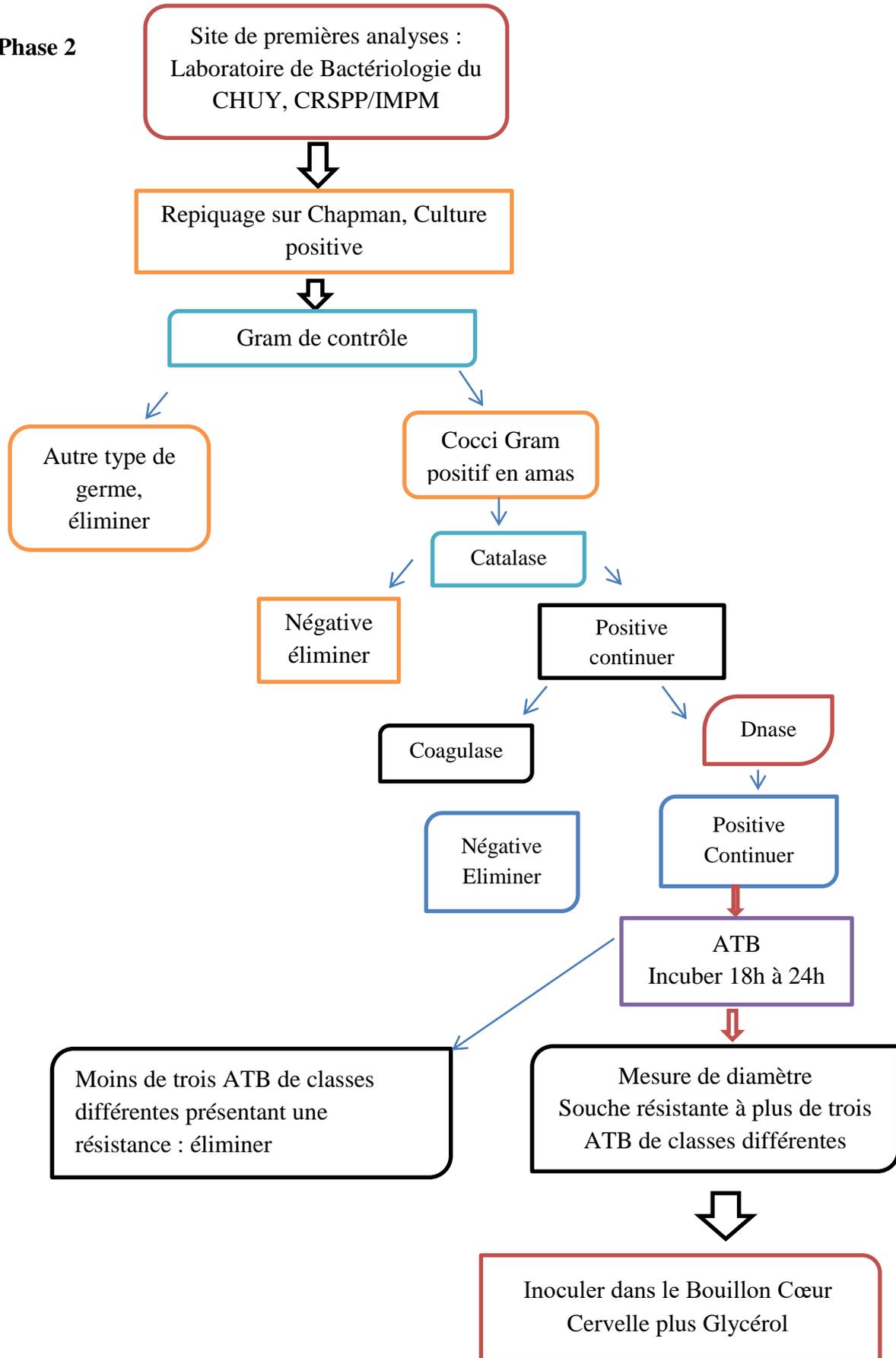
### Diagramme synoptique du protocole de recherche

Diagramme synoptique du protocole : le protocole peut être subdivisé en trois phases :

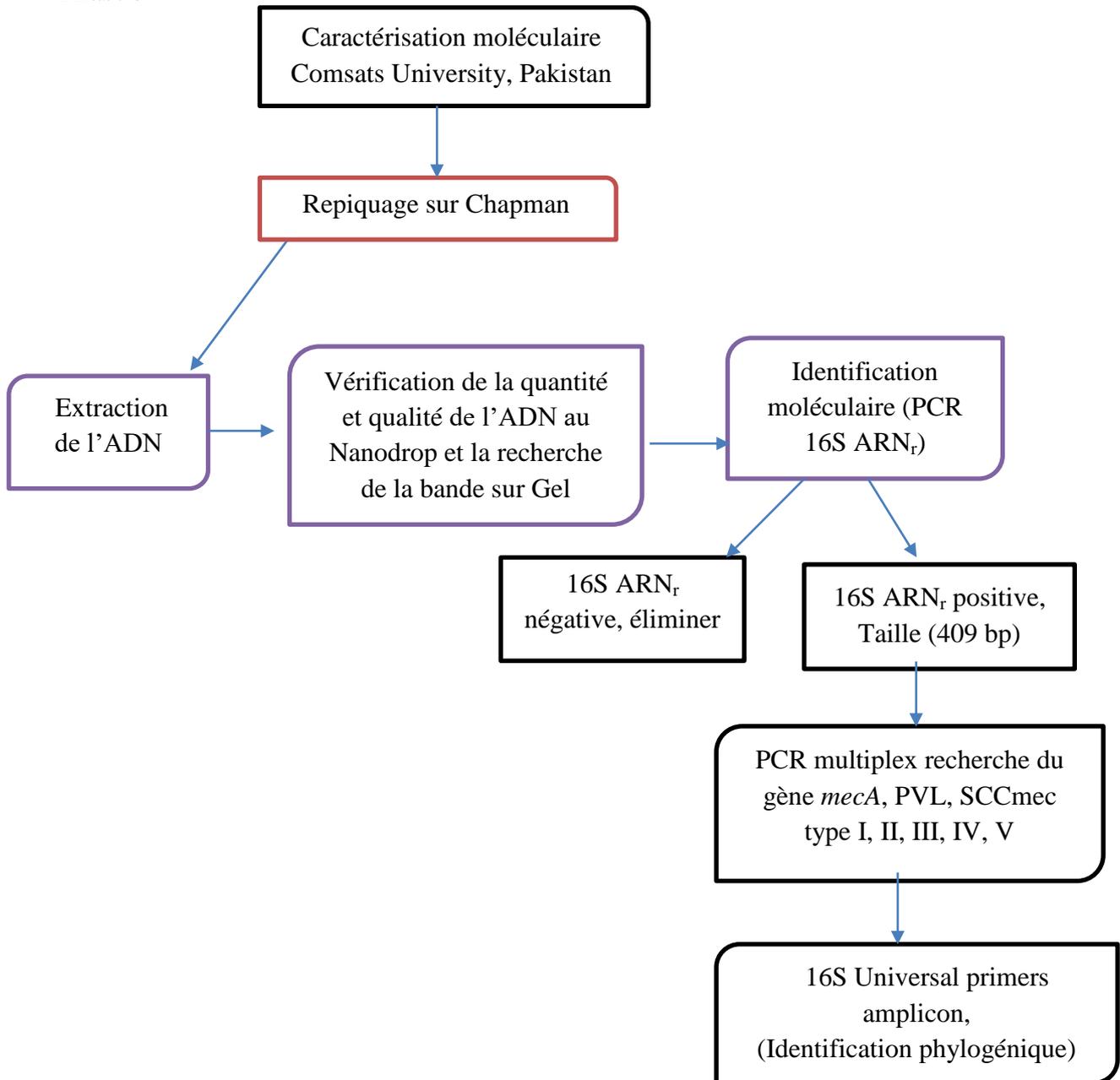
#### Phase 1



**Phase 2**



### Phase 3

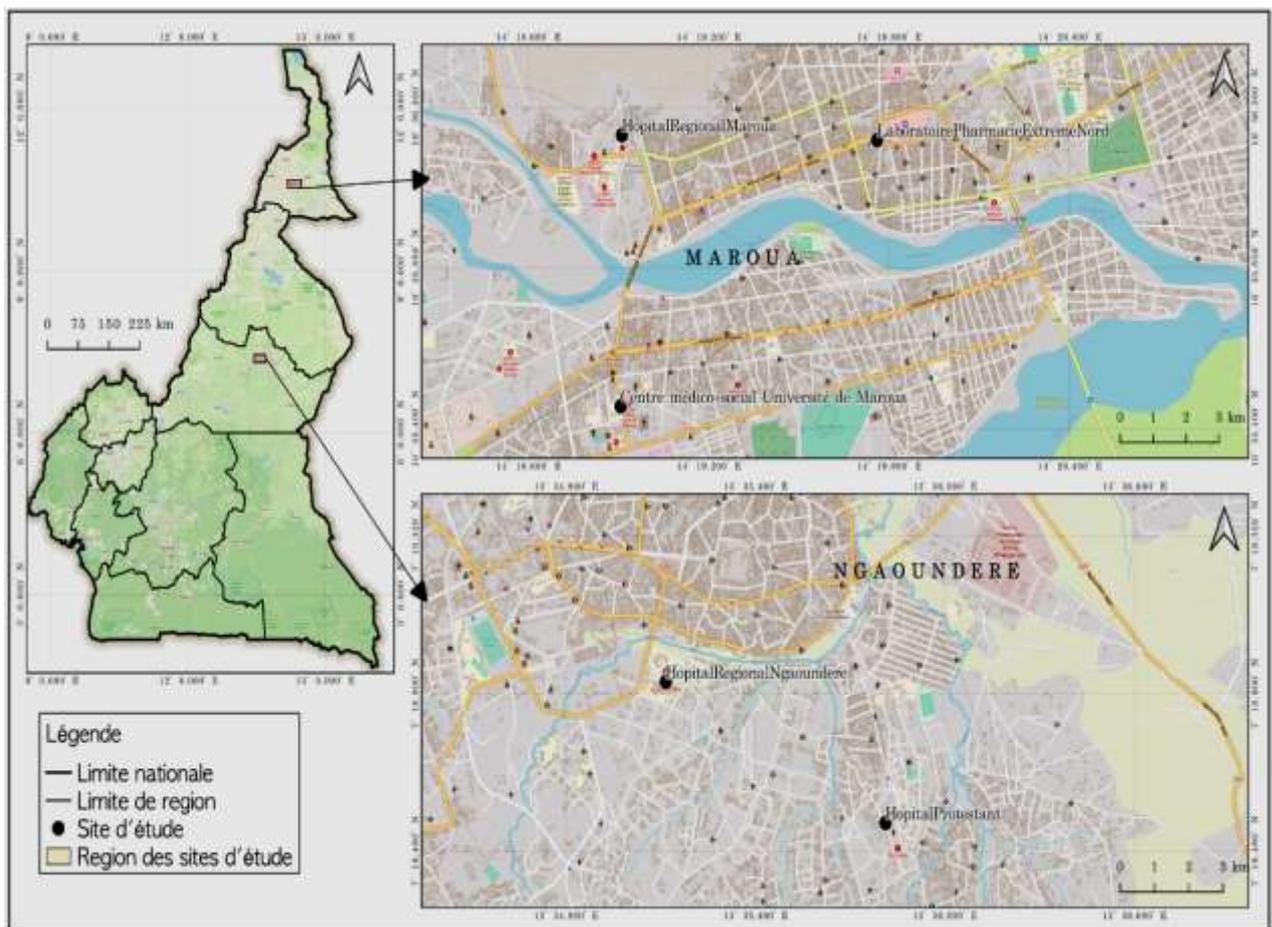


**Figure 10 : Diagramme synoptique du protocole de recherche**

## II-1- Présentation des Lieux de l'étude

La collecte a été effectuée dans 05 laboratoires des régions de l'Extrême-Nord et de l'Adamaoua que sont :

- Le Laboratoire de l'Hôpital régional de Ngaoundéré ;
- Le Laboratoire de l'Hôpital Protestant de Ngaoundéré ;
- Le Laboratoire de l'Hôpital régional de Maroua ;
- Le Laboratoire de la Pharmacie de l'Extrême-Nord à Maroua ;
- Le Laboratoire du Centre Hospitalier et Universitaire de Maroua.



(Réalisé par Steven TCHOUTO, Chargé de recherche IRGM/MINRESI)

**Figure 11 : Localisation des sites de l'Etude**

### II-1-1-Présentation de la région de l'Adamaoua

La région de l'Adamaoua est une unité administrative de la République du Cameroun, dotée d'une superficie de 63701 Km<sup>2</sup> avec environ 1200000 habitants pour une densité de 17

habitants/Km<sup>2</sup> (**Onana, 2018**). C'est l'une des régions les moins peuplées du Cameroun. Elle se situe entre les parties méridionales et septentrionales avec pour limites :

- Au sud, les régions du centre et de l'Est ;
- Au sud-Ouest, par les régions de l'ouest et du Nord-Ouest ;
- A l'ouest par la République Fédérale du Nigeria ;
- A l'est par la République Centrafricaine.

Son climat est tempéré et généralement très pluvieux avec des températures oscillant autour de 20°C et des précipitations dépassant 1500 mm<sup>3</sup> sur 7 mois, l'Adamaoua apparaît comme le château d'eau du Cameroun. Tout ce complexe géologique, climatique et hydrographique donne une végétation tampon entre la forêt au sud et la steppe au nord (**Segalen, 1995**). Mais cette végétation se dégrade progressivement pour devenir une savane herbeuse dans la plaine du nord. Le plateau de l'Adamaoua bénéficie d'un couvert végétal discontinu constitué dans certaines zones de graminées à base hyparrhénia, tandis que dans d'autres le panicum et le sporobolus s'imposent (**Onana, 2018**). Sur le plan administratif, La région compte cinq départements, vingt-et-un arrondissements et autant de communes. Ngaoundéré a été érigé en communauté urbaine en 2008, avec trois communes d'arrondissement.

#### **a) Présentation de l'Hôpital Régional de Ngaoundéré**

Situé dans la Région de l'Adamaoua, Département de la Vina, Arrondissement de Ngaoundéré I<sup>er</sup> plus précisément au quartier résidentiel, L'Hôpital Régional de Ngaoundéré (HRN) est classé par le Ministère de la Santé Publique au rang de 3<sup>ème</sup> référence et couvre toutes les formations sanitaires que compte la Région. Il est situé au Sud de la ville de Ngaoundéré, se dresse en véritable case centrale au sommet de la colline du quartier résidentiel. Il est situé dans le quartier résidentiel et limité au Sud par la CRTV, les logements du Délégué Régional de la Santé Publique et du Directeur de L'H.R.N, au Nord par la rivière SOUM-SOUM, à l'Est par la DRSP et le Centre de Santé Intégré de Boumdjéré et à l'Ouest par la délégation régionale d'ELECAM, l'hôpital se trouve dans l'Aire de Santé de Boumdjéré, du District de Santé de Ngaoundéré Urbain et couvre une superficie de près de 25000 m<sup>2</sup> (**Djibrilla Yaouba, 2014**).

L'HRN vit le jour en 1984 suite au décret présidentiel du N°68-DF-489 du 15 août 1968 qui, fixait l'organisation structurelle et le fonctionnement organique des formations hospitalières et sanitaires au Cameroun. Initialement, c'était une petite structure appelée l'Hôpital Départemental de Ngaoundéré. L'Hôpital Départemental devint l'Hôpital Provincial

du fait de la nouvelle réforme hospitalière. En 2008 l'Hôpital Provincial devint l'Hôpital Régional du fait de la régionalisation des provinces. A ce jour il est un grand complexe regorgeant plus de 15 services avec un personnel estimé à 227 titulaires tout Grade confondu.

### **b) Présentation de l'Hôpital Protestant de Ngaoundéré**

De son vrai nom L'Œuvre de Santé de l'Église Évangélique Luthérienne du Cameroun (EELC), l'Église Évangélique Luthérienne du Cameroun (EELC) est une organisation religieuse résultant des actions missionnaires respectivement de la Sudan Mission (1923) et de la Norwegian Mission Society (1925). Le travail d'évangélisation de ces deux missions a abouti à la création d'une Église locale dont l'évolution a donné l'Église Évangélique Luthérienne au Cameroun. C'est ainsi que dans le cadre de ses œuvres caritatives est né l'Hôpital Protestant de Ngaoundéré en 1948 et qui comprend dans sa globalité un hôpital de district, un centre de santé intégré, le Centre Luthérien d'Ophthalmologie, la clinique dentaire, le service d'approvisionnements en médicaments, le service de maintenance biomédicale et informatique, la cellule de lutte contre le VIH/SIDA, et, rattaché au bureau exécutif, le programme de lutte contre le VIH/SIDA. Il faut ajouter à cet hôpital toutes les institutions sanitaires se trouvant dans cette zone. Il s'agit des centres de santé intégrés de Bayara, Godé, Tagboum et Dang (EELC - Cameroun, 2021).

## **II-1-2- Présentation de la Région de l'Extrême-Nord et des sites de notre étude**

### **Présentation de la région de l'Extrême-Nord**

La région de l'Extrême-Nord est l'une des dix régions que compte le Cameroun. Ses spécificités sont fonction des aspects physiques et humains de cette région. Son relief est d'une diversité remarquable avec notamment les monts mandara à l'ouest dont le point culminant est le paysage lunaire de Rhumsiki d'une altitude moyenne de 700 m. Ce paysage est fait d'énormes blocs granitiques. Cette localité est la plus visitée parmi les sites touristiques de la région. Le climat qui y règne est du type tropical à longue saison sèche (Lienou *et al.*, 2003). Le harmattan souffle d'octobre à mars. Le cœur de la saison sèche se situe en janvier. Les vents du sud-ouest apparaissent timidement en juin, avant d'apporter la pluie en Aout et surtout en Septembre. La pluviométrie annuelle est de 811 mm<sup>3</sup>. Un climat favorable à la culture du coton et des céréales. En fonction des saisons, le paysage est caractérisé par la savane arborée, herbeuse et une steppe à épineux (Cameroon Water Partnership, 2007). La démographie de l'Extrême-Nord tient de sa diversité ethnique. Avec une population estimée à 3,4 millions de personnes en 2007, la région de l'Extrême-Nord est

l'une des plus peuplées du Cameroun avec 20% de la population totale. C'est également la région où la pauvreté est la plus marquée dont 30% de la population est pauvre. Le brassage des populations est important et l'on peut rencontrer dans certains milieux, des pays Kiridi, des commerçants Kanouri, des éleveurs peuls et arabe choas et des pêcheurs kotoko. Sur le plan administratif, la région de l'extrême-nord est composée de six départements dont la capitale régionale est Maroua. Située dans le nord du pays, c'est l'une des régions les plus peuplées du Cameroun. Elle est limitrophe de six régions du Tchad et deux Etats du Nigeria. Cette région couvre une superficie de 34 246 Km<sup>2</sup> (**Lienou *et al.*, 2003**).

### **b) Présentation de l'Hôpital Régional de l'Extrême-Nord**

L'hôpital Régional de Maroua à l'Extrême-Nord, au Cameroun est une formation sanitaire de 3<sup>ème</sup> catégorie, créé vers les années 1933 comme dispensaire. Il a pris le nom d'hôpital départemental en 1963 à l'époque où le Grand Nord fut encore en un seul bloc. En 1994 il est érigé en l'hôpital provincial de Maroua et en 2008 à la suite de la nouvelle réforme administrative, il devient hôpital régional de Maroua. Il a évolué progressivement pour se positionner aujourd'hui comme un hôpital de 3<sup>ème</sup> catégorie et de 2<sup>ème</sup> niveau de référence. C'est un hôpital qui sert de centre de référence pour les 03 hôpitaux régionaux annexes et les 21 hôpitaux de district et assimilés de la Région.

L'hôpital régional de Maroua est situé dans l'arrondissement de Maroua 2<sup>ème</sup> dans le quartier zokok sur la nationale kousseri. Pour sa situation géographique, il est limité :

- Au Nord : à côté du commissariat de Maroua 2<sup>ème</sup>, par le Centre de santé intégré de zokok et le Centre médical de la sûreté nationale ;
- Au Sud : à côté du service du gouverneur de l'Extrême-Nord et le service de la police, l'Equipe Spécial d'Intervention Rapide (ESIR) ;
- A l'Est : par la résidence présidentielle de l'Extrême Nord ;
- A l'Ouest : par la direction régionale de l'énergie du Cameroun (ENEO) de Maroua.

### **c) Présentation du Laboratoire de la Pharmacie de l'Extrême-Nord**

C'est un Laboratoire d'Analyses Médicales à but lucratif annexé à la Pharmacie de l'Extrême-Nord, il a été créé en 2011 ceci pour répondre aux besoins constants de la population et cliniciens car il faut le rappeler, avant sa création tous les examens bactériologiques nécessitant la culture étaient effectués au Centre Pasteur Annexe de Garoua.

### **d) Présentation du Centre Médicosocial de l'Université de Maroua**

Le Centre Médicosocial de l'Université de Maroua est né suite à la création de l'Université de Maroua en 2008. C'est un centre dédié à la prise en charge et aux visites systématiques des étudiants de l'Université de Maroua, mais par extension le centre reçoit aussi la communauté non estudiantine.

## II-2- Type et durée d'étude

Nous avons mené une étude transversale sur quatre ans entre 2018 et 2021. Elle est Structurée ainsi qu'il suit :

- Inscription en thèse : 2018,
- Obtention des autorisations de recherche 2018,
- Début effectif de collecte d'échantillons et première analyse : Avril 2019 à Octobre 2020.
- Réalisation de la partie moléculaire : Mai 2021 à Novembre 2021.
- Rédaction de la thèse et publication des articles : Novembre 2019 à Juin 2022.

## II-3- Taille de l'échantillon

La formule de Lorenz ci-après a été utilisée pour le calcul de la taille de l'échantillon.

$$n = t^2 \times \frac{p(1-p)}{m^2}$$

Avec :

**n** = taille d'échantillon requise

**t** = niveau de confiance à 95% (valeur type de 1,96)

**p** = prévalence estimative du taux de résistance de *Staphylococcus aureus*.

**m** = marge d'erreur à 5% (valeur type de 0,05).

A partir de cette formule nous avons calculé la taille de l'échantillon de notre étude. Pour la valeur de **p** nous allons considérer le taux de résistance de *Staphylococcus aureus* obtenu dans l'étude publiée par Agnès *et al.*, 2014 (**P**= 50.9 %) qui se rapproche le mieux de notre étude et des objectifs visés.

Ainsi pour t= 1,96, p= 0,509 et m=0,05 en appliquant la formule ci-dessus

$$n = 1,96^2 \times \frac{0,509 (1-0,509)}{0,05^2} = 384.$$

C'est pourquoi lors de cette étude nous avons arrêté la collecte à 380 souches.

## **II-4- Population de l'étude**

Notre population d'étude était constituée des patients âgés de 0 à 85 ans qui sont venus pour faire un examen au laboratoire ou dont les échantillons ont été prélevés et déposés au niveau des laboratoires des sites de l'étude ; le cas des patients hospitalisés par exemple.

### **II-4-1- Critères d'inclusion**

Etait inclus dans notre étude, tout patient venu pour un examen bactériologique au laboratoire d'un des sites de l'étude.

### **II-4-2- Critères de non inclusion**

- Les patients n'ayant pas donné leur consentement pour l'utilisation de leur échantillon ;
- Les femmes non enceintes faisant un PCV ou ECBU ;
- Les patients n'ayant pas répondu au questionnaire.

## **II-5-Considérations éthiques**

L'étude a été menée dans le strict respect de l'éthique et de la déontologie. En plus du questionnaire, une notice d'information présentant l'étude, les objectifs, les risques et les bénéfices du patient à participer à notre étude et un consentement éclairé pour obtenir l'avis du patient à participer ou non à l'étude ont été proposés aux patients. Les informations recueillies auprès des patients étaient confidentielles. Nous avons sollicité et obtenu une clairance éthique auprès du comité national d'éthique pour la recherche en santé humaine (N°2017/12/958/CE/CNERSH/SP).

## **II-6- Analyses statistiques**

Nos données ont été saisies et traitées sur Excel puis exportées dans le logiciel SPSS version 25.0 pour analyse. Les graphes ont été réalisés en utilisant Graphpad Prism version 5 et Origin Lab. L'analyse descriptive telle que la moyenne, les fréquences, l'écart type a été effectué par SPSS. Une P-value < 0.05 a été considérée comme statistiquement significative. NCBI et BLAST online library ont été utilisés pour la lecture des séquences et Mega11 pour l'interprétation et le tracé de l'arbre phylogénétique. Le calcul des indices exprimant la diversité génétique de nos souches, la diversité entre les halotypes et les tests de Tajima's D et Fu and Li's F a été faite par DnaSP.

## **II-7- Echantillonnage**

### **II-7-1- Procédures de collectes d'échantillons**

Nos échantillons ont été collectés de manière prospective sur les patients venus au laboratoire pour un examen bactériologique et aussi sur les patients hospitalisés chez qui un examen bactériologique a été prescrit. Une notice d'information, un consentement éclairé et un questionnaire étaient remis à chaque patient. Le questionnaire était subdivisé en quatre grandes parties : les données sociodémographiques du patient, les renseignements sur les antécédents d'hospitalisation du patient, les antécédents d'une prise d'antibiotique et le statut immunologique, c'est-à-dire l'infection au VIH, et le diabète considérés ici comme facteurs de risques associés (**Cf questionnaire en annexe**).

### **II-7-2- Description des techniques de prélèvement**

Les échantillons analysés dans le cadre de cette étude proviennent de 09 différents types de prélèvements cliniques que sont : Pus, Examen cytbactériologique des urines (ECBU), prélèvement cervico vaginal (PCV), Hémoculture, plaies chirurgicales, Prélèvement urétral (PU), Coproculture, Spermoculture et Liquide céphalo rachidien (LCR). Cependant, pour la détermination des facteurs de risque associés que sont le VIH et le diabète, des prélèvements sanguins ont été réalisés sur certains patients dont le statut sérologique n'était pas connu, de même que pour la réalisation d'une glycémie pour le dépistage du diabète. Dans les lignes qui suivent nous allons décrire chaque prélèvement :

- **Prélèvement du Pus** : le site de prélèvement a été d'abord nettoyé délicatement avec une compresse stérile, l'écouvillon est posé, puis frotté sur le site et remis doucement dans l'étui.

- **Prélèvement des Urines (Examen Cytobactériologique des Urines)** : le prélèvement est effectué avant la première miction de la journée. Un flacon stérile est remis au patient et nous lui expliquons la technique qui consiste à dire au patient de se nettoyer, laissé passer le premier jet d'urine et recueillir à partir du deuxième jet, et ensuite bien refermer le flacon après le prélèvement.

- **Prélèvement du sang (Hémoculture)** : la zone de ponction est nettoyée avec une solution antiseptique (alcool iodé) et attendre une à deux minutes pour que le désinfectant sèche, puis insérer soigneusement l'aiguille dans la veine du patient et prélever 10 ml de sang pour les adultes et 1-2 ml pour les enfants. En cas de prélèvements multiples, il est préférable de commencer par les flacons d'hémoculture. Le sang prélevé est immédiatement transféré dans

un flacon d'hémoculture contenant un milieu approprié pour la croissance des microorganismes.

- **Prélèvement urétral (PU)** : le prélèvement a été effectué avant la première miction de la journée du patient. Il consistait à presser légèrement le gland entre le pouce et l'index pour faciliter l'entrée de l'écouvillon dans le méat urinaire. Un écouvillon de prélèvement homme est introduit dans le canal urétral en faisant des mouvements hélicoïdaux, ressorti et réadapté, puis le prélèvement est acheminé au laboratoire.

- **Prélèvement des Plaies chirurgicales** : le prélèvement a été réalisé avant le pansement. Le site de prélèvement est d'abord nettoyé délicatement avec une compresse stérile. L'écouvillon est posé puis frotté sur le site et remis doucement dans l'étui.

- **Prélèvement des selles (Coproculture)** : dans le cadre de notre étude, ce sont les coprocultures des enfants de moins de 05 ans seulement qui ont été considérées. A cet effet, un pot des selles renfermant une cuillère à l'intérieur et transparent aux parents, qui recueillent les selles fraîches sans urine dans la boîte.

- **Prélèvement du Sperme (Spermoculture)** : la condition qui a été observée est que le patient devrait s'abstenir de tout rapport sexuel pendant trois jours. Un pot stérile est remis au patient qui donne le prélèvement, qui est par la suite acheminé au laboratoire.

- **Liquide céphalorachidien** : le prélèvement est effectué par les médecins demandeurs, nous recevons l'échantillon au laboratoire pour les analyses.

#### - **Prélèvement sanguin pour le test VIH**

Pour les patients qui ne connaissaient pas ou dont le statut sérologique n'est pas documenté, un test de VIH a été effectué. Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse à l'aide d'une seringue ou d'une aiguille vacutaner dans un tube EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique) portant le code du patient et acheminé au laboratoire. L'examen est réalisé sur une bandelette Determine 1/2. Le résultat négatif est directement rendu au patient et en cas de résultat positif, le patient est directement amené à l'UPEC pour une confirmation et une prise en charge.

#### - **Prélèvement sanguin pour la Glycémie à jeun**

Une glycémie à jeun est effectuée par prélèvement capillaire, ceci après avoir obtenu le consentement du patient, et aussi au cas où ce patient n'a pas effectué ce test depuis deux semaines. Par contre, s'il a déjà eu à le faire, le résultat du test réalisé dans les deux semaines

précédentes est considéré. Le prélèvement est effectué par une ponction capillaire au niveau du bout de doigt après avoir bien nettoyé ce dernier à l'aide du coton imbibé d'alcool et laissé séché jusqu'à la disparition complète de l'alcool. Une goutte de sang est recueillie directement par le glycomètre et le résultat est lu sur l'appareil après dix secondes. Lorsque le patient présente un taux de glycémie supérieur à la normale (0,6 à 1,10 g/L) suite à deux prélèvements, un autre prélèvement capillaire est effectué dans un tube fluoré et la glycémie est retestée sur un spectrophotomètre pour confirmation. Les patients diabétiques connus n'ont pas été prélevés, les valeurs lues sur leurs carnets ou fiche de suivi ont été considérées. Il faut préciser ici que nous avons sollicité et obtenu l'implication du personnel du service de Diabétologie de l'Hôpital régional de Ngaoundéré et de la Médecine générale de l'Hôpital Régional de Maroua à cet effet.

## **II-8- Procédure de traitement des échantillons collectés**

Nos échantillons ont été traités conformément aux protocoles appliqués dans ces laboratoires. Aux laboratoires, les échantillons à leur arrivée sont enregistrés et des cultures sont immédiatement effectuées. Les milieux de cultures sont utilisés en fonction de chaque prélèvement. Nous avons porté beaucoup plus notre attention sur le milieu Chapman (ou Mannitol salt agar) qui est un milieu sélectif pour *Staphylococcus aureus*. A chaque fois qu'il y a poussé sur ce milieu, deux à trois colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile puis ensemencées en pentes dans les tubes en verre et à vice dans lesquels la gélose nutritive a été préalablement coulée, puis placée dans l'étuve à 37<sup>0</sup> pendant 24 heures pour permettre la pousse normale de cette bactérie. L'échantillon est sorti et conservé entre 4 et 8°C ceci pour éviter la contamination par d'autres germes.

### **II-8-1- Transport des échantillons**

Les souches conservées dans la gélose nutritive ont été conditionnées dans un portoir et déposées dans une glacière puis transportées à Yaoundé au Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé dans un délai de trois (03) semaines.

### **II-8-2- Analyses des échantillons**

C'est à Yaoundé que la phase 2 de notre étude commence avec la ré identification des souches en repiquant sur la gélose Chapman (Bio Rad, France) et en incubant à 37<sup>0</sup> C pendant 18 à 24 h. Après l'incubation, la réidentification a été faite en se basant sur : la morphologie de la colonie, un Gram de contrôle, la catalase, la coagulase, la Dnase et la sensibilité à la Novobiocine qui a été observée au lendemain lors de la lecture de l'antibiogramme. Pour la

réalisation de ces tests, nous avons fait recours à des milieux de culture et des réactifs biochimiques. Dans les lignes qui suivent, nous allons décrire comment ces milieux ont été préparés et comment les tests ont été réalisés.

### **II-8-3- Préparation des milieux de culture**

#### ➤ **Gélose nutritive :**

Cette gélose a été utilisée pour le transport de nos échantillons des sites de collectes vers Yaoundé où les analyses ont été réalisées.

Pour la préparation de ce milieu, 38 g de milieu est requis pour 1000 mL d'eau distillée. Le milieu a été pesé avec une balance sensible, dissout dans un volume d'eau distillée requis, chauffé sur une plaque chauffante jusqu'à ébullition, laissé refroidir un peu et transvasé dans les différents tubes à vice en raison de 1 mL pour chaque tube. Les tubes sont rangés dans un portoir en fer et ensuite stérilisés à l'autoclave. Une fois la stérilisation achevée, le portoir est incliné sur la paillasse afin de créer la pente requise lors de la solidification du milieu.

#### ➤ **Milieu Chapman (Mannitol salt agar) :**

C'est un milieu sélectif pour les Staphylococoques. Il a été utilisé dans notre étude pour l'isolement de nos souches.

Pour ce type de milieu, 111 g de milieu sont requis pour 1000 mL d'eau distillée. La quantité de milieu à préparer a été mesurée par une balance sensible et le volume d'eau nécessaire par une fiole jaugée. Le mélange est chauffé sur une plaque chauffante puis stérilisé à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes et enfin coulé dans les boîtes de pétri.

#### ➤ **Préparation de la Dnase :**

C'est un milieu utilisé pour déterminer un des caractères d'identification de *Staphylococcus aureus*.

Pour ce type de milieu, 39 g de milieu sont recommandés pour 1000 mL d'eau distillée. La quantité de milieu à préparer a été mesurée par une balance sensible et le volume d'eau nécessaire par une fiole jaugée. Le mélange est chauffé sur une plaque chauffante puis stérilisé et enfin coulé dans les boîtes de pétri.

#### ➤ **Préparation du milieu Muller Hinton :**

Ce milieu a été utilisé dans notre étude pour la réalisation de l'antibiogramme.

Pour ce type de milieu, 38 g de milieu sont recommandés pour 1000 mL d'eau distillée. La quantité de milieu à préparer a été mesurée par une balance sensible et le volume

d'eau nécessaire par une fiole jaugée. Le mélange est chauffé sur une plaque chauffante puis stérilisé et enfin coulé dans les boîtes de pétri.

Nous voulons préciser qu'après la préparation de ces milieux de culture, 10 % des boîtes obtenues pour chaque type de milieu ont été mis dans l'incubateur à 37° pendant 24h pour le test de stérilité. Après l'incubation, nous vérifions chaque boîte ; il ne doit avoir aucune pousse visible sur ces milieux pour que le lot soit validé et utilisé.

#### **II-8-4- Description des techniques d'identifications réalisées**

Les souches conservées ont étéensemencées sur le milieu Chapman.

La procédure suivante a été observée pour la réidentification.

##### **II-8-4-1- Gram de Contrôle**

La coloration de Gram permet de déterminer le type de bactéries : Gram (négatif ou positif) et la morphologie de bactéries : bacilles ou cocci. Ce Gram a été réalisé pour nous rassurer que la souche est effectivement un staphylocoque. Elle était effectuée en respectant la procédure.

##### **✓ Procédure**

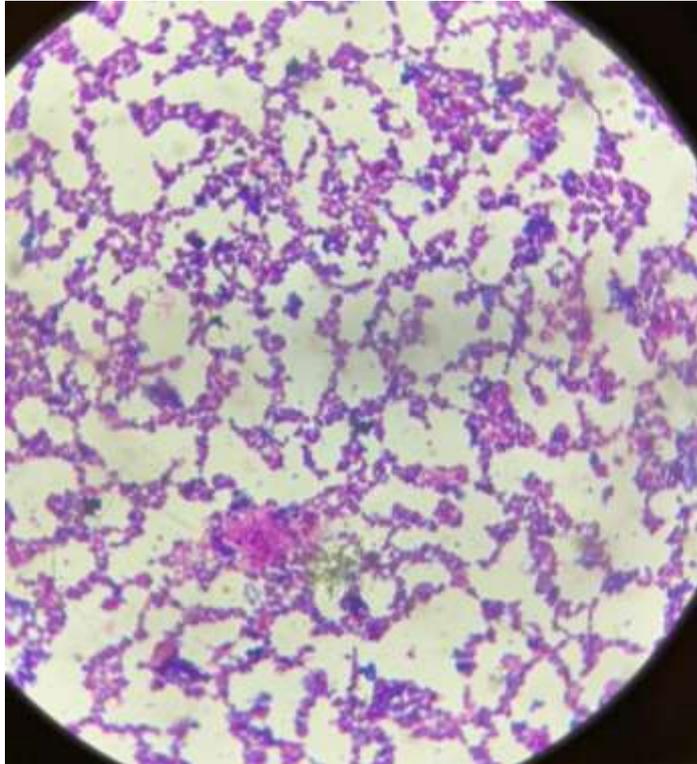
Une quantité de 0,5 ml d'eau physiologique stérile était prélevée à l'aide de la Pipette stérile puis déversée dans le tube à hémolyse stérile. Une bonne colonie suspecte bien isolée est piquée et mélangée à l'eau physiologique stérile dans le tube à hémolyse qui est bien homogénéisé. Deux gouttes de la suspension sont déposées sur la lame stérile et laissées sécher, puis fixées et ensuite réaliser la coloration de Gram selon la procédure suivante (OMS, 2013) :

- L'étalement a été recouvert de la solution de Cristal Violet pendant 1 minute ;
- Laver à l'eau en transvasant les lames ;
- Les lames ont été recouvertes du Lugol pendant 1 minute ;
- Laver à nouveau à l'eau ;
- Les lames ont été décolorées à l'alcool jusqu'à disparition de la couleur violette en faisant couler l'alcool goutte à goutte sur la lame inclinée ;
- Puis laver immédiatement à l'eau ;
- Et enfin les lames ont été recouvertes de la solution de safranine (Fuschine) qu'on a laissé agir pendant 45 secondes ;
- Laver à l'eau et sécher à l'air, et observer à l'objectif 100X, en immersion avec de l'huile.

##### **✓ Lecture**

La lecture du gram était faite à objectif 100X au microscope optique à l'huile à immersion.

Le *Staphylococcus aureus* se présente sous forme de cocci Gram positif disposés en amas ou grappe de raisin comme l'indique la figure ci-dessous.



**Figure 12: Illustration des colonies de *S. aureus* après coloration au Gram. (Présente étude).**

#### **II-8-4-2- Test de la Catalase**

Après la coloration de Gram, c'est le test de la catalase qui a été réalisé. Ce test nous a permis de différencier les Staphylocoques des Streptocoque qui sont également des cocci Gram positif. Les Staphylocoques sont catalase positive. Le principe de ce test est basé sur le fait que certaines bactéries produisent une catalase pour dégrader le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) produit au cours de leur métabolisme en oxygène ( $O_2$ ) et en eau ( $H_2O$ ) selon l'équation suivante (**England Department of Health, 2016**) :

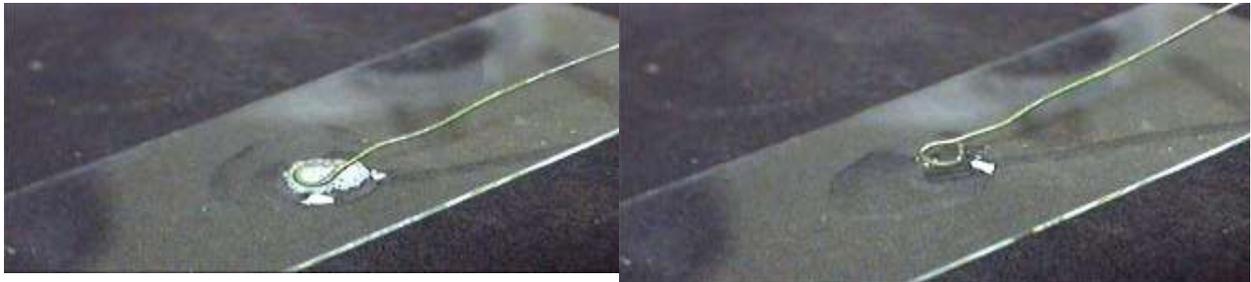


### ✓ Procédure

Nous prenons une lame porte objet neuve, après l'avoir dégraissées, trois à quatre gouttes de  $\text{H}_2\text{O}_2$  sont déposées sur cette lame. Une colonie suspecte bien isolée, identique à celle qui a servi au Gram, est prélevée et déposée sur les gouttes, puis la réaction est observée.

### ✓ Interprétation

- La présence de bulles ou mousse est signe d'un test positif,
- L'absence de bulles ou mousse est signe d'un test négatif.



**Catalase + : Présence de bulle d'air ou de mousse**      **Catalase - : absence de bulle d'air.**

**Figure 13: Réaction de catalase (Présente étude)**

### II-8-4-3- Test de la coagulase

C'est des tests qui permettent de différencier *Staphylocoque aureus* des autres Staphylocoques (*S. saprophyticus*, *epidermidis* entre autres).

#### ✓ Principe :

*Staphylococcus aureus* produit une coagulase qui, en présence du fibrinogène présent dans plasma entraîne une coagulation.

#### ✓ Procédure

Le plasma a été utilisé à cet effet. Pour chaque échantillon deux tubes ont été préparés, mettre un volume de 1,5 mL du plasma dans le tube A et le même volume dans le tube B utilisé comme témoin négatif. Deux à trois colonies pures ont été prélevées et écrasées dans le tube A, bien homogénéiser le mélange au vortex et incubé dans l'étuve pendant 6 heures. La formation d'un caillot ou motte dans la partie supérieure du tube A signifie une réaction positive, et si rien ne se forme, c'est-à-dire si le mélange reste intact avec une même turbidité

que le témoin, la réaction est négative. En cas d'une réaction négative, la durée d'incubation a été prolongée à 24 heures.



**Test positif : présence de caillot**



**Test négatif : absence de caillot, idem pour le témoin**

**Figure 14: Illustration réaction de la coagulase (Présente étude)**

#### **II-8-4-4- DNase : désoxyribonucléase**

Ce test a été utilisé comme second test d'identification de *Staphylococcus aureus*. Cette technique est basée sur le fait que, certaines bactéries élaborent une exo-enzyme capable d'hydrolyser l'acide désoxyribonucléique (ADN) : la désoxyribonucléase (DNase). La mise en évidence de cette DNase a été effectuée par une culture de la souche de *Staphylococcus* sur ce milieu en effectuant une croix sur le milieu et à détecter l'hydrolyse éventuelle de l'ADN grâce au Chlorure d'Hydrogène (HCl), qui a la propriété de précipiter l'ADN (**Kateete et al., 2010**).

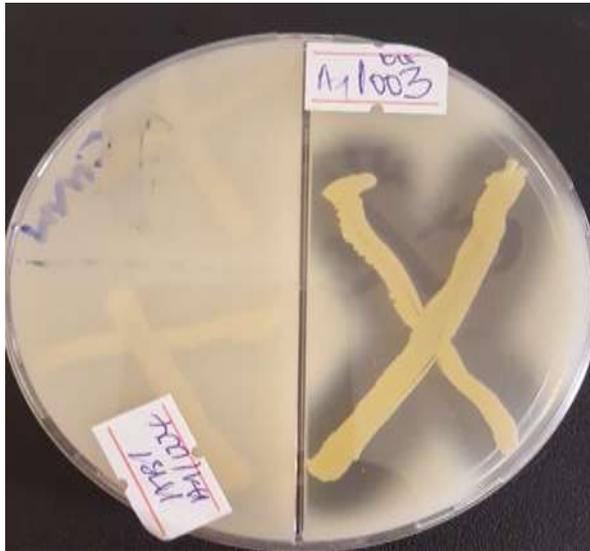
#### **✓ Procédure**

- Nous avonsensemencé une colonie sur le milieu DNase déjà préparé, en faisant une croix, la boîte est ensuite incubée à 37<sup>0</sup> C pendant 24 à 48 heures ; puis la colonie ayant poussé sur le milieu après incubation a été recouverte de l'acide chloridrique (HCl) dilué au 1/10<sup>ème</sup>. L'excédent de HCl a été réaspiré, et nous avons attendu cinq minutes (05 min) avant la lecture.

#### **✓ Lecture**

La lecture du résultat a été effectuée sur un fond noir question de mieux déceler l'hydrolyse.

- La formation d'un halo d'éclaircissement autour de la culture signifie que l'ADN a été précipité par l'HCl, sauf autour de la culture qui l'a hydrolysé. En conclusion, la souche est DNase positive.
- Le milieu entièrement opaque, l'ADN a été précipité par HCl et n'a donc pas été hydrolysé. En conclusion : la souche est DNase négative.



**Figure 15: Illustration de Dnase (Présente étude)**

## II-9- Réalisation de l'antibiogramme

### II-9-1-Résistance aux antibiotiques utilisés contre *S. aureus*

#### ✓ Procédure :

La Méthode de diffusion sur milieu gélosé a été utilisée. Selon les étapes suivantes :

A partir d'une culture de 18-24 heures sur une gélose Chapman, quelques colonies (3 à 5) ont été prélevées à l'aide de pipette Pasteur puis émulsionnées dans 5 ml d'eau physiologique stérile (0,9% de NaCl). Le mélange était passé au vortex afin de bien l'homogénéiser. La turbidité a été mesurée au densitomètre (0,5 Mac Farland était requis pour chaque échantillon).

L'inoculum est ensuiteensemencé par écouvillonnage, qui consiste à plonger l'écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne, puis à procéder à l'ensemencement (l'excédent était rejeté en tournant l'écouvillon sur les parois du tube). L'écouvillon a été étalé sur la totalité de la surface de la gélose en écouvillonnant dans trois directions (en faisant un angle d'environ 60°C entre chaque direction); puis les disques ont été déposés en utilisant une pince stérile.

✓ **Antibiotiques testés et Disposition des disques :**

Les disques ont été déposés fermement à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface était étroit. Une fois déposés, les disques ne peuvent plus être déplacés car la diffusion est très rapide. La disposition était de telle sorte que nous puissions observer les synergies et cela nous a permis aussi à relever la résistance phénotypique.

**Tableau I: Antibiotiques testés par famille et charge des disques (CA SFM, 2020)**

<b>Antibiotiques</b>	<b>Charge du disque (µg)</b>	<b>Familles</b>
Amoxicilline + Acide Clav (AMC)	30	Pénicillines
Oxacilline (OX)	5	
Pénicilline (P)	10	
Céfoxitine (FOX)	30	Céphalosporines
Ciprofloxacin (CIP)	5	Fluoroquinolones
Ofloxacin (OFX/OF)	5	
Gentamicine (GEN/GM)	10	Aminosides
Erythromycine (E)	15	Macrolides /
Lincomycine (L/MY)	15	Lincosamides
Pristinamycine (PR/PT)	15	
Tétracycline (TET)	30	Tétracyclines
Minocycline (MNO/MI/MN)	30	
Cotrimoxazole (SXT/STM)	75	Autres
Rifampicine (RA/RD/RIF)	30	
Acide fusidique (FA/FC/FD)	10	
Vancomycine (VA)	30	Glycopeptides

A la fin de l'incubation, le diamètre d'inhibition de la croissance autour des disques a été mesuré en utilisant un pied à coulisse. Ces diamètres relevés ont permis de classer les souches en trois catégories : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

Il faut préciser ici que la souche ATCC 29213 a été utilisée pour le contrôle qualité de nos disques.

## II-9-2- Procédure de la détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) des souches résistantes à la vancomycine

La vancomycine est la molécule utilisée en dernier recours indiquée dans le traitement des infections à SARM. Leur poids moléculaire rend parfois de fausse résistance. De ce fait, tous les isolats résistants à la Vancomycine par la méthode de disques ont été ré testés par la méthode de CMI en milieu liquide.

Pour rappel, la CMI est la plus faible concentration capable d'inhiber *in vitro* la croissance visible d'un microorganisme au cours d'une période définie. Nous avons déterminé cette CMI par la méthode de dilution en milieu liquide (**Garnier *et al.*, 2002**).

### II-9-2-1-Préparation de la gamme d'antibiotique

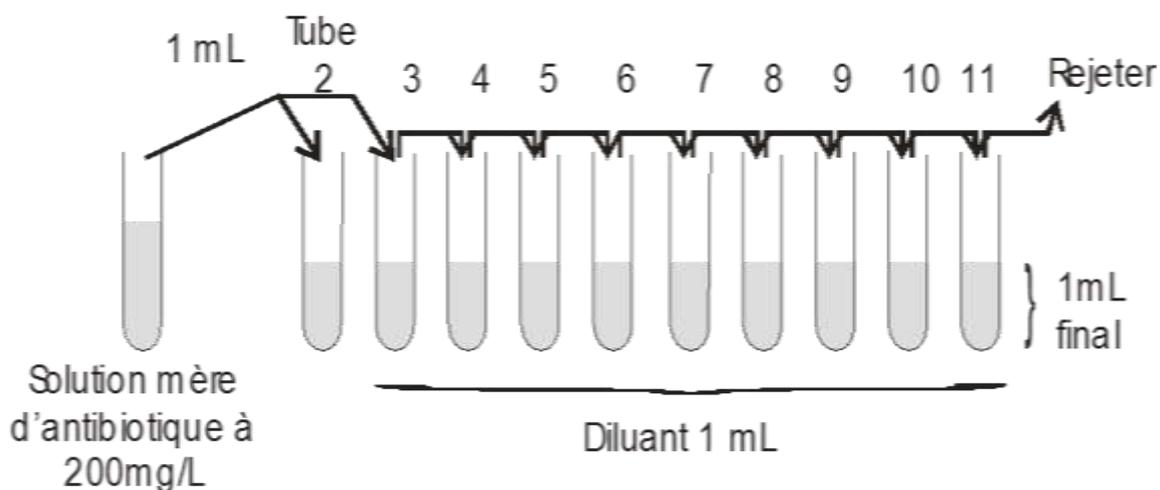
La dilution de l'antibiotique était faite par la préparation de 0.032g de la vancomycine mère avec 1 L d'eau distillée ; ce qui nous donne une concentration de la solution stock de départ de 32mg/L. Ensuite, 1mL d'eau distillée était introduit dans chaque tube puis 1ml de la solution mère de vancomycine était introduit dans le premier tube et de ce tube, nous avons commencé les dilutions jusqu'à obtenir 1ml final dans chaque tube. Ces dilutions ont été préparées suivant la relation d'équilibre  $C_i V_i = C_f V_f$  où :

$C_i$ = concentration de la solution mère

$V_i$ =volume à prélever de la solution mère

$C_f$ =concentration de la solution finale désirée

$V_f$ = volume final



CA-SFM, 2020, Freney *et al* 2006).

## **Figure 16: Préparation des gammes d'antibiotiques**

### **II-9-2-2-Préparation de la suspension bactérienne**

L'inoculum a été préparé à partir d'une souche bactérienne jeune de 18 à 24 heures. On a prélevé une à deux colonies de la bactérie à étudier à l'aide d'une anse de platine que l'on a introduite dans un tube à bout rodé contenant 5 ml d'eau physiologique stérile et on a formé une suspension. Ensuite, l'opacité de l'inoculum a été ajustée à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de Mac Farland. Puis on a prélevé 10µl de l'inoculum qu'on a introduit dans 10mL de bouillon MH.

### **II-9-2-3-Distribution des suspensions dans la gamme de dilution d'antibiotiques**

Dans chaque tube à hémolyse contenant une concentration en antibiotique précise, ajoutons 1ml de suspensions bactériennes et homogénéiser au vortex ; puis celles-ci sont incubées à 37° C entre 18 - 24 heures. Le témoin positif est le tube à hémolyse contenant 1ml d'eau distillée stérile sans antibiotique et 1ml de suspensions bactériennes, et le témoin négatif est le tube à hémolyse contenant 1mL de MH stérile c'est-à-dire non ensemencé et 1mL d'eau distillée stérile sans antibiotique.

### **Lecture et interprétation des résultats**

Après incubation à 37° C pendant 18 à 24 h, il était important de vérifier le témoin de croissance positif et le témoin négatif pour valider notre test. Ces témoins nous ont permis de déterminer les CMI par comparaison avec les autres tubes à hémolyse. La CMI était indiquée par le tube qui avait la plus faible concentration d'antibiotique et où aucune croissance n'était visible. Cette croissance était marquée par l'observation d'un trouble dans le tube et en absence de croissance le mélange dans le tube était limpide. Le résultat était donc noté :

- Sensible si la CMI ≤ 1 mg/L ;
- Résistant si la CMI > 1 mg/L.

### **II-10- Réalisation de la partie moléculaire**

Cette partie a été réalisée au Laboratoire de Microbiologie du Département de Biosciences de COMSATS UNIVERSITY, Islamabad au Pakistan grâce au financement du The World Academy of Science (TWAS) avec la collaboration du COMSATS University. Cette partie a consisté à : le repiquage des isolats sur le Mannitol Salt Agar (Chapman), après 18h à 24h d'incubation à 37°C, puis l'extraction de l'ADN bactérien de nos isolats, l'identification moléculaire de *S. aureus* par la recherche du gène 16S *ARNr*, la détection du

gène de résistance *mecA* et des facteurs de virulence *PVL*, la détection des *SCCmec* types I, II, III, IV, V et l'identification phylogénétique.

### **II-10-1- Extraction de l'ADN bactérien**

La méthode basée sur le protocole d'un kit a été adoptée et utilisée. Le Kit Solis BioDyne (Solis BioDyne, Estonia) a été utilisé à cet effet selon les étapes suivantes :

Les souches ont été repiquées sur la gélose Mannitol salt agar (Oxoid UK) et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures ;

Nous avons mis 500 µL de la solution Phosphate Buffer Saline (PBS) dans un tube à Eppendorf stérile (pour la préparation, une tablette de Phosphate Buffer Saline est dissoute dans 100 mL d'eau distillée et autoclavé afin de le stériliser). Les jeunes colonies homogènes de la veille ont été prélevées à l'aide d'une anse à platine stérilisée à la flamme et dissoutes dans ce volume de PBS. Ce travail a été effectué sous la hotte à flux laminaire pour éviter toute contamination.

Après avoir mis les colonies dans le PBS, nous avons homogénéisé le mélange et centrifugé à 12000 tours/minutes pendant 01 minute ;

Le surnageant a été rejeté et nous avons mis de nouveau 500 µL de PBS et centrifugé à 12000 tours/minutes pendant 01 minute ;

Le surnageant est rejeté une fois de plus et nous avons ajouté 500 µL de la solution A, puis 20 µL de la ARNase A ;

Les tubes ont été placés dans un bain marie à 55°C pendant 10 minutes ;

Puis nous avons retiré les tubes et ajouté 20 µL de la protéinase K et replacé de nouveau les tubes dans le bain marie pendant 30 minutes tout en homogénéisant toutes les 10 minutes et ensuite centrifugé à 12000 tours/minutes pendant 10 minutes ;

Le surnageant a été retiré et mis dans un nouveau tube Eppendorf et 500 µL de solution B a été ajouté et mixé ;

Les tubes ont été replacés de nouveau dans le Bain marie pendant 5 minutes puis retirés et nous avons ajouté 500 µL de l'éthanol pure.

Les colonnes ont été retirées du kit, étiquetées par la suite, et 700 µL du mélange est prélevé, ajouté dans la colonne et centrifugé à 12000 tours pendant 02 minutes ;

Le liquide recueilli au fond est rejeté et 700 µL du mélange initial est ajouté de nouveau, centrifugé une fois de plus pendant 02 minutes à 12000 tours/minute et le volume recueilli est rejeté ;

Mettre dans la colonne 700  $\mu\text{L}$  de washing buffer et centrifuger à 12000 tours/minutes pendant une minute et encore 500  $\mu\text{L}$  de washing buffer et centrifuger pendant 01 minute, rejeter à chaque fois le volume recueilli.

Enfin, nous avons étiqueté des nouveaux tubes Eppendorf, les colonnes ont été retirées et déposées dans ces tubes puis 70  $\mu\text{L}$  d'Elution buffer ont été prélevés et mis dans chaque tube, laissés reposer à température ambiante pendant 2 minutes et centrifugés à 12000 tours/minutes pendant 02 minutes. Ces tubes sont donc conservés avec nos extraits d'ADN.

Il faut relever qu'après la procédure d'extraction, nous avons effectué une double vérification pour savoir si effectivement l'ADN bactérien a été extrait ; les deux techniques sont :

➤ Recherche de la bande par électrophorèse sur gel d'Agarose en respectant les points suivants :

Nous avons préparé le gel d'Agarose à 1% (0.3 g d'agarose pour 30 mL du Tampom TAE 1X protocole complet cf annexe 1 et 2) bien mélangé et chauffé pendant 30 secondes ;

Le mélange a été retiré et laissé refroidir pendant quelques minutes puis 0.7  $\mu\text{L}$  du Bromure d'éthylène a été ajouté et mélangé puis coulé dans le dispositif (Bac à gel préalablement apprêté à cet effet).

Nous avons laissé solidifier pendant 25 minutes, la peigne a été retirée (vérifier que les puits se sont formés et que ces derniers ne sont pas endommagés) ;

Le gel a été plongé dans le bac de migration ensuite, une bande adhésive est placée sur un fond stérile puis les gouttes d' 0,3  $\mu\text{L}$  de loading dye ont été déposées pour autant d'échantillons que nous avons ; 5  $\mu\text{L}$  d'extrait d'ADN ont été prélevés et mélangés au loading dye puis déposés dans chaque puits.

Après avoir chargé tous les puits avec autant d'échantillons programmés, nous avons refermé délicatement le bac et lancé la migration (paramètre Voltage 100 Volt, Intensité du courant 300 mA pendant 30 minutes) ;

Après les 30 minutes, le moniteur est arrêté et le gel retiré puis observé. Si la bande apparait au fond du puits :

➤ Vérification de la quantité et qualité de l'ADN extrait par le Nanodrop :

La procédure consistait à : mettre en marche l'appareil, programmé le type de réaction, qui est ici la quantification de l'ADN. Nous avons placé le lecteur, pipeter 2  $\mu\text{L}$  de PCR water qui constitue le blanc, recouvert avec le Lig factor de 50 et lancé la lecture (la valeur doit être de 0.000) avant de continuer, puis nous avons fait passé les échantillons l'un après

l'autre en pipetant 1.5 µL de l'ADN à quantifier (la quantité d'ADN doit être supérieur à 200 ng/µL et le rapport qualité supérieur à 1.5).

## II-10-2- Identification moléculaire du *S. aureus*

Après l'extraction de l'ADN bactérien et la vérification de la quantité et de la qualité de cet ADN ; la recherche du gène 16S *ARNr* a été faite par PCR en utilisant les amorces

Suivants :

Foward primer (*S. aureus* F) 5'-ATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC-3' et

Reverse primer (*S. aureus* R) 5'-CGTCATCCCCACCTTCCTCC-3'

Selon les étapes suivantes :

La solution du travail a été d'abord préparée selon le volume 10 µL de *S. aureus* F plus 90 µL de l'eau de PCR, stérile le même volume a été préparé pour le *S. aureus* R,

Les cryotubes à PCR ont été utilisés, pour chaque échantillon, 09 µL de l'eau de PCR a été introduite dans le tube puis 01 µL de chaque amorce F et R en suite 05 µL d'extrait de l'ADN puis 04 µL du Master Mix (il faut relever ici que c'est le Master Mix Solis Bio Dyne qui a été utilisé, il est déjà préfabriqué et contient tous les éléments nécessaires) pour un volume total de 20 µL. Le mélange est vortexé et centrifugé pendant 10 secondes à 3000 tours/min pour garantir une bonne homogénéité.

Le mélange est ensuite mis au thermocycleur selon les conditions suivantes :

**Tableau II: Programme d'amplification pour la recherche du gène 16S de l'ARNr**

Etapes	Température	Temps	Nombre de cycles
Pré- dénaturation	94°C	5 Minutes	
Dénaturation	94°C	45 Secondes	
Hybridation	60°C	40 Secondes	30 cycles
Elongation	72°C	60 Secondes	
Elongation finale	72°C	10 Minutes	
Conservation	4°C	∞	

**Pré-dénaturation :** c'est une étape de chauffage qui permet d'homogénéiser le milieu réactionnel par agitation thermique, de déshybrider les ADN double brin, d'activer les polymérase de type « *Hot Start* », et de dénaturer d'autres enzymes qui pourraient être dans la solution.

**Dénaturation** : Elle permet de dénaturer l'ADN, de décrocher les polymérase qui seraient encore liées à une matrice.

**Hybridation** : Elle permet aux amorces sens et anti-sens de s'hybrider aux ADN matrice.

**Elongation** : Elle permet aux polymérase de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice.

**Elongation finale** ; Cette étape permet aux élongations de se terminer, puis le thermocycler retombe à 4°C ce qui va permettre de stopper la réaction puisque plus aucune enzyme n'est activée à cette température.

A la fin de l'amplification, un gel d'agarose de 1% a été préparé avec 0,7 µL de Bromure d'éthylène. Après solidification, le gel était retiré et plongé dans le bac de l'électrophorèse contenant le tampon TAE 1X, à l'aide d'une micropipette et des embouts stériles, 05 µL de poids moléculaire 500bp ont été introduit dans le premier puits du gel puis le contrôle négatif, suivi du control positif et en suite 07 µL de chaque produit de PCR. L'intensité du courant de l'appareil a été réglé à 300 mA pendant 30 minutes ceci à 90V. A la fin de la réaction, le gel a été observé à fluorescence verte et exposé aux UV pour détecter les bandes. La taille de l'amplicon de 409 bp indique la présence de *S. aureus* (McClure-Warnier *et al.*, 2013).

### II-10-3- Détection du gène *mec A* et des facteurs de virulence PVL (PCR Multiplex)

Pour cette étape, un PCR multiplex a été réalisé :

Le caractère génotypique de la résistance à la méthicilline a été faite en recherchant le gène *mecA* sur nos isolats. Les extraits d'ADN de ces isolats ont a été amplifiés à l'aide des amorces *mecA1* (5'-GTAGAAATGACTGAACGTCGGATAA-3') et

*mecA2* (5'-CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA-3')

Le facteur de virulence Panton Valentine de Leucocidine a été mis en évidence dans le cadre de notre étude pas directement mais en recherchant les gènes *LukS-PV* et *LukF-PV* qui caractérisent ce facteur.

*LukS-PV* (5'-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA-3') et

*LukF-PV* (5'-GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAAGC-3')

Ceci parce que nos isolats sont d'origines cliniques et c'est le facteur le plus recherché dans ce cas de figure. Ce facteur de virulence a aussi été utilisé comme un des facteurs, nous permettant d'établir l'origine des souches dans la mesure où SARM acquis dans la communauté sont porteurs de *luk S/F-PV*. La réaction PCR comprenait les étapes suivantes :

Dans un cryotube à PCR pour chaque réaction, 10 µL de l'eau de PCR ont été introduites puis 1,5 µL de la solution de travail de chaque type d'amorce en suite 04 µL de Master mix et enfin 05 µL d'extrait de l'ADN de chaque isolat soit un volume total de 25 µL. Le produit est vortexé et centrifugé pendant 30 secondes à 3000 tours. Après les tubes sont mis dans le thermocycleur selon les conditions.

**Tableau III: Programme d'amplification pour la détection du gène *mec A* et *Luk S/F-PV* (Zhang *et al.*, 2005).**

Étapes	Température	Temps	Nombre de cycles
Pré- dénaturation	95°C	5 Minutes	
Dénaturation	95°C	01 Minutes	
Hybridation	55°C	01 Minutes	30 cycles
Elongation	72°C	01 Min 30 Sec	
Elongation finale	72°C	10 Minutes	
Conservation	4°C	∞	

A la fin de l'amplification, un gel d'agarose de 1% a été préparé avec 0,7 µL de Bromure d'éthylène. Après solidification, les peignes ont été retirés et le gel plongé dans le bac de l'électrophorèse contenant le tampon TAE 1X, A l'aide d'une micropipette et des embouts stériles, 05 µL de poids moléculaire 500bp ont été introduits dans le premier puits du gel puis le control négatif, suivi du control positif et en suite 07 µL de chaque produits de PCR. L'intensité du courant de l'appareil a été réglée à 300 mA pendant 45 minutes ceci à 90V. A la fin de la réaction, le gel a été visualisé à fluorescence verte et exposé aux UV pour détecter les bandes.

La taille de l'amplicon de gène *mec A* 310 bp

*LukS/F-PV* 433 bp

#### **II-10-4- Détection des SCCmec de types I, II, III, IV et V.**

Des travaux scientifiques ont indiqué que les souches HA-MRSA sont porteuses de SCCmec de type I, II ou III et ne possèdent pas de PVL codant pour le gène de résistance *mecA* (Boye *et al.*, 2007) alors que les CA-MRSA sont porteuses de SCCmec IV et V (Alvarez *et al.*, 2010; Sola *et al.*, 2012). C'est pourquoi, pour déterminer l'origine des souches résistantes circulantes dans les régions de l'Adamaoua et Extrême-Nord, nous avons recherché les gènes *SCCmec* types I à V. Selon la procédure ci après :

**Tableau IV: Préparation de la réaction PCR Multiplex Scmec types I à V (Boyle-Vavra and Daum, 2007).**

Amorce	Composition Et sequence 5' - 3'	Volume pour 01 reaction	Gene cible	Scmec de référence Et poids moléculaire
	Eau de PCR	08 µL		
	Master Mix (5X)	04 µL		
β-F	ATTGCCTTGATAATAGCCYTCT	0.4 µL	ccrA2- ccrB	Types II et IV 937
α3-R	TAAAGGCATCAATGCACAAACT	0.4 µL		
5RmecA-F	TATACCAAACCCGACAACACTAC	0.2 µL	Mec	Type V
5R431-R	CGGCTACAGTGATAACATCC	0.2 µL	IS431	359
ccrCF-F	CGTCTATTACAAGATGTTAAGGATAAT	0.5 µL	ccrC	Types III et V 518
ccrCR-R	CCTTTATAGACTGGATTATTCAAAATAT	0.5 µL		
1272 F1-F	GCCACTCATAACATATGGAA	0.16 µL	IS1272	Types I et IV 415
1272R1-R	CATCCGAGTGAAACCCAAA-	0.16 µL		
	Extrait de l'ADN	06 µL		

Pour limiter les erreurs de pipettage des faibles volumes, une solution de travail a été constituée, nous avons lancé une série de 10 soit 8 échantillons et deux contrôles donc le volume d'amorce à pipeter a été multiplié par 10. La solution a été préparée dans un grand tube Eppendorf, homogénéisée au vortex, centrifugée pendant 30 secondes et 14,5 µL de la réaction a été distribuée dans les tubes de PCR et 06 µL de l'ADN a été ajoutée dans chaque tube à l'exception du control négatif.

Le mélange réactionnel a été mis au thermocycleur selon le protocole suivant : Une phase de pré dénaturation de 95°C pendant 5 min, suivi de 34 cycles pour la dénaturation à 95°C pendant 1 min, puis l'hybridation à 53°C pour 1min, l'élongation à 72 °C pour 1 min 30 sec et extension finale 72 °C pour 10 min, la phase de repos à 4°C.

Nous avons fait migrer les produits PCR obtenus sur un gel d'agarose à 2 % contenant du Safe Dye et observés à fluorescence verte et exposés aux UV pour détecter les bandes de la taille d'amplicon requise selon le poids moléculaire indiqué dans le tableau 4 (Cabreria *et al.*, 2020; Kong *et al.*, 2016; Rasheed and Hussein, 2020).

## II-10-5- Identification phylogénétique

L'amplification de la réaction a été faite à Comsats University, en utilisant les amorces universelles 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') et 1392R (5'TAC GGTTAC CTT GTT ACG ACTT-3'). Selon la procédure :

Les cryotubes à PCR ont été utilisés, pour chaque échantillon 20 µL de l'eau de PCR a été introduite dans le tube puis 01 µL de chaque amorce 27F et 1392R en suite 08 µL du Master Mix puis 10 µL d'extrait de l'ADN pour un volume total de 50 µL. Le mélange est vortexé et centrifugé pendant 10 secondes à 3000 tours/min pour garantir une bonne homogénéité.

Le mélange est introduit dans le thermocycleur selon les conditions

**Tableau V: Programme d'amplification pour le séquençage**

Étapes	Température	Temps	Nombre de cycles
Pré- dénaturation	95°C	5 Minutes	
Dénaturation	95°C	45 Secondes	
Hybridation	58°C	30 Secondes	30 cycles
Elongation	72°C	01 Min 45 Sec	
Elongation finale	72°C	10 Minutes	
Conservation	4°C	∞	

Après l'amplification, nous avons vérifié la qualité du produit en faisant migrer les produits PCR sur un gel d'agarose à 2 % contenant du Safe Dye et observés à fluorescence pour détecter la présence d'une bande ou non (**Gumaa et al., 2021**).

Après ce test, le produit de l'amplification a été conditionné et envoyé en Coré du Sud chez Macrogen pour lecture. La plateforme Illumina a été utilisée pour le séquençage, le résultat des séquences Faward et Reverse est rendu sous forme de 4 formes de fichier à savoir texte, PDF (Séquence complète cf annexe), ab pris en charge directement par Bio Edit et un backup file.

La première opération consistait à vérifier l'identité en faisant le BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) du fichier texte de chaque séquence nous avons ouvert BLAST sur l'ordinateur, chaque séquence a été copiée et collée dans la fenêtre de recherche puis lancer la recherche, il faut relever que la connexion internet est nécessaire à cet effet.

Après cette étape, Nous avons ouvert Mega 11, Aller à 'open file', le Faward file a été importé dans Mega, nous avons vérifié la qualité du chromatogramme obtenu, les déchets ont

été nettoyés, puis importer le fichier Reverse, après importation de cette séquence dans Mega, l'alignement a été ré inversé ceci en cliquant sur éditer, puis choisir 'reverse complementary'. Les deux séquences ont été alignées pour générer la séquence consensus. Il faut relever ici que les erreurs de séquençage ont été soit supprimés, soit corrigés en fonction du cas. Pour vérifier si c'est une erreur de séquençage, la couleur et la linéarité de la courbe ont été prises en considération.

La séquence consensus a été générée pour chaque isolat. Pour la tracée de l'arbre phylogénétique, le numéro de référence de chaque isolat a été pris et la séquence recherchée sur NCBI (National Center for Biotechnology Information) dans la Genbank. L'alignement 'Muscle' est fait sur Mega11 et nous avons généré l'arbre en utilisant la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean). La diversité génétique des séquences, le nombre de polymorphisme et le nombre des mutations a été calculé en utilisant le logiciel DnaSP.

## CHAPITRE III : RESULTATS

Dans ce chapitre, nous allons présenter les résultats de notre étude par objectifs spécifiques.

### III-1- Fréquence d'isolement de *Staphylococcus aureus* dans prélèvements biologiques et leur profil de résistance aux antibiotiques dans les sites d'études

#### III-1-1- Fréquence d'isolement de *S. aureus* multirésistantes dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord

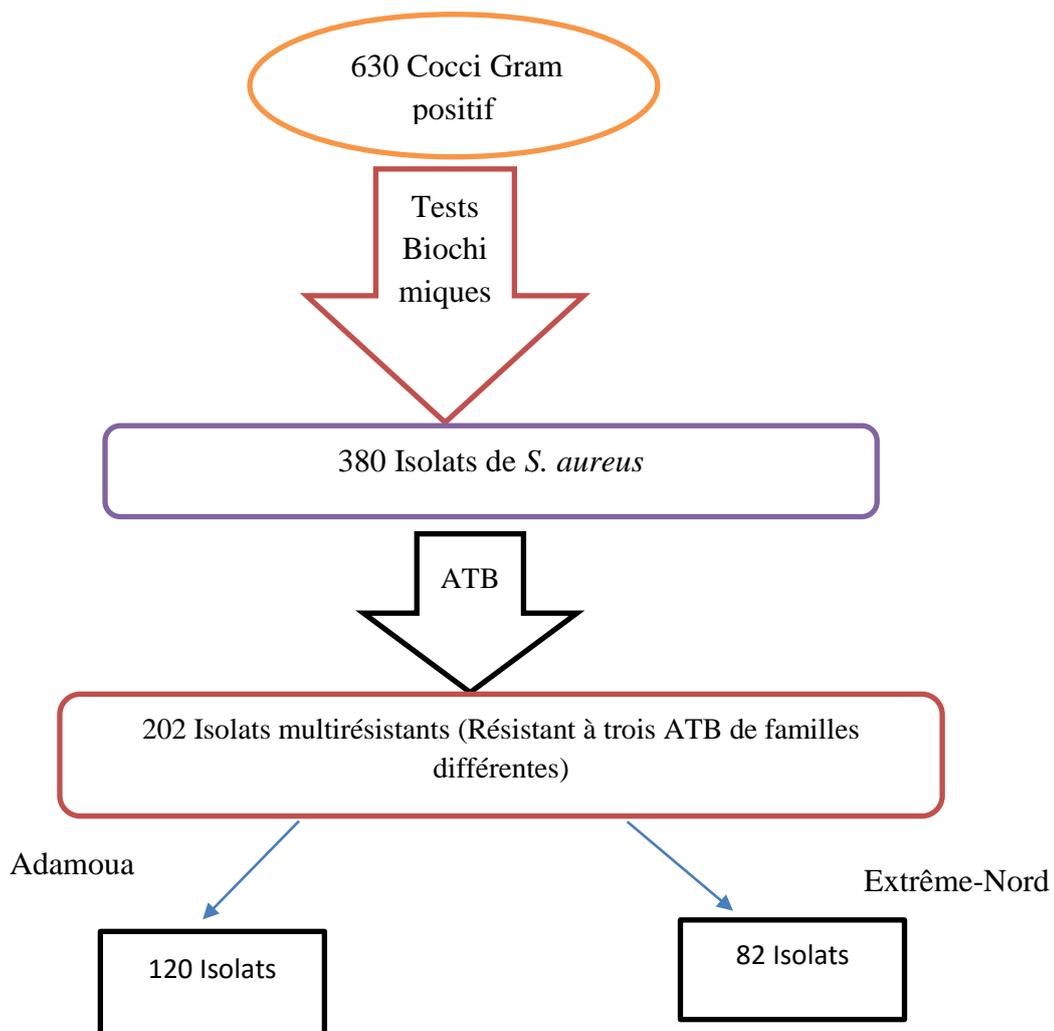
La collecte a été effectuée entre Avril 2019 et Novembre 2020. Durant cette période, 630 isolats de cocci Gram positif ont été récoltés sur la base de l'analyse morphologique et des tests d'identification biochimique que nous avons effectués, nous avons identifié 380/630 (60,3 %) isolats comme étant *S. aureus* soit 201 (52,89%) provenant de la région de l'Adamaoua et 179 (47,11 %) isolées à l'Extrême-Nord. Sur les 380 isolats de *S. aureus* obtenues, 202 (53,2%) ont présenté une résistance à au moins trois antibiotiques de différentes familles. Ces isolats ont été considérés comme multirésistantes et proviennent de 08 différents types de prélèvements bactériologiques que sont : le Pus, l'Examen Cyto Bactériologique des Urines (ECBU), l'Hémoculture, le Prélèvement Uréthral (PU), le Prélèvement Cervico-Vaginal (PCV), les Plaies chirurgicales, la Coproculture, la Spermoculture selon la répartition dans le tableau ci-après.

**Tableau VI : Fréquence d'isolement de *S. aureus* multirésistant en fonction des types de prélèvement**

Types de prélèvement	Adamaoua (%)	Extrême-Nord (%)	AD et EN (%)
<b>Pus</b>	29 (21,7)	23 (28,0)	52 (25,7)
<b>Hémocultures</b>	01 (1,2)	22 (26,8)	23 (11,4)
<b>ECBU</b>	31 (25,8)	11 (13,4)	42 (20,8)
<b>PU</b>	14 (11,67)	12 (14,6)	26 (12,9)
<b>Plaies chirurgicales</b>	7 (5,8)	4 (4,9)	11 (5,4)
<b>Spermocultures</b>	11 (9,17)	00(00)	11 (5,4)
<b>PCV</b>	12 (10)	10 (12,2)	22 (10,9)
<b>Coprocultures</b>	15 (12,5)	00 (00)	15 (7,4)
<b>Total</b>	120 (59,4)	82(40,6)	202(100)

Il ressort que dans la population générale de cette étude *S. aureus* multirésistant a été beaucoup plus isolé dans le pus avec un taux de 25,7%, suivi des ECBU, PU et hémocultures, avec respectivement des taux de 20,8 %, 12,9 %, 11,4 %.

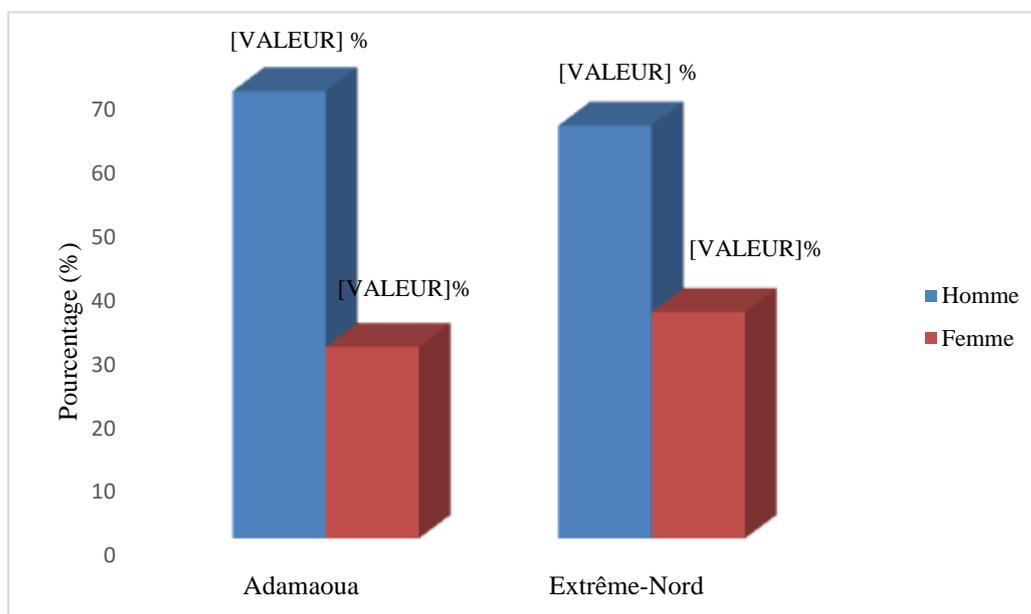
Présentation structurale des isolats récoltés dans les deux régions au cours de la période de l'étude.



**Figure 17: Présentation structurale des isolats récoltés dans les deux régions au cours de la période de l'étude.**

### III-1-2- Les données socio démographiques et la fréquence d'isolement de *S. aureus* multirésistant dans les différents types de prélèvement.

#### 1-Distribution des isolats de *S. aureus* multirésistant selon le genre



**Figure 18: Distribution des isolats de *S. aureus* multirésistants en fonction du genre**

Les hommes étaient les plus représentés dans les deux régions de notre étude avec un pourcentage de 71,2% dans la région de l'Adamaoua et 62,5% dans la région de l'Extrême-Nord.

#### 2-Distribution de *S. aureus* multirésistant par groupe d'âge

La population des deux sexes venue pour un examen de laboratoire ou internée à l'Hôpital était concernée par notre étude. Ainsi dans le cadre de cette étude l'âge de nos participants variait entre 21 jours à 85 ans, la moyenne d'âge était de 28,10 ans. Le tableau ci-contre récapitule le pourcentage des infections par groupe d'âge.

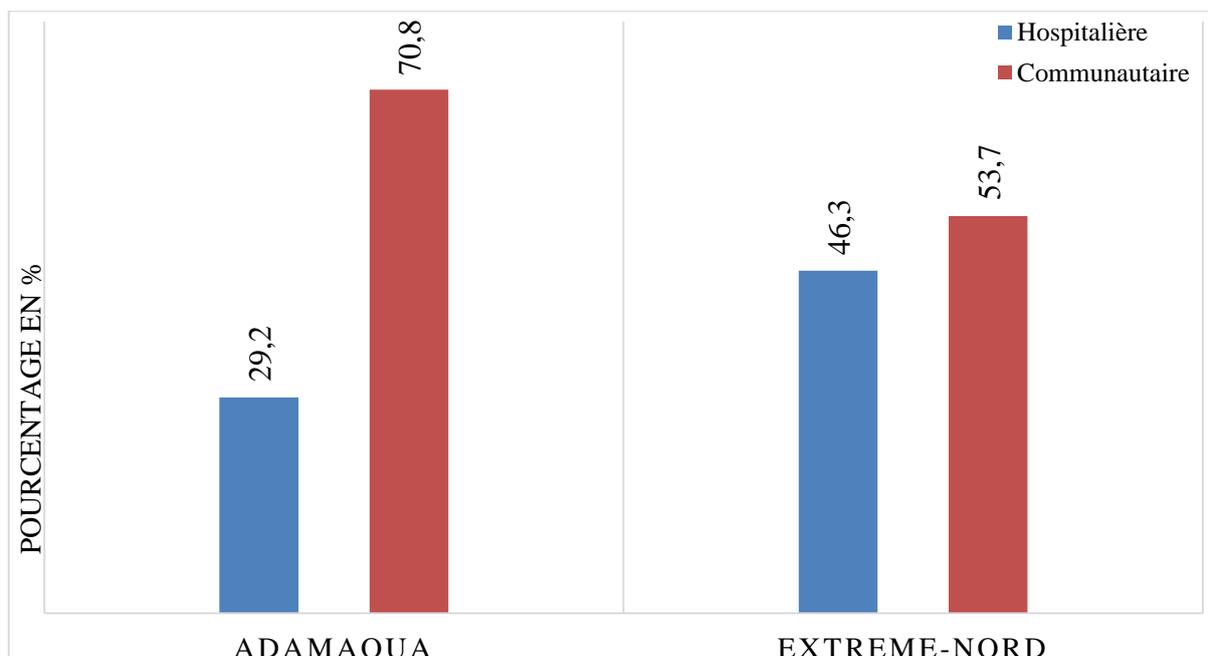
**Tableau VII : Distribution des isolats de *S. aureus* multirésistants en fonction du groupe d'âge et de la région**

Paramètres		Région de l'Adamaoua (%)	Région de l'Extrême-Nord (%)	Adamaoua et Extrême-Nord (%)
Intervalle d'âge	[0-15[	30 (25)	27 (24,9)	57 (28,8)
	[15-30[	39 (32,5)	28 (34,1)	<b>67 (33,1)</b>
	[30-45[	34 (28,3)	10 (12,2)	44 (21,8)
	[45-60[	06 (05)	01 (1,3)	7 (3,5)
	[60-75[	06 (05)	10 (12,2)	16 (7,9)
	≥75	5 (04,2)	06 (7,3)	11 (5,4)

Les jeunes adultes âgés de 15 à 30 ans étaient les plus représentés dans notre étude suivi de ceux âgés de 0 à 15 ans avec respectivement 33,1% et 28,8%

### 3-Distribution des patients en fonction de l'origine de l'infection : Hospitalière et Communautaire

Sur le diagramme ci-dessous, les patients ayant présenté des isolats multirésistants sont regroupés en deux groupes selon leur historique d'hospitalisation.

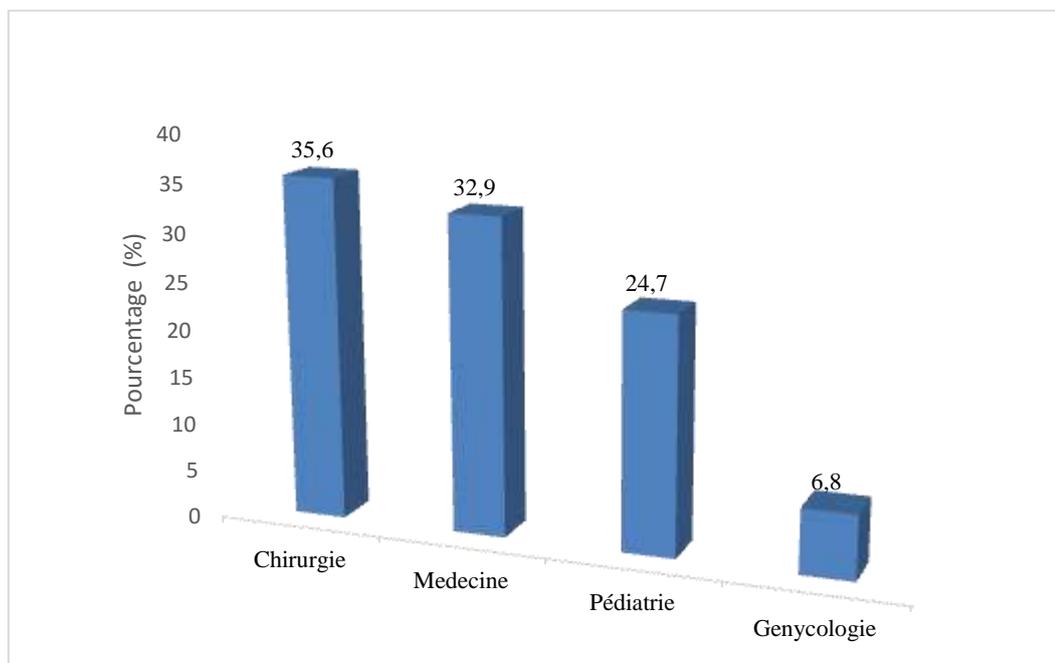


**Figure 19: Présentation graphique des patients hospitalisés et non hospitalisés en fonction des régions de l'étude**

Selon ce diagramme, il y a une prédominance des isolats provenant des patients non hospitalisés dans les deux régions d'étude avec une forte dominance dans la région de l'Adamaoua. Cependant pour la région de l'Extrême-Nord, la différence entre les deux types de patients n'est pas assez grande.

#### 4-Distribution de *S. aureus* multirésistant selon les services d'hospitalisation

La répartition des patients hospitalisés de notre population d'étude, en fonction des services d'hospitalisation nous révèle que la prévalence des patients infectés par le *S. aureus* multirésistant est plus élevée en Chirurgie, suivi de la Médecine générale et la Pédiatrie tandis que dans le service de gynécologie obstétrique un faible taux d'hospitalisation a été enregistré durant la période de l'étude ; comme illustré sur le diagramme ci-contre.



**Figure 20: Fréquence d'isolement de *S. aureus* multirésistant en fonction des services d'hospitalisation**

#### 5- Comparaison de la résistance chez les patients ayant pris d'Antibiotiques et ceux ayant été sous traitement traditionnel

Lors de l'interrogatoire des patients, l'antécédent médicamenteux a été relevé parmi lesquels la prise d'antibiotiques à la maison et le traitement traditionnel. Les réponses obtenues sont résumées dans le tableau ci-contre.

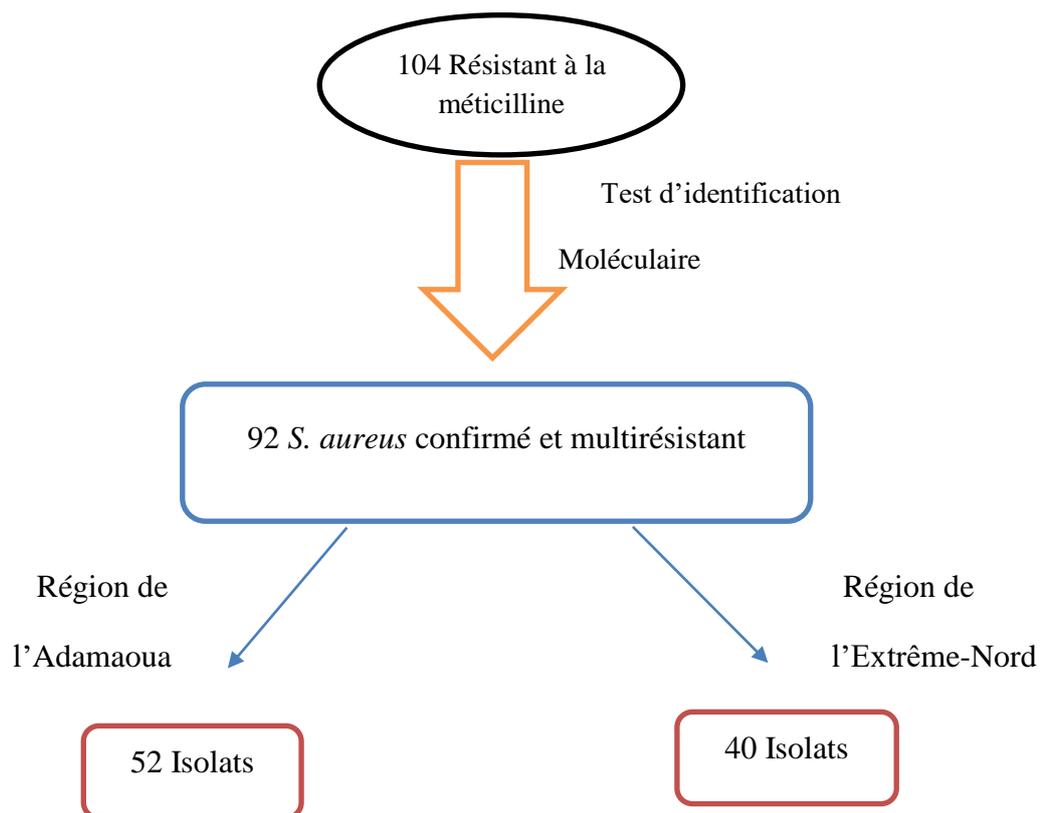
**Tableau VIII: Fréquence de *S. aureus* multirésistant chez les patients ayant pris d'antibiotiques et ceux ayant été sous traitement traditionnel**

		Prise d'un traitement traditionnel		Total
		OUI	NON	
Prise d'antibiotique à la maison	OUI	16 (7,9 %)	43 (21,3 %)	59
	NON	14 (6,9 %)	129 (63,9 %)	143
<b>Total</b>		30	172	202

Le tableau ci-contre nous indique que 7,9 % de nos patients ont pris un traitement à base d'antibiotique et un traitement traditionnel avant de se rendre à l'hôpital ; 6,9 % suivaient un traitement traditionnel exclusivement ; 21,3 % étaient sur traitement à base d'antibiotique seulement et 63,9 % des patients n'ont rien pris comme traitement avant d'aller à l'hôpital.

#### **F- *Staphylococcus aureus* multirésistant et résistant à la méticilline**

Nous avons effectué l'identification moléculaire ciblant le gène 16S de l'ARNr spécifiques au *S. aureus* avant d'établir la prévalence globale. Ainsi, parmi les 202 isolats multirésistants, 104 résistants à la méticilline ont été sélectionnés, 92 de ces isolats soit 45,5 % ont été confirmés comme étant *S. aureus* multirésistants isolés au cours de la période de notre étude. Nous pouvons ainsi dire que la prévalence de *S. aureus* multirésistant était de 45,5% dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord durant notre période d'étude. Il faut préciser ici que la multirésistance inclut la méticilline ici représentée par l'oxacilline et la céfoxitine; et la résistance à d'autres familles d'antibiotiques. Nous avons ainsi recentré l'étude sur les isolats confirmés étant des souches de *S. aureus*.



**Figure 21: Présentation schématique des souches multirésistantes**

### III-1-3- Profil de résistance aux antibiotiques dans les sites d'études et la CMI des souches résistantes à la vancomycine.

Nous avons testé 16 antibiotiques (disques) sur les 380 isolats de *Staphylococcus aureus* identifiés. Parmi lesquels 202 (53.2%) ont été identifiés comme multirésistants, c'est à dire résistants à trois antibiotiques de différentes familles.

Selon le résultat de l'antibiogramme il ressort que les isolats de SARM ont présenté un fort taux de résistance face à la pénicilline (90,2%), le cotrimoxazole (85,9%), et la tétracycline (70,7 %). Cependant, ces isolats ont présenté un fort taux de sensibilité à la rifampicine (90,2%), à l'acide fusidique (75,0 %) et à la lincomycine (64,1%). Le tableau ci-contre résume le profil de résistance.

**Tableau IX: Profil de *S. aureus* aux antibiotiques utilisés dans le traitement**

		<b>R (%)</b>	<b>S (%)</b>	<b>I (%)</b>
<b>Penicilline</b>	AMC	44 (47,8)	11 (12,0)	37 (30,2)
	OX	92 (100)	00 (00)	00(00)
	P	83 (90,2)	09 (09,8)	00 (00)
<b>Cephalosporine</b>	FOX	92 (100)	00 (00)	00 (00)
<b>Fluoroquinolone</b>	CIP	40 (43,5)	35 (38,0)	17 (18,5)
	OFX	64 (69,6)	22 (23,9)	06 (06,5)
<b>Aminoside</b>	GEN	52 (56,5)	29 (31,5)	11 (12,0)
<b>Macrolide</b>	E	41 (44,6)	44 (47,8)	07 (7,6)
<b>/Lincosamide</b>	L	18 (19,6)	59 (64,1)	15 (16,3)
	PI	03 (3,3)	35 (38,0)	54 (58,7)
<b>Tetracycline</b>	TET	65 (70,7)	23 (25,0)	04 (04,3)
	MIN	08 (08,7)	56 (60,9)	28 (30,4)
<b>Autres</b>	SXT	79 (85,9)	09 (09,8)	04 (04,3)
	RD	07 (07,6)	83 (90,2)	02 (02,2)
	FA	07 (07,6)	69 (75,0)	16 (17,4)
<b>Glycopeptide</b>	VA	13 (14,1)	35 (38,0)	44 (47,9)

Amoxicilline+ acid Clavulanic (AMC), Oxacilline (OX), Cefoxitine (FOX), Ciprofloxacine (CIP), Ofloxacine (OFX), Gentamicine (GEN), Erythromycine (E), Lincomycine (L), Tétracycline (TET) Cotrimoxazole (SXT), Rifampicine (RIF), Acide Fusidic (FA), Vancomycine (VA), Penicilline (P), Minocycline (MIN), Pristinamycine (PI)

La méthode d'inhibition sur disque a présenté des limites dans la détermination de la résistance aux glycopeptides, c'est pourquoi nous avons fait recours à la méthode de détermination de la CMI par dilution en milieu liquide. Il ressort que 7/13 (53,8%) ont présentés une résistance à la vancomycine par la méthode de CMI avec une concentration  $\leq 1$  mg/L. Ce qui est très préoccupant car cette famille constitue un recours idéal pour le traitement des germes réfractaires à d'autres antibiotiques.



**Figure 22: Illustration des CMI vancomycine (Présente étude)**

Nous avons étudié la distribution des moyennes, mode et médiane des différentes familles d'antibiotiques testés.

Dans la région de l'Extrême-Nord, les antibiotiques suivants ont présenté une bonne médiane et mode : la Rifampicine, l'Acide fusidique, l'Amoxicycline plus acide clavulanique, la lincomycine. Dans la région de l'Adamaoua, pratiquement la même distribution est observée, cela corrobore avec le résultat de l'antibiogramme. On peut ainsi dire que ces antibiotiques peuvent être recommandés en absence d'un examen avec antibiogramme.

Selon le tableau de distribution des médianes et modes, quelques variances doivent être observées en fonction des régions. C'est le cas par exemple de l'oflaxacine qui peut être plus recommandé dans la région de l'Adamaoua que dans l'Extrême-Nord. Cependant, les isolats récoltés à l'Extrême-Nord semblent présenter une bonne sensibilité à l'Erythromycine que ceux provenant de l'Adamaoua.

**Tableau X : Distribution statistique des diamètres d'inhibition des antibiotiques testés dans la région de l'Extrême-Nord**

	<b>AMC</b>	<b>OX</b>	<b>FOX</b>	<b>CIP</b>	<b>OFX</b>	<b>GEN</b>	<b>E</b>	<b>L</b>	<b>PI</b>	<b>TET</b>	<b>MIN</b>	<b>SXT</b>	<b>RD</b>	<b>FA</b>	<b>VA</b>	<b>P</b>
Moyenne	19,73	15,95	14,71	17,40	14,39	14,41	18,89	21,80	22,94	14,85	23,76	11,29	24,93	23,73	18,15	13,10
Mediane	26,00	11,00	8,00	21,00	10,00	21,00	25,00	25,00	21,00	10,00	26,00	10,00	27,00	27,00	17,00	10,00
Mode	26	6	6	8	10	8	27	27	21	10	22	10	27	27	17	10
Minimum	6	6	6	6	6	6	6	6	8	6	6	6	6	8	8	8
Maximum	36	31	28	29	28	29	29	28	29	28	29	28	29	29	28	38

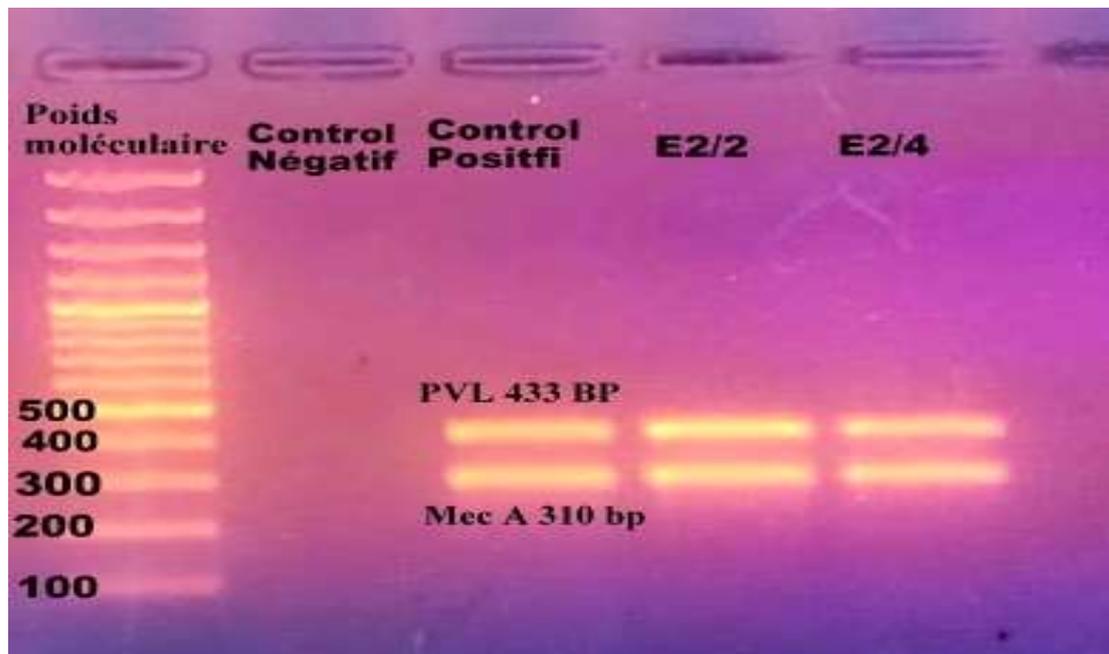
**Tableau XI: Distribution statistique des diamètres d'inhibition des antibiotiques testés dans la région de l'Adamaoua**

	<b>AMC</b>	<b>OX</b>	<b>FOX</b>	<b>CIP</b>	<b>OFX</b>	<b>GEN</b>	<b>E</b>	<b>L</b>	<b>PI</b>	<b>TET</b>	<b>MIN</b>	<b>SXT</b>	<b>RD</b>	<b>FA</b>	<b>VA</b>	<b>P</b>
Moyenne	22,66	15,85	16,43	16,98	17,20	17,53	17,36	20,65	21,43	16,66	21,44	11,15	25,78	23,51	17,06	12,20
Mediane	26,00	13,00	21,50	20,00	20,00	20,00	20,00	22,50	22,00	12,00	22,00	6,00	27,50	26,00	17,00	10,00
Mode	26	6	6	10	10	8	6	24	21	10	22	6	28	28	17	10
Minimum	6	4	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Maximum	34	30	31	30	28	32	32	32	34	37	32	30	36	38	32	28

### III-2- Identification du gène de résistance couplé aux facteurs de virulence des isolats multirésistants et répartition des isolats selon leurs origines : hospitalière ou communautaire

#### a)- Résultat de l'identification du gène de résistance et des gènes de virulence *Luk S/F-PV*.

Le gène *mecA* est reconnu comme un gène qui caractérise la résistance à la méticilline chez les isolats de *S. aureus*. C'est ce gène qui a été recherché dans le cadre de cette étude. Cependant, pour la caractérisation de la virulence des isolats, les gènes *LukS-PV* et *LukF-PV* ont été recherchés, ceci après amplification et une électrophorèse sur gel d'agarose selon les conditions décrites dans la méthodologie. Le gène de résistance *mecA* a un poids moléculaire de 310 bp (paire de bases) et le gène de virulence *lukS/F PV* a un poids moléculaire de 433 bp. La figure ci-contre illustre les bandes correspondantes aux gènes *mecA* et *LukS/F PV*.



**Figure 23: Illustration de mec A et Luk S/F PV sur gel d'agarose (Présente étude)**

Les résultats que nous avons obtenus indiquent que sur les 92 souches SARM, 90 (97,8 %) de nos isolats étaient porteurs du gène *mecA*. Cependant, la recherche des gènes de virulence a indiqué que 53,3 % (n=49) étaient porteurs des gènes *luk S/F PV*; 44,6 % (n=41) étaient *Luk S/F* négatifs et 2,1 % (n=2) des isolats ont donné des résultats inexploitable pour la recherche des gènes *PVL*.

## b)- Résultat distribution des gènes de virulence et origine des souches

L'amplification par une PCR multiplex et lecture sur gel d'agarose nous a permis de ressortir les types de facteurs de virulence portés par nos isolats. A cet effet les types I à V qui sont les plus répandus en pathologie médicale du gène Staphylococcal Chromosome Cassette mec (*SCCmec*) ont été amplifiés. Ces gènes avaient pour cible principal les sérotypes suivants : IS1272, *ccrC*, *MecA* SI431, *ccrA*<sub>2</sub>-B. Ces sérotypes ont été recherchés en fonction du poids moléculaire du gène. Après amplification et électrophorèse sur gel, il ressort que le type IV était le plus répandu (29,3%), suivi de type I (23,9%), de type V (22,8%), de type III (14,2%) et de type II (7,6%). Par ailleurs, 2,2 % des isolats n'étaient pas typables.

**Tableau XII : Distribution régionale des types de SCCmec parmi les échantillons cliniques collectés dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord du Cameroun.**

Types de Scmec	Région de l'Adamaoua (%)	Région de l'Extrême-Nord (%)	AD et EN (%)
I	9 (40.9)	13 (59.1)	22 (23,9)
II	3 (42.9)	4 (57.1)	07 (7,6)
III	9 (69.2)	4 (30.8)	13 (14,2)
IV	15 (55.6)	12 (44.4)	27 (29,3)
V	15 (71.4)	6 (28.6)	21 (22,8)
Non typable	2 (100)	0	02 (2,2)
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>39</b>	<b>92 (100)</b>

La classification du SARM acquis à l'hôpital (SARM-HA) et du SARM communautaire (SARM-CA) en fonction de la production de PVL et des types de SCCmec a montré que le SARM-CA (possédant SCCmec de types IV et V et en plus produisant la toxine PVL) était le plus répandu : 53,3 % (n=49); tandis que le SARM-HA (SCCmec de types I, II et III et non producteurs de PVL) représentait 46,7 % (n=43). Une distribution similaire (SARM-CA : 56,5 % et SARM-H : 43,5 %) a été observée selon la définition du CDC. Ceci basé sur les réponses recueillies chez les patients par rapport à leur hospitalisation ou séjour en milieu hospitalier. Il n'y a pas de différence statistique entre les deux méthodes (P=0,577). La classification de la multirésistance a été faite en respectant les recommandations de Magiorakos *et al* où on y retrouve trois groupes des isolats : multi-résistants aux antibiotiques

(MDR), extrêmement résistants aux antibiotiques (XDR) et Pan résistant (PDR) (Magiorakos *et al* 2012). Ainsi on y retrouve le classement suivant :

**Tableau XIII: Classification du profil de résistance du *S. aureus***

	<b>Profil de résistance</b>	<b>Types de résistance le plus couramment rencontré</b>
<b>SARM d'origine nosocomiale</b>	6 MDR	Aminoside (GEN) ;
	28 XDR	Fluoroquinolone (OFX, CIP) ; Macrolides (E, L)
	2 PDR	
<b>SARM d'origine communautaire</b>	29 MDR	Betalactamines (P, OX, FOX, VA),
	41 XDR	Fluoroquinolone (CIP, OFX), Tetracycline (TET, MIN)
	2 PDR	

**Tableau XIV: Distribution de SCCmec en fonction de la résistance phénotypique des SARM**

Classes d'antibiotiques	Antibiotiques testés	Types of SCCmec				
		SARM- Hospitalisés			SARM- Communautaire	
		I	II	III	IV	V
		R (%)	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
<b>Pénicillines</b>	Amoxicilline plus acide clav	13 (59.1)	3 (42.8)	8 (61.5)	8 (29.6)	11(52.4)
	Oxacilline	22 (100)	7 (100)	13 (100)	27 (100)	21(100)
	Penicilline	20 (90.9)	6 (85.7)	10 (76.9)	26 (96.3)	20 (95.2)
<b>Céphalosporines</b>	Cefoxitine	22 (100)	7 (100)	13 (100)	27 (100)	21 (100)
<b>Fluoroquinolones</b>	Ciprofloxacine	7 (31.8)	3 (42.3)	5 (38.5)	11 (40.7)	13 (61.9)
	Ofloxacine	13 (59.1)	3 (42.3)	9 (69.3)	20 (74.1)	18 (85.7)
<b>Aminosides</b>	Gentamicine	9 (40.9)	4 (57.1)	7 (53.8)	19 (70.4)	12 (57.1)
<b>Macrolides /Lincosamides</b>	Erythromycine	10 (45.5)	3 (42.9)	7 (53.8)	10 (37.4)	10 (47.6)
	Lincomycine	4 (18.2)	2 (28.6)	2 (15.4)	6 (22.2)	3 (14.3)
	Pristynamicine	2 (8.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4.8)
<b>Tetracyclines</b>	Tetracycline	13 (59.1)	5 (71.4)	11 (84.6)	22 (81.5)	14 (66.7)
	Minocycline	1 (4.5)	1 (14.3)	1 (7.7)	4 (14.8)	1 (4.8)
<b>Autres</b>	Cotrimoxazole	18 (81.8)	7 (100)	11 (84.6)	24 (88.9)	18 (85.7)
	Rifampicine	1 (4.5)	1 (14.3)	1 (7.7)	2 (7.4)	2 (9.1)
	Acide Fusidic	0 (0)	0 (0)	1 (7.7)	3 (11.1)	3 (14.3)
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine	4 (18.2)	2 (28.6)	0 (0)	3 (11.1)	3 (14.3)

### c)- Corrélation entre les sources cliniques et la résistance antimicrobienne

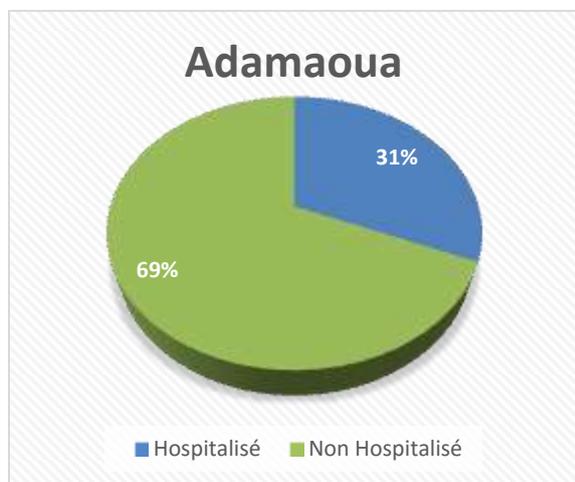
Parmi les isolats de *S. aureus* isolés durant notre période d'étude, ceux provenant d'ECBU, d'hémoculture et de plaie chirurgicale étaient principalement d'origine communautaire, tandis que les *S. aureus* isolés du pus et des coprocultures étaient principalement nosocomiales. Nos résultats montrent que les échantillons de SARM-CA sont généralement résistants à la pénicilline, au cotrimoxazole, à la tétracycline et à l'ofloxacine, tandis qu'ils présentent une sensibilité élevée à la rifampicine, la lincomycine, l'érythromycine et la minocycline. D'autre part, les SARM-HA étaient généralement résistants à la pénicilline, au cotrimoxazole, à la tétracycline et à la gentamicine, mais étaient sensibles à la rifampicine, à la lincomycine et à l'acide fusidique tel que mentionné dans le tableau ci-après.

**Tableau XV: Phénotype de résistance en fonction de type de prélèvement**

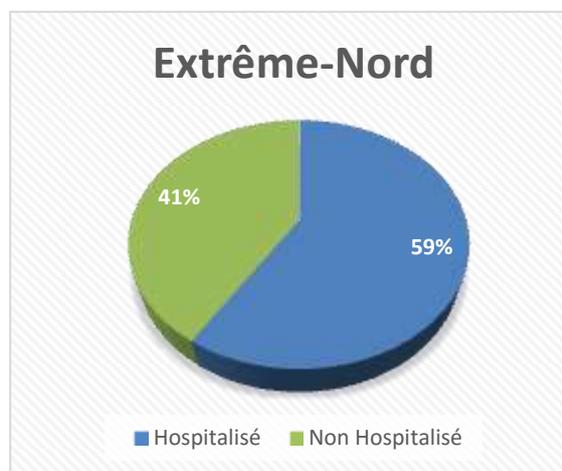
Type de prélèvement	Sccmec Types (I à V)	Phénotype de résistance commun	Phénotype de sensibilité commun
ECBU	10/14 (71.4%) type IV et V	P, SXT, TET, OX, FOX	GEN, E, L, MI, RD
Pus	16/28 (57.1%) type I, II et III	P, SXT, TET, AMX, OX, FOX, GEN	L, MI, RD, FA
PCV	5/9 (55.6%) type IV à V	P, SXT, TET	GEN, E, L, MI, RD
Hémoculture	11/17 (64.7%) type IV à V	P, SXT, TET, OFX, GEN,	E, L, PI, MI, RD, FA
Coproculture	4/4 (100%) type I, II et III	P, SXT, TET, GEN	RD
Spermoculture	2/4 (50%) type IV à V	P, SXT, TET	L, PI, RD
PU	5/9 (55.6%) type IV à V	P, SXT, TET, OFX,	GEN, E, L, PI, RD, FA
Plaies chirurgicales	3/5 (60%) type IV à V	P, SXT, TET, OFX, L	RD

Amoxicilline+ acid Clavulanic (AMC), Oxacilline (OX), Cefoxitine (FOX), Ciprofloxacine (CIP), Ofloxacine (OFX), Gentamicine (GEN), Erythromycine (E), Lincomycine (L), Tétracycline (TET) Cotrimoxazole (SXT), Rifampicine (RIF), Acide Fusidic (FA), Vancomycine (VA), Penicilline (P), Minocycline (MIN), Pristinamycine (PI).

La répartition géographique des données a montré que les SARM-HA étaient les plus fréquents dans l'Extrême-Nord, tandis que les SARM-CA étaient surtout présents chez les patients externes de la région de l'Adamaoua comme illustré sur les graphiques circulaires ci contre.

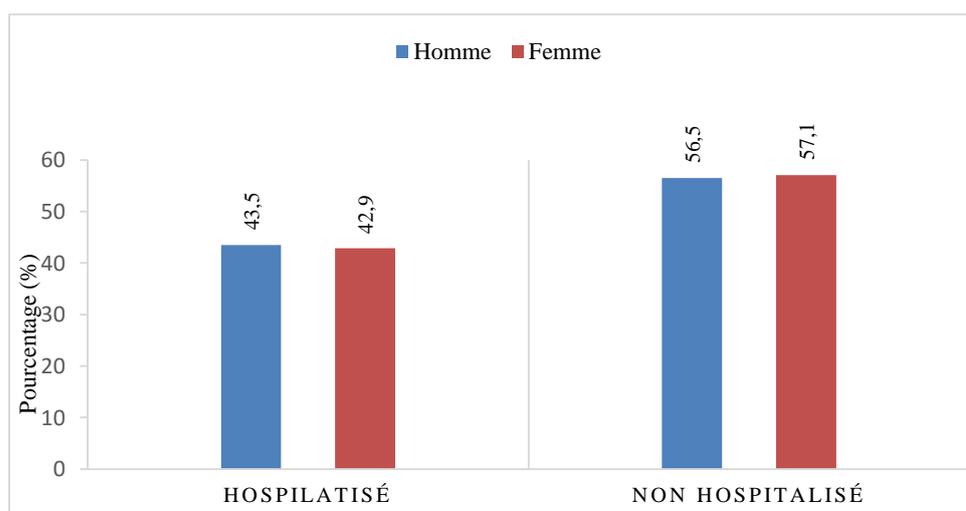


**Figure 24:** Répartition de SARM dans Région de l'Adamaoua



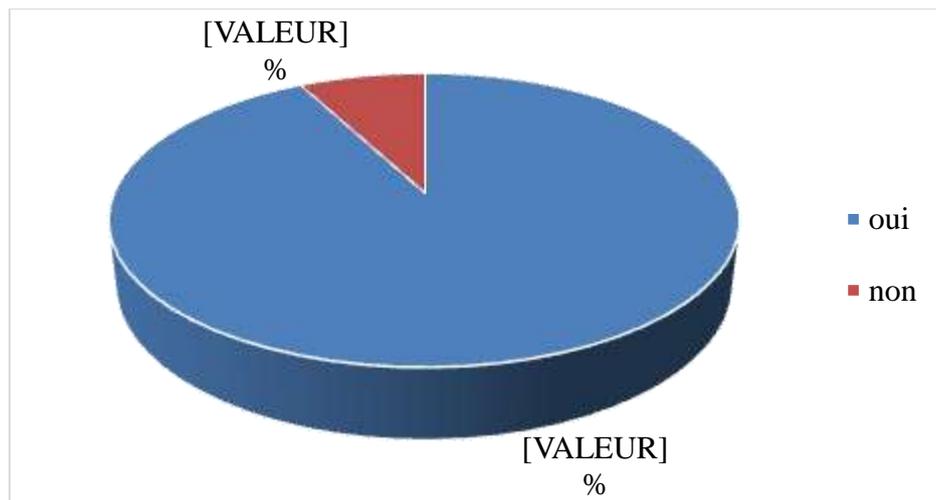
**Figure 25:** Répartition de SARM dans la Région de l'Extrême-Nord

Cependant, la répartition en fonction du genre nous montre que dans la population de l'étude en général, les femmes dominent dans le groupe des patients non hospitalisés alors que dans le groupe des populations hospitalisés ce sont les hommes qui dominent comme illustré sur le graphique ci-contre. Mais la différence observée n'est pas statistiquement significative avec  $p=0,571$ .



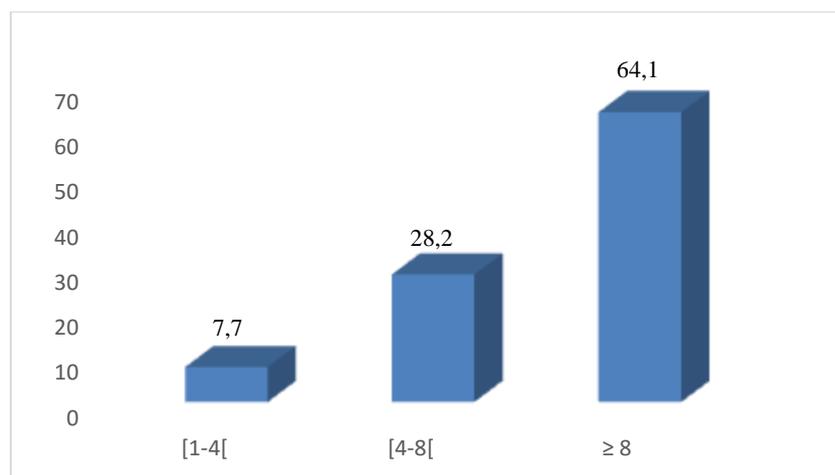
**Figure 26:** Répartition des SARM en fonction du genre

*Staphylococcus aureus* est un germe ubiquitaire dont la transmission interhumaine est très récurrente, ceci à travers un contact direct ou une transmission horizontale. Dans la population hospitalisée de notre étude, 92,3% étaient hospitalisés en salle commune. Cela peut être une des raisons de cette prévalence élevée parmi les patients internés. Le diagramme ci-contre illustre en pourcentage les patients internés en salle commune et en chambre individuelle.



**Figure 27: Répartition des patients en fonction des salles**

Le nombre de lits dans chaque salle a été relevé durant notre étude, le résultat nous montre que 64,1% des patients porteurs SARM étaient dans une salle commune de plus de 08 lits d'hospitalisation comme illustré sur le graphique ci-contre :



**Figure 28: Répartition des patients hospitalisés en salle commune en fonction du nombre de lits dans chaque salle**

### **III-3- La résistance chez les patients vivants avec des comorbidités : cas du diabète et le VIH.**

#### **III-3-1-Etude de la résistance chez les personnes atteintes du Diabète**

Dans notre étude, nous avons évalué la prévalence du SARM chez les patients diabétiques ayant donné leur consentement pour participer à l'étude. C'est ainsi que sur les 92 isolats de SARM enregistrés dans les deux régions de l'étude, il ressort que 9,8% (9/92) sont issus des patients vivant avec le diabète. Ces patients diabétiques étaient tous des hommes et ceux âgés de 30 à 45 ans sont les plus représentés avec un taux de 55,6% (5/9). Suite à l'antibiogramme effectué, il se dégage que le taux de résistance des isolats aux antibiotiques est plus marqué chez ces patients diabétiques. Le tableau ci-contre représente le taux de résistance chez les patients diabétiques comparés aux non diabétiques porteurs du SARM.

**Tableau XVI: Résistance aux antibiotiques chez les patients diabétiques et non diabétiques**

Famille ATB	ATB	Patients diabétiques			Patients non diabétiques		
		N= 9			N= 83		
		R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)
<b>Pénicillines</b>	AMC	1 (11,1)	2 (22,2)	6 (66,7)	43(51,8)	09(10,8)	31 (37,4)
	OX	09 (100)	00 (00)	/	83 (100)	00 (00)	/
	P	08(88,9)	01 (11,1)	00 (00)	75(90,4)	04(04,8)	04 (04,8)
<b>Céphalosporines</b>	FOX	09 (100)	00 (00)	00 (00)	83 (100)	00 (00)	00 (00)
<b>Fluouroquinolones</b>	CIP	05(55,6)	04 (44,4)	00 (00)	35(42,2)	31(37,3)	17 (20,5)
	OFX	06(66,7)	03 (33,3)	00 (00)	58(69,9)	19(22,9)	06 (07,2)
<b>Aminosides</b>	GEN	07(77,8)	02 (22,2)	00 (00)	45(54,2)	27(32,5)	11 (13,3)
<b>Macrolides</b>	E	07(77,8)	02 (22,2)	00 (00)	34(41,0)	42(50,6)	07 (8,4)
<b>/Lincosamides</b>	L	02(22,2)	07 (77,8)	00 (00)	16(19,3)	52(62,7)	15 (18,0)
	PI	01(11,1)	03 (33,3)	05(55,6)	02(02,4)	32(38,6)	49 (59,0)
<b>Tétracyclines</b>	TET	06(66,7)	01 (11,1)	02(22,2)	59(71,1)	22(26,5)	02 (02,4)
	MIN	00 (0)	03 (33,3)	06(66,6)	08(09,6)	53(63,9)	22 (26,5)
<b>Autres</b>	SXT	08(87,5)	01 (12,5)	00 (00)	71(85,5)	08(09,6)	04 (04,8)
	RD	00 (00)	09 (100)	00 (00)	07(08,4)	74(89,3)	02 (02,4)
	FA	00 (00)	07 (75)	02 (25)	07(08,4)	62(74,7)	14 (16,9)
<b>Glycopeptides</b>	VA	00 (00)	06 (66,7)	03(33,3)	13(15,7)	35(42,2)	44 (53,1)

Amoxicilline+ acid Clavulanic (AMC), Oxacilline (OX), Cefoxitine (FOX), Ciprofloxacine (CIP), Ofloxacine (OFX), Gentamicine (GEN), Erythromycine (E), Lincomycine (L), Tétracycline (TET) Cotrimoxazole (SXT), Rifampicine (RIF), Acide Fusidic (FA), Vancomycine (VA), Penicilline (P), Minocycline (MIN), Pristinamycine (PI).

Il ressort de ce tableau que comparé aux non diabétiques, les patients atteints du diabète présentent plus de résistance face aux aminosides, cotrimoxazole et Erythromycine.

### III-3-2- Etude de la résistance chez les personnes atteintes du VIH/SIDA

Dans notre étude, nous avons étudié la résistance aux antibiotiques chez les personnes vivant avec le VIH/SIDA. Il ressort que 8,7 % (8/92) des patients étaient porteurs du virus de l'immunodéficience humaine. Parmi ces patients VIH positifs, les jeunes âgés de 15 à 35 étaient les plus représentés avec 50 % (4/8) et il ressort aussi que les hommes étaient les plus infectés comparé aux femmes avec un taux de 75 % (6/8). Pour la résistance aux antibiotiques, il ressort que la résistance est beaucoup plus élevée chez les personnes vivant

avec le VIH comparé aux non porteurs du virus. Ainsi, la résistance est beaucoup plus élevée face aux betalactamines, suivi de la tétracycline, et du cotrimoxazole à un taux de 75% comme indiqué dans le tableau ci-contre.

**Tableau XVII : Répartition de la résistance chez les personnes VIH positif et VIH négatif**

Famille ATB	ATB	VIH Positif N= 08			VIH Négatif N= 84		
		R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)
<b>Pénicillines</b>	AMC	05 (62,5)	01 (12,5)	02 (25)	39 (46,4)	10 (11,9)	35 (41,7)
	OX	08(100)	00 (00)	/	84 (100)	00 (00)	/
	P	08 (100)	00 (00)	00 (00)	75 (89,3)	06 (7,1)	03 (3,6)
<b>Céphalosporines</b>	FOX	08 (100)	00 (00)	00 (00)	84 (100)	00 (00)	00 (00)
<b>Fluouroquinolones</b>	CIP	04 (50,0)	02 (25,0)	02 (25,0)	38 (45,2)	33 (39,6)	15 (17,9)
	OFX	06 (75,0)	02 (25,0)	00 (00)	58 (69,0)	20 (23,8)	06 (7,2)
<b>Aminosides</b>	GEN	05 (62,5)	02 (25,0)	01 (12,5)	47 (56,0)	27 (32,1)	10 (11,9)
<b>Macrolides</b>	E	03 (37,5)	04 (50,0)	01 (12,5)	38 (45,2)	40 (47,6)	06 (7,2)
<b>/Lincosamides</b>	L	01 (12,5)	06 (75,0)	01 (12,5)	17 (20,2)	53 (63,1)	14 (16,7)
	PI	01 (12,5)	02 (25,0)	05 (62,5)	02 (2,4)	33 (39,3)	49 (58,3)
<b>Tétracyclines</b>	TET	07 (87,5)	01 (12,5)	00 (00)	58 (69,0)	22 (26,2)	04 (4,8)
	MIN	02 (25,0)	04 (50,0)	02 (25,0)	06 (7,2)	52 (61,9)	26 (30,9)
<b>Autres</b>	SXT	06 (75,0)	01 (12,5)	01 (12,5)	73 (86,9)	08 (9,5)	03 (03,6)
	RD	01 (12,5)	06 (75,0)	01 (12,5)	06 (07,1)	77 (91,7)	01 (01,2)
	FA	01 (12,5)	06 (75,0)	01 (12,5)	06 (07,1)	63 (75,0)	15 (17,9)
<b>Glycopeptides</b>	VA	01 (12,5)	00 (00)	07 (87,5)	12 (14,3)	35 (41,7)	37 (44,0)

Amoxicilline+ acid Clavulanic (AMC), Oxacilline (OX), Cefoxitine (FOX), Ciprofloxacine (CIP), Ofloxacine (OFX), Gentamicine (GEN), Erythromycine (E), Lincomycine (L), Tétracycline (TET) Cotrimoxazole (SXT), Rifampicine (RIF), Acide Fusidic (FA), Vancomycine (VA), Penicilline (P), Minocycline (MIN), Pristinamycine (PI)

Il ressort de ce tableau que les patients vivant avec le VIH, présentent un fort taux de résistance face aux Pénicillines, gentamicine, Tétracycline entre autres.

### III-4- Etude de l'Identité phylogénétique de quelques isolats multirésistants

Dans notre étude nous avons effectué l'amplification de l'ARNr 16S sur 03 souches SARM dont 02 souches d'origine hospitalière pour la région de l'Adamaoua et 01 souche d'origine communautaire provenant de la région de l'Extrême-Nord. La PCR de ces dernières a été effectuée au Pakistan en utilisant les amorces universelles 23F et 1392R.

Le produit de PCR a été envoyé à Macrogen pour le séquençage. Les séquences obtenues nous ont été renvoyées sous trois formes dont la forme PDF en annexe 6, les deux brins de chaque séquence ont été analysés sur BLAST et Mega11. La séquence consensus a été générée, les erreurs de séquençage ont été soit supprimées, soit corrigées en fonction des cas. Après cela, un alignement sur Mega 11 de nos trois séquences avec la séquence de référence ATCC 12600 (118997), ainsi que d'autres souches des pays africains en l'occurrence le Nigeria (MN606199), le Soudan (MT154222), l'Ethiopie (MK217496), l'Egypte (MN556575); avec les souches des pays Asiatiques que sont la Chine (MN65263), le Pakistan (MN611106), l'Inde (MK16514), le Japon (LC508802); et les isolats des pays de l'Europe que sont l'Italie (MN811085) et l'Allemagne (MF664194) a été effectué. Cela a révélé que la souche isolée à l'Extrême-Nord est proche des isolats de l'Egypte et de la Chine, alors que les isolats de l'Adamaoua sont non seulement identiques entre eux mais aussi se rapprochent plus des souches isolées en Inde, USA, Soudan et les souches Européennes (Figure 24).

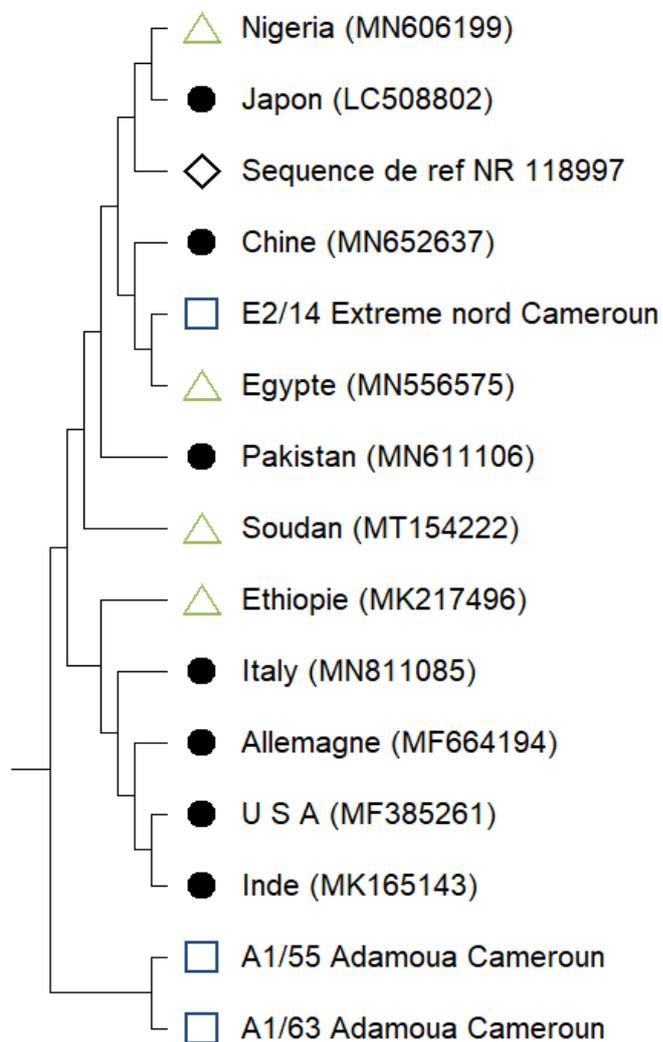
En ce qui concerne les mutations, la comparaison de nos séquences avec la séquence de référence ATCC 12600 (Numéro de référence dans le Genbank 118997) sur 1553 paires de bases a montré que les deux isolats de l'Adamaoua présentaient dix-sept (17) substitutions de paires de bases de 06 différents types que sont :

- A en G aux positions : 449, 480, 484, 655, 671, 742, 1016 ;
- T en C aux positions : 501, 600, 745, 1031 ;
- T en A aux positions : 463, 479, 470 ;
- A en C à la position 1015 ;
- G en T à la position 466 ;
- C en A à la position 483.

Le calcul des indices exprimant la diversité entre les séquences avec le logiciel DnaSP a relevé l'existence dans la population de deux haplotypes statistiquement divers ainsi que les tests de Fu and Li's D et Tijama's D selon le tableau ci-après :

**Tableau XVIII : Résultat des tests statistiques effectués pour la diversité des séquences**

Tests effectués	Valeur obtenu
Nombre de séquences	1 à 1553
Nombre de mutation	17
Diversité de nucléotides	Pi=0,01460
Fu and Li's D test statistic:	2.26818
Tajima's D	0.01195



**Figure 29: Arbre phylogénétique des comparaisons entre les souches camerounaises et celles d'autres pays (Présente étude)**

L'arbre phylogénétique ci-contre a divergé en quatre lignées. L'isolat provenant de l'Extrême-Nord semble avoir une parenté plus proche de celle de l'Égypte et celle rencontrée en Chine. Par contre, les isolats isolés dans l'Adamaoua sont identiques entre eux et avec d'autres souches provenant de l'Inde, les USA, l'Allemagne et l'Italie.

## CHAPITRE IV DISCUSSION

La résistance aux antimicrobiens constitue une menace croissante pour la santé et compromet le développement. Elle nécessite que des mesures soient prises d'urgence dans de multiples secteurs pour que la réalisation des objectifs de développement durable (ODD) ne soit pas compromise. L'OMS a déclaré que la résistance aux antimicrobiens était l'une des 10 plus grandes menaces pour la santé publique auxquelles se trouvait confrontée l'humanité (OMS, 2021). Vu l'ampleur de la situation, le problème de la résistance aux antimicrobiens nécessite une surveillance à court terme car une fois qu'un individu devient porteur de microorganismes résistants aux antimicrobiens, il peut facilement permettre la propagation intra- ou intercommunautaire de la résistance aux antimicrobiens (FAO, 2021). Les régions septentrionales du Cameroun sont moins développées comparées aux autres régions et ont des indices de développement trop faibles dans le classement national et international (Ins et Icf, 2018). Dans notre étude nous avons obtenu une prévalence d'isolement de *Staphylococcus aureus* parmi les autres cocci Gram positif qui est égal à 60,32 % (380/630). Cependant, le taux de résistance de *Staphylococcus aureus* multirésistant a été de 45,54 % (92/202). Certains auteurs dans le monde particulièrement en Amérique Latine et en Asie ont respectivement obtenu des taux de 19,96 % et 42 % (Jyotshna Sapkota *et al.*, 2019; Soe *et al.*, 2021). En Europe la résistance varie entre 0,9 à 56 % (Hassoun *et al.*, 2017). En Afrique, une méta analyse réalisée en 2007 par Kesah *et al* (Kesah *et al.*, 2007) a révélé une prévalence allant de 20 à 30 % dans 08 pays africains et en Malte; ainsi qu'au Cameroun dans le travail effectué par Ebob *et al* à Douala en 2017 qui ont trouvé une prévalence de 28,95 % (Ebob *et al.*, 2016). Ces prévalences restent inférieures au taux de prévalence que nous avons obtenus. Cela nous interpelle sur la circulation et l'émergence des souches multirésistantes dans les régions septentrionales du Cameroun.

Nos résultats indiquent aussi que la prévalence de *S. aureus* multirésistant est le plus élevée chez les jeunes âgés de 15 à 30 ans comparés aux autres groupes, ce taux est de 30,4 % (30/92). Ce résultat corrobore celui obtenu par Tsige *et al* en Ethiopie (Tsige *et al.*, 2020). La situation devrait très rapidement être prise au sérieux car cette tranche d'âge constitue la principale main ouvrière dans ces régions.

Les antibiotiques sont supposés agir de manière spécifique sur les bactéries, en bloquant une ou des étapes essentielle(s) de leur développement : synthèse de leur paroi, de l'ADN, des protéines, ou la production d'énergie entre autres. Ce blocage se produit lorsque l'antibiotique se fixe sur sa cible, une molécule de la bactérie qui participe à l'un de ces

processus métaboliques essentiels de cette dernière. Cependant, ce phénomène n'est toujours pas observé, les bactéries ayant développé un processus de résistance pour contourner ce phénomène. Cette résistance peut être innée ou acquise. Ce qui repose essentiellement sur trois grands principes que sont : production d'une enzyme modifiant ou détruisant l'antibiotique ; Modification de la cible de l'antibiotique ; Imperméabilisation de la membrane de la bactérie. Pour évaluer la résistance bactérienne, un test d'antibiogramme doit être réalisé. Ainsi, nous avons réalisé l'antibiogramme sur nos isolats qui ont présenté une sensibilité assez élevée face à la Rifampicine, l'Acide fusique et la Lincomycine avec respectivement des taux de 90,2%; 75,0% et 64,1%. Cependant ces isolats ont présenté un taux de résistance élevé face à la Pénicilline (90,2%), le Cotrimoxazole (85,9%) ainsi que la Tétracycline (70,7%), les isolats étant d'emblée résistants à la méticilline, ce qui justifie le pourcentage de 100% observé dans les résultats. Les auteurs Breurec au Maroc, Kengne à Yaoundé et Léontine à Buea (**Breurec et al., 2011; Kengne et al., 2019; Leontine et al., 2020**) ont observé pratiquement la même situation dans leur études.

La sensibilité assez élevée de ces souches présentée vis-à-vis de la Rifampicine et de l'Acide fusidique qui sont classés dans la même catégorie pourrait s'expliquer par le fait que ces molécules sont lipophiles, cela leur permet de bien diffuser au travers des membranes et elles disposent d'une capacité d'inhiber l'ARN polymérase bactérienne qui participe à la transcription de l'ADN en ARN en formant un complexe avec cet enzyme. Elles se comportent donc comme des inhibiteurs des antibiotiques agissant sur les bactéries en phase de croissance. Les Lincosamides quant à eux ont la propriété d'inhiber la synthèse protéique en se liant à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens, inhibant ainsi l'étape de transpeptidation des chaînes polypeptidiques en croissance. Les Lincosamides disposent d'une très grande capacité de se concentrer dans les phagocytes ; d'où leur avantage dans le traitement des abcès (**Archana et al., 2020**). Ces antibiotiques partagent aussi le même site de fixation dans l'ARN 16 S du ribosome bactérien. A cette liste nous pouvons ajouter l'Amoxicilline plus acide clavulanique. Ces aspects énumérés ci-dessus peuvent justifier le fait que nos isolats présentent un fort taux de sensibilité à ces antibiotiques, par conséquent ces antibiotiques peuvent être recommandables pour le traitement des infections à *Staphylococcus* en cas d'absence d'un antibiogramme.

Les souches de SARM sont favorisées par le portage de certains gènes de résistance tels que le gène *mecA*, qui comporte un élément génétique appelé cassette chromosomique staphylococcique (SCCmec). Le SCCmec a un rôle important dans le transport des déterminants de la résistance à d'autres antimicrobiens, également des déterminants des

facteurs de virulence. En outre, la gravité des infections à *Staphylococcus aureus* est également liée à l'excrétion de certains facteurs de virulence tels que la leucocidine panton valentine (PVL) (Chaouch *et al.*, 2015). Avec une forte implication dans les infections cutanées primaires, les pneumonies nécrosantes, les troubles musculo-squelettiques, les abcès cérébraux après la destruction des globules blancs, la nécrose et l'apoptose; et elle est considérée comme un marqueur de SARM communautaire (Bhatta *et al.*, 2016). La toxine PVL a deux composants appelés *LukS-PV* et *LukF-PV* (Dujardin *et al.*, 2018). Les types SARM-CA ont la propriété de porter des SCCmec de types IV et V, en plus, ils sécrètent la toxine PVL (Preeja *et al.*, 2021). Alors que les souches de SARM-HA qui causent des infections nosocomiales sont porteuses de SCCmec de types I, II et III (Firoozeh *et al.*, 2020). Dans notre étude nous avons recherché le gène *mecA* dans les isolats, les gènes *LukS-PV* et *LukF-PV* et le SCCmec les types I à V à travers leurs différents gènes ciblés listés précédemment. Les résultats de la caractérisation moléculaire ont montré que 90/92 (97,8 %) de nos isolats étaient porteurs du gène *mecA*; et 53,3 % d'entre eux produisent le gène *Luk PV* codant pour la toxine Panton-Valentine Leucocidine. Ce résultat se rapproche de celui obtenu Breurec *et al* à Yaoundé (Breurec *et al.*, 2011). La forte émergence du SARM d'origine communautaire au Cameroun peut expliquer cette observation étant donné que ces souches sont productrices de *Luk PV*.

Le typage SCCmec a montré que le SCCmec de type IV (29,3%) était le plus représenté, suivi de type I (23,9%), de type V (22,8%) et de type III (14,2%). Cette distribution a également été observée dans l'étude menée en Ouganda (Kateete *et al.*, 2019). Sur la base du typage moléculaire SCCmec et de la sécrétion de PVL, notre étude a révélé que les SARM Communautaires (qui ont des SCCmec de types IV et V) étaient les plus représentés (52,1 %) que les SARM Hospitaliers (types I à III). Cette observation a été rapportée précédemment au Pays Bas (Boye *et al.*, 2007), USA (Popovich *et al.*, 2013) et en Arabie Saoudite (Husam Khanfar *et al.*, 2012). Cependant une prévalence plus faible de SARM Communautaire a été signalée en Malaisie (Sit *et al.*, 2017). La prédominance des SARM d'origine communautaire dans notre étude peut être expliquée par le fait que les personnes âgées de 15 à 30 ans étaient les plus représentées. Les données de la revue de la littérature ont montré que les jeunes sont principalement porteurs de SARM communautaire, en raison de la rareté des hospitalisations et la non fréquentation du milieu hospitalier par ces derniers. En outre, des facteurs tels que le manque d'hygiène, les habitudes socioculturelles (salutations main à main, partage de repas commun) dans ces régions d'étude pourraient

contribuer à une prévalence accrue de *Staphylococcus aureus* communautaire, car il est facilement transmis par le contact des mains.

Dans notre étude, il ressort que les échantillons d'ECBU, d'hémoculture et de plaie chirurgicale ont été acquis principalement dans la communauté et les germes issus de ces prélèvements ont montré une résistance à la Pénicilline, au Cotrimoxazole, à la Tétracycline et à l'Ofloxacine; tandis qu'ils présentaient une sensibilité assez élevée face à la Rifampicine, la Lincomycine, l'Erythromycine et la Minocycline. Par ailleurs, les *S. aureus* isolés à partir du pus et des coprocultures provenaient de patients hospitalisés. Les isolats issus de ces derniers étaient résistants à la pénicilline, au Cotrimoxazole, à la Tétracycline et à la Gentamicine, tandis qu'une sensibilité à la Rifampicine, à la Lincomycine et à l'Acide fusidique a été observée. Des résultats similaires ont été rapportés en Inde (**Preeja PP et al 2021**). Notre étude met également en évidence le fait que le taux de SARM multirésistant dans la population est en augmentation au Cameroun, car tous nos isolats de SARM étaient MDR. Les isolats présentaient un taux de résistance élevé aux principaux antimicrobiens, y compris les bêta-lactamines et les aminoglycosides, la tétracycline, fréquemment utilisés dans le traitement. De plus, notre étude décrit une prévalence élevée de XDR et l'émergence de PDR parmi les SARM-CA et les SARM-HA. Un taux alarmant de XDR et de PDR a également été décrit par Sina *et al* (**Sina et al 2013**).

Selon les données de l'Atlas de la fédération internationale du Diabète neuvième édition paru en 2019, l'incidence de cette pathologie pourrait atteindre 590 millions de personnes dans le monde d'ici 2035. Le nombre sans cesse croissant d'infections, augmente significativement des complications associées au diabète, les infections de la peau et tissus mous sont les plus courantes chez les personnes atteintes du diabète (**Abu-Ashour et al., 2018**). Ces infections se manifestent le plus souvent par des ulcères du pied (**Falcone et al., 2021**). Malgré que ces ulcères soient le plus souvent polymicrobiens, *Staphylococcus aureus* est le pathogène le plus isolé dans ce type d'infection (**Jneid et al., 2018**). Dans notre étude, nous avons évalué la prévalence du SARM chez les patients diabétiques ayant donné leur consentement pour participer à l'étude ainsi, les 9,8 % des patients infectés par le SARM étaient diabétiques. Ce résultat est très proche de celui obtenu par Shettigar et Murali, qui est de 9,2 % (**Shettigar and Murali, 2020**). Ces patients sont tous des hommes et ceux âgés de 30 à 45 ans sont les plus représentés. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que nos patients provenaient beaucoup plus des grandes métropoles capitales de ces régions où les activités sont beaucoup plus centrées sur le commerce. Ces hommes qui en sont des acteurs majeurs, selon notre constat, passent beaucoup plus de temps au marché et n'arrivent pas à

contrôler leur alimentation. Nous pensons que ce fait augmenterait le risque d'exposition au diabète et le défaut d'hygiène, et l'exposition constante à la poussière favoriserait aussi le risque de surinfection par certains germes à l'instar de *Staphylococcus aureus*. Sur le plan mondial et selon l'atlas 2019 de la fédération internationale du diabète, les deux tiers de personnes vivant avec le diabète sont dans les milieux urbains et trois personnes sur quatre sont en âge de travailler (Saeedi *et al.*, 2019). Les patients diabétiques ont présenté une résistance assez élevée aux bêtalactamines, Cotrimoxazole et aminosides. Cela se justifierait par le fait que tous ces patients diabétiques étaient hospitalisés. Durant cette étude, nous avons remarqué que les souches d'origine hospitalière présentaient ce profil.

Selon les statistiques de l'ONU/SIDA en 2020, près de 37,7 millions de personnes vivaient avec le VIH/SIDA dans le monde, ce nombre ne cesse d'augmenter grâce à l'amélioration du dépistage et à l'allongement de l'espérance de vie et au meilleur accès au traitement par les patients (ONU/SIDA, 2020). Cependant, ces personnes vivant avec ces comorbidités sont exposées à des multiples infections ; ceci dû à la baisse du niveau de leur immunité. Ainsi les infections dues aux pathogènes à l'instar de *Staphylococcus aureus*, représentent une morbidité assez importante (Onorato *et al.*, 1999). Il s'avère que la colonisation par *Staphylococcus aureus* est beaucoup plus fréquente chez les personnes atteintes par le VIH que dans la population normale, ce qui conduit plusieurs à s'accorder sur le fait que l'incidence d'infection est beaucoup élevée chez ces personnes. Cette incidence est encore beaucoup plus élevée chez les personnes infectées par le SARM (Farley *et al.*, 2015). Ainsi, vivre avec le VIH et le diabète a été reconnu comme un des facteurs de risque le plus important associé aux résistances des bactéries face aux antibiotiques (Hidron *et al.*, 2010). Dans notre étude, 8,7 % étaient séropositifs au VIH et ont enregistré des taux élevés de résistance aux antimicrobiens. Nos résultats sont proches de ceux obtenus par Shettigar *et al.* en 2019 (9,20 %) (Shettigarb et Muralli, 2020). Les souches isolées chez les patients séropositifs ont présentés un fort taux de résistance vis-à-vis de la pénicilline, le cotrimoxazole, la tétracycline et la gentamicine. Ce résultat est préoccupant car le cotrimoxazole est le médicament de choix pour les infections opportunistes chez les patients séropositifs VIH au Cameroun.

La classification phylogénique indique que *S. aureus* appartient au phylum des firmicutes, regroupant les bactéries Gram positifs. Elle est parmi les bacilles, de l'ordre des Bacillales, de la famille de *Staphylococcaceae*, du genre *Staphylococcus* et Espèce *aureus* (Parte, 2018). Cette technique de typage est basée sur la différenciation de souches de microorganismes provenant d'une même espèce à l'instar de *Staphylococcus*. Elle est fondée

sur la détection de caractères présents dans l'espèce mais qui peuvent varier au sein de cette même espèce. La technique permet de différencier les souches sans lien clonale et associer les souches issues d'une même chaîne de transmission. Sur le plan phylogénétique, le typage peut permettre d'étudier l'hétérogénéité d'une espèce bactérienne sous différents aspects tels que la diversité génomique des souches en fonction de leur répartition géographique, leur profil de résistance aux antibiotiques ou leur virulence (**Holmes et al., 2010**). Ainsi, la situation de l'isolat de l'Extrême-Nord dans la branche le rapproche beaucoup plus de la souche égyptienne et celle de la Chine. Le fait que la souche soit d'origine communautaire, la diversité environnementale, les mouvements géographiques de la population sont les hypothèses qui pourraient expliquer la ressemblance constatée. Cependant les isolats de l'Adamaoua se distinguent sur l'arbre phylogénétique de celui de l'Extrême-Nord mais les deux semblent présenter le même phénotype. Après avoir effectué une traçabilité des données sur le questionnaire de l'étude et les analyses moléculaires effectuées, nous avons constaté que les souches sont d'origines hospitalières, isolées dans deux services différents mais situées côte à côte, à six (06) jours d'intervalle sur deux patients différents. Ce qui signifie que la transmission horizontale pourrait être possible, tout comme le manutentionnement du germe par le personnel soignant ou les visiteurs. Quatre différents types de substitution de paires de bases ont été enregistrés, la diversité des nucléotides et des haplotypes est statistiquement significatif, ce qui nous pousse à dire que ces mutations sont réelles et pourraient être expliquées par le fait que les souches étant d'origine hospitalière, elles auront subi une pression de sélection, c'est peut-être leur réaction pour pouvoir survivre qui a engendré ces mutations. Le fait que les souches soient issues d'un même centre hospitalier remet en cause l'hygiène hospitalière et la désinfection de l'environnement. L'arbre phylogénétique indique que les deux souches seraient issues d'une même lignée de *S. aureus*, isolée dans les hôpitaux d'autres pays tels que l'Inde (MK165143), les USA (MF385261). Nos résultats corroborent ceux de l'étude menée dans d'autres pays du monde qui ont montrés que la dimension génétique des souches de *S. aureus* n'était pas la même malgré que l'étude soit effectuée dans un même pays (**Gumaa et al., 2021; Liao et al., 2020**).

Au vu de ces résultats, l'infection par ces pathogènes pourrait fortement augmenter le risque de développer une résistance aux antibiotiques et, par conséquent, augmenter la mortalité et la morbidité de ces patients.

## CONCLUSION

Notre étude a révélé une fréquence d'isolement de 60,3% par la technique conventionnelle et de 45,54 % par la technique moléculaire de *S. aureus* multirésistants dans les régions de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord du Cameroun. Les jeunes âgés de 15 à 30 ans étaient les plus représentés avec un taux de résistance de 33,1%. La fréquence des souches multirésistantes est en constante progression. Le pus, les hémocultures restent les fluides biologiques dans lesquels ce germe est le plus isolé. Sur les antibiotiques utilisés pour le traitement des infections à *S. aureus* testés, il ressort que *S. aureus* a présenté un fort taux de résistance face à la Pénicilline, le Cotrimoxazole, la Tétracycline avec respectivement 90,2%, 85,9% et 70,7 %. Cependant cette bactérie a démontré une bonne sensibilité face à la Rifampicine, l'Acide fusidique, la Lincomycine, la Minocycline et l'amoxicilline plus acide clavulanique. Notre étude a aussi révélée la circulation des souches résistantes à la vancomycine qui constituait un recours idéal pour le traitement des souches multirésistantes. Cela nous pousse à dire que le traitement à base de certaines pénicillines doit être suspendu et en l'absence d'un résultat avec antibiogramme observer le schéma thérapeutique suivant :

- (1) Pour la région de l'Adamaoua, mettre le traitement à base de la Rifampicine, Acide fusidique, lincomycine, ofloxacin et l'Amoxicilline plus acide clavulanique. tout en tenant en considération de l'âge, l'état général.
- (2) Pour la région de l'Extrême-nord, administrer la rifampicine la lincomycine, l'acide fusidique, l'érythromycine, l'Amoxicilline plus acide clavulanique.

Cependant des efforts s'imposent pour doter les laboratoires des équipements nécessaires pour la réalisation des examens avec antibiogramme.

La caractérisation génotypique des isolats a montré que 97,8% sont porteur du gène de résistance *mecA* et 53,3% produisent le facteur de virulence *PVL*, porté par les gènes *Luk S/F*. La caractérisation du SSCmec type I à V effectué a révélé que le type IV était le plus représenté suivi du type I, ce qui nous a permis de déterminer l'origine des souches. Il ressort que les SARM d'origine communautaire étaient les plus répandus avec 52,1%. Notre étude révèle une émergence des souches communautaires porteuses des gènes de résistance et sécrétant des facteurs de virulence, c'est une preuve de la circulation des souches multirésistantes dans cette partie du pays, ceci est un problème majeur de santé publique.

Le diabète et le VIH sont les deux facteurs de risques associés considérés dans le cadre de notre étude. L'évaluation de la résistance aux antibiotiques antistaphylococcique chez ces personnes a montré qu'elles sont plus susceptibles de développer des infections

multirésistantes que les personnes non infectées. Un suivi particulier doit donc être mis en place pour ces personnes afin de baisser le taux de décès.

L'identification phylogénétique de quelques souches a montré que l'isolat provenant de l'Extrême-Nord présente plus de ressemblance avec celle de l'Égypte et de la Chine. Par contre, les isolats issus de l'Adamaoua semblent présenter une parenté assez étroite et aussi proche d'autres pays à l'instar de l'Inde, des USA et de l'Italie. Cependant, en se basant sur la diversité génétique des isolats, six différents types de substitutions sur les paires de bases ont été recensés sur les isolats originaires de l'Adamaoua comparées à la souche de référence. Ces substitutions pourraient s'expliquer par le fait que ces isolats étant d'origine hospitalière, elles ont subi une pression de sélection et leur réaction pour pouvoir survivre dans cet environnement aurait entraîné la mutation de paires de bases. Il est ainsi préférable d'éviter l'acharnement thérapeutique sur les patients hospitalisés.

## **Recommandations**

Arrivée au terme de notre étude nous formulons les recommandations suivantes à l'endroit des professionnels de la santé, toutes personnes impliquées dans des décisions relatives à la politique de la santé et de la population en général.

### ➤ **Aux professionnels de la santé :**

- Réorienter la prise en charge thérapeutique des patients en l'absence d'un résultat avec antibiogramme. Observer le schéma thérapeutique suivant :

1- Pour la région de l'Adamaoua, mettre le traitement à base de la Rifampicine, Acide fusidique, Lincomycine, Ofloxacine et l'Amoxicilline plus acide clavulanique. Tout en tenant en considération de l'âge, l'état général.

2- Pour la région de l'Extrême-nord, administrer la rifampicine la lincomycine, l'acide fusidique, l'érythromycine, l'Amoxicilline plus acide clavulanique..

- Mettre en œuvre des mesures d'asepsie strictes pour les professionnels de la santé et une plus grande sensibilisation aux mesures d'hygiène sont nécessaires pour limiter la propagation des souches multirésistantes dans notre société.

- Limiter l'acharnement thérapeutique sur les patients afin de réduire la pression de sélection.

### ➤ **Aux décideurs :**

- Doter les hôpitaux des équipements nécessaires pour effectuer des examens avec antibiogramme ;

### ➤ **A la population en général**

- Ne prendre toute forme d'antibiotique que sous prescription médicale ;

- Limiter le passage dans les centres hospitaliers pour les visites des patients hospitalisés ;

- Adopter une bonne hygiène de vie.

## **Perspectives**

- L'identification phylogénétique ayant révélé l'existence des mutations de paires de base sur les souches originaires du Cameroun, d'autres études pour déterminer origine et les conséquences de ces mutations sont nécessaires ;
- La détermination de Scmec a montré que deux isolats récoltés à l'Adamaoua étaient non typables, des études approfondies pour déterminer leur sérotypes sont nécessaire ;
- L'évaluation de l'activité hémolytique et la capacité de production de biofilm sont nécessaires.
- Organiser les séances de restitution du travail dans les sites de l'étude

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abu-Ashour W, Twells LK, James E, Valcour JE and Gamble J-M** (2018) Diabetes and the occurrence of infection in primary care: a matched cohort study, *BMC Infectious Diseases* 18:67.
- **Agnes Enyoh B., Michel Toukam., Julius Atashili., Charles Fokunang., Hortense Gonsu., Emilia Enjema L., Henshaw Mandi., George Ikomey., Bertha Mukwele., Martha Mesembe., Marie Claire O.** (2014) Relationship between multiple drug resistance and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from medical and non-medical personnel in Yaounde, Cameroon. *Pan African Medical Journal*; 17:186
- **Agusto, F.B., and Kim, S.** (2019). Impact of Mobility on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* among Injection Drug Users. *Antibiotics* 8, 81.
- **Aires de Sousa, M., and Lencastre, H.** (2004). Bridges from hospitals to the laboratory: genetic portraits of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones. *FEMS Immunology. and Medical Microbiology* 40, 101–111.
- **Alioua, M.A.** (2016). Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Université Badji Mokhtar – Annaba Algérie. Thèse de Doctorat en Microbiology consulté 23/06/2021 à 22h23min.
- **Alonzo, F., and Torres, V.J.** (2014). The Bicomponent Pore-Forming Leucocidins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology and Molecular Biology Review* 78, 199–230.
- **Alvarez, C.A., Yomayusa, N., Leal, A.L., Moreno, J., Mendez-Alvarez, S., Ibañez, M., and Vanegas, N.** (2010). Nosocomial infections caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Colombia. *American Journal of Infection Control* 38, 315–318.
- **Amit K Kesharwani and Jyoti Mishra** (2018). Detection of  $\beta$ -lactamase and antibiotic susceptibility of Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.12.012>.
- **Andrew N. Alexander, Liam J. Worrall, Jinhong Hu, Marija Vuckovic, Nidhi Satishkumar, Raymond Poon, et al** (2023) Structural basis of broad-spectrum  $\beta$ -lactam resistance in *Staphylococcus aureus*, *Pringer Nature* <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05583-3>.
- **Antonanzas, F., Lozano, C., and Torres, C.** (2015). Economic Features of Antibiotic Resistance: The Case of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacoeconomics* 33, 285–325.

- **Archana GJ, Sinha AY, Annamanedi M, Asrith KP, Kale SB, Kurkure NV, Doijad,SP, Nagamani K, Hegde NR** (2020) Molecular characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients at a tertiary care hospital in Hyderabad, South India. *Indian Journal of Medical Microbiology*;38:183-91.
- **Askarian, F., Wagner, T., Johannessen, M., and Nizet, V.** (2018). *Staphylococcus aureus* modulation of innate immune responses through Toll-like (TLR), (NOD)-like (NLR) and C-type lectin (CLR) receptors. *FEMS Microbiology. Review.* 42, 656–671.
- **Assoni, L., Milani, B., Carvalho, M.R., Nepomuceno, L.N., Waz, N.T., Guerra, M.E.S., Converso, T.R., and Darrieux, M.** (2020). Resistance Mechanisms to Antimicrobial Peptides in Gram-Positive Bacteria. *Frontiers in Microbiology* 11, 593215.
- **Barcelo, M., Chauvet, E., Boukhari, R., et Mbieleu, B.** (2009). Pneumopathie nécrosante staphylococcique productrice de leucocidine de Panton-Valentine d'évolution favorable. *Archives. Pédiatrie* 16, 32–36.
- **Beceiro, A., Tomás, M., et Bou, G.** (2013). Antimicrobial Resistance and Virulence: a Successful or Deleterious Association in the Bacterial World *Clinical Microbiology. Review.* 26, 185–230.
- **Bezrukov, S.M., et Nestorovich, E.M.** (2016). Inhibiting bacterial toxins by channel blockage. *Pathogens. Disesae.* 74, 113.
- **Bhatta DR, Cavaco LM, Nath G, Kumar K, Gaur A, Bhatta DR** (2016) Association of Panton Valentine Leukocidin (PVL) genes with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Western Nepal: a matter of concern for community infections (a hospital based prospective study). *BMC Infectious Diseases.* 16:199
- **Bond, C.M.** (2015). La gérance des antibiotiques : un rôle important du domaine de la pharmacie. *Canadian Journal of Hospital Pharmacy* 68.
- **Bondeelle, L., Bergeron, A., and Wolff, M.** (2019). Place des nouveaux antibiotiques dans le traitement de la pneumonie aiguë communautaire de l'adulte. *Revue des Maladies Respiratoires.* 36, 104–117.
- **Boundy, S., Safo, M.K., Wang, L., Musayev, F.N., O'Farrell, H.C., Rife, J.P., and Archer, G.L.** (2013). Characterization of the *Staphylococcus aureus* rRNA Methyltransferase Encoded by orfX, the Gene Containing the Staphylococcal Chromosome Cassette mec (SCCmec) Insertion Site. *Journal of Biological. Chemistry.* 288, 132–140.
- **Bourgeois-Nicolaos, N., and Guillet-Caruba, C.** (2012). Glycopeptides. EMC - *Maladies. Infectieuses* 9, 1–10.

- **Boye, K., Bartels, M.D., Andersen, I.S., Møller, J.A., and Westh, H.** (2007). A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec types I–V. *Clinical Microbiology and Infection*. 13, 725–727.
- **Boyle-Vavra, S., and Daum, R.S.** (2007). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Pantón–Valentine leukocidin. *Laboratory Investigation* 87, 3–9.
- **Breurec, S., Fall, C., Pouillot, R., Boisier, P., Brisse, S., Diene-Sarr, F., Djibo, S., Etienne, J., Fonkoua, M.C., Perrier-Gros-Claude, J.D., Ramarokoto, C. E., Randrianirina, F., Thiberge, J. M., Zriouil, S. B., the Working Group on *Staphylococcus aureus* infections\*, Garin, B. and Laurent F.** (2011). Epidemiology of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* lineages in five major African towns: high prevalence of Pantón-Valentine leukocidin genes. *Clinical Microbiology and Infection* 17, 633–639.
- **Brown, D.F.J., Edwards, D.I., Hawkey, P.M., Morrison, D., Ridgway, G.L., Towner, K.J., and Wren, M.W.D.** (2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy* 56, 1000–1018.
- **Buonomini, A.R., Riva, E., Di Bonaventura, G., and Gherardi, G.** (2020). Rapid Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Directly from Blood for the Diagnosis of Bloodstream Infections: A Mini-Review. *Diagnostics* 10, 830.
- **Burkey, M., Wilson, L., Moore, R., Lucas, G., Francis, J., and Gebo, K.** (2008). The incidence of and risk factors for MRSA bacteraemia in an HIV-infected cohort in the HAART *HIV Medecine*. 9, 858–862.
- **Cabrera, R., Fernández-Barat, L., Motos, A., López-Aladid, R., Vázquez, N., Panigada, M., Álvarez-Lerma, F., López, Y., Muñoz, L., Castro, P., Vila P and Torres A.** (2020). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains from the endotracheal tubes of patients with nosocomial pneumonia. *Antimicrobial and Infection. Control* 9, 43.
- **Cameroon water Partnership (2007)**, Stratégie nationale de gestion durable des eaux et des sols dans l'espace agro sylvo pastorale au Cameroun
- **CDC** (2013). Antibiotic resistance threats in the United States (USA). <http://www.cdc.gov/abcs/index.html>. Consulté le 20/07/2021 à 16h31min.
- **Chambers, H.F., and DeLeo, F.R.** (2009). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology* 7, 629–641.

- **Chaouch, C., Kacem, S., Tilouche, L., Ketata, S., Bouallegue, O., and Boujaafar, N.** (2015). Panton-Valentine leukocidin-positive osteoarticular infections. *Médecine Santé Tropicale*. 25, 184–188.
- **Chen, C.-J., and Huang, Y.-C.** (2014). New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection* 20, 605–623.
- **Chen, L., Chavda, K.D., Solanki, M., Mediavilla, J.R., Mathema, B., Schlievert, P.M., and Kreiswirth, B.N.** (2013). Genetic Variation among Panton-Valentine Leukocidin-Encoding Bacteriophages in *Staphylococcus aureus* Clonal Complex 30 Strains. *Journal of Clinical. Microbiol.* 51, 914–919.
- **Chinnambedu, R.S., Marimuthu, R.R., Sunil, S.S., Amrose, P., Ramachandran, V., and Pachamuthu, B.** (2020). Changing antibiotic resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from HIV patients (2012–2017) in Southern India. *Journal of Infectiology and Public Health* 13, 75–79.
- **Chung, Y., Kim, T.S., Min, Y.G., Hong, Y.J., Park, J.S., Hwang, S.M., Song, K.-H., Kim, E.S., Park, K.U., Kim, H.B., Song, J. and Kim E-C** (2016). Usefulness of Multiplex Real-Time PCR for Simultaneous Pathogen Detection and Resistance Profiling of Staphylococcal Bacteremia. *BioMed Research International* 1–7.
- **Cockfield, J.D., Pathak, S., Edgeworth, J.D., and Lindsay, J.A.** (2007). Rapid determination of hospital-acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. *Journal of Medical Microbiology*. 56, 614–619.
- **Collins, J., Rudkin, J., Recker, M., Pozzi, C., O’Gara, J.P., and Massey, R.C.** (2010). Offsetting virulence and antibiotic resistance costs by MRSA. *ISME Journal* 4, 577–584.
- **Côrtés, M.F., Botelho, A.M.N., Bandeira, P.T., Mouton, W., Badiou, C., Bes, M., Lima, N.C.B., Soares, A.E.R., Souza, R.C., Almeida, L.G.P., Martins-Simoes, P., Vasconcelos, A. T. R., Nicolás, M. F., Laurent, F., Planet, P. J., Agnes M. S. F.** (2021). Reductive evolution of virulence repertoire to drive the divergence between community- and hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of the ST1 lineage. *Virulence* 12, 951–967.
- **Crum-Cianflone, N.F., Burgi, A.A., and Hale, B.R.** (2007). Increasing rates of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among HIV-infected persons. *International Journal STD AIDS* 18, 521–526.
- **Da costa, T.M.; De Oliveira, C.R.; Chambers, H.F.; Chatterjee, S.S.** (2018) PBP4 A New Perspective on *Staphylococcus aureus*  $\beta$ -Lactam Resistance. *Microorganisms* 6, 57. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030057>.

- **Daurel, C., and Leclercq, R.** (2008). L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone de Laboratoire*. 81–90.
- **Dauwalder, O., Lina, G., Durand, G., Bes, M., Meugnier, H., Jarlier, V., Coignard, B., Vandenesch, F., Etienne, J., and Laurent, F.** (2008). Epidemiology of Invasive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones Collected in France in 2006 and 2007. *Journal of Clinical Microbiology*. 46, 3454–3458.
- **David, R.** (2013). *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Université d'Angers, Thèse de Doctorat en Pharmacie. Archives Hal. 126.
- **David, M.Z., and Daum, R.S.** (2010). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. *Clinical Microbiology Review*. 23, 616–687.
- **DeLeo, F.R., Diep, B.A., et Otto, M.** (2009). Host Defense and Pathogenesis in *Staphylococcus aureus* Infections. *Infectious Disease Clinic in North America* 23, 17–34.
- **DeMarco, C.E., Cushing, L.A., Frempong-Manso, E., Seo, S.M., Jaravaza, T.A.A., and Kaatz, G.W.** (2007). Efflux-Related Resistance to Norfloxacin, Dyes, and Biocides in Bloodstream Isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 51, 3235–3239.
- **Dey, T.K., Shome, B.R.; Bandyopadhyay, S., Goyal, N.K. Lundkvist, Å., Deka, R.P., Shome, R., Venugopal, N., Grace, D., Sharma, G., et al.** (2023) Molecular Characterization of Methicillin-Resistant Staphylococci from the Dairy Value Chain in Two Indian States. *Pathogens*, 12, 344. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020344>
- **Deurenberg, R.H., and Stobberingh, E.E.** (2008). The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection Genetic and Evolution* 8, 747–763.
- **Diep, B.A., Chan, L., Tattevin, P., Kajikawa, O., Martin, T.R., Basuino, L., Mai, T.T., Marbach, H., Braughton, K.R., Whitney, A.R., Gardner, D.J., Fan, X., Tseng, C.W., Liu, G.Y., Badiou, C., Etienne, J., Lina, G., Michael A., DeLeo, F.R., Henry F. C. et Richard P. N.** (2010). Polymorphonuclear leukocytes mediate *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin-induced lung inflammation and injury. *Proceedings of National Academy of Science. U. S. A.* 107, 5587–5592.

- **Djibrilla Yaouba (2014)** Surveillance clinique des infections du site opératoire à l'hôpital régional de Ngaoundéré (Cameroun), Mémoire online consulté le 12/06/2021 à 17h40 min
- **Doudoulakakis, A.G., Bouras, D., Drougka, E., Kazantzi, M., Michos, A., Charisiadou, A., Spiliopoulou, I., Lebessi, E., et Tsolia, M. (2016).** Community-associated *Staphylococcus aureus* pneumonia among Greek children: epidemiology, molecular characteristics, treatment, and outcome. *European Journal of Clinical Microbiology and Infection Disease* 35, 1177–1185.
- **Duckworth, G.J. (1993).** Diagnosis and management of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection. *BMJ* 307, 1049–1052.
- **Dufour, P., Gillet, Y., Bes, M., Lina, G., Vandenesch, F., Floret, D., Etienne, J., et Richet, H. (2002).** Community- Acquired Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in France: Emergence of a Single Clone That Produces Panton- Valentine Leukocidin. *Clinical Infectious Disease* 35, 819–824.
- **Dujardin, M., Beti, E., et Vanhecke, C. (2018).** Pneumopathie nécrosante à *Staphylococcus aureus*. *Annales Francaises de Médecine d'urgence* 8, 178–180.
- **Dulon, M., Haamann, F., Peters, C., Schablon, A., et Nienhaus, A. (2011).** MRSA prevalence in european healthcare settings: a review. *BMC Infectious. Disease* 11, 138.
- **Dumitrescu, O., Badiou, C., Bes, M., Reverdy, M.-E., Vandenesch, F., Etienne, J., and Lina, G. (2008).** Effect of antibiotics, alone and in combination, on Panton–Valentine leukocidin production by a *Staphylococcus aureus* reference strain. *Clinical Microbiology Infection* 14, 384–388.
- **Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Boisset, S., Reverdy, M.-É., Tristan, A., et Vandenesch, F. (2010).** Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*: Les points-clés en 2010. *Médecine/sciences* 26, 943–949.
- **Dupont, C. (2018)** Les granulocytes neutrophiles : morphologie, fonctions et méthodes de quantification dans l'espèce bovine. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 78 p.
- **Duran, N., Ocak, S., et Eskiocak, A.F. (2006).** *Staphylococcus aureus* nasal carriage among the diabetic and non-diabetic haemodialysis patients: nasal carriage of *S. aureus* in haemodialysis patients. *International. Journal of Clinical. Pract.* 60, 1204–1209.
- **Durand, G. (2009).** Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1). 220.

- **Ebob Agbortabot Bissong, M., Wirgham, T., Alice Enekegbe, M., Thelma Ngwa Niba, P., et Eric Tatsing Foka, F. (2016).** Prevalence and Antibiotic Susceptibility Patterns of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Patients Attending the Laquintinie Hospital Douala, Cameroon. *European Journal of Clinical Biomedecine Sci.* 2, 92.
- **Eiff, C.V., et Peters, G. (2001).** Nasal Carriage as a Source of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *New England Journal of Medecine* 6.
- **El-Hamid, M.I.A. (2016).** Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Overview. *Advanced Techniques in Clinical Microbiology.* 1:1.
- **Ellis, M.W., Schlett, C.D., Millar, E.V., Wilkins, K.J., Crawford, K.B., Morrison-Rodriguez, S.M., Pacha, L.A., Gorwitz, R.J., Lanier, J.B., and Tribble, D.R. (2014).** Hygiene Strategies to Prevent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Skin and Soft Tissue Infections: A Cluster-Randomized Controlled Trial Among High-Risk Military Trainees. *Clinical Infectious Disease.* 58, 1540–1548.
- **England Department of Health (2016).** Antimicrobial Resistance Empirical and Statistical Evidence-Base. A report from the Department of Health Antimicrobial Resistance Strategy Analytical Working Group. [www.nationalarchives.gov.uk/doc/open-government-licence/63](http://www.nationalarchives.gov.uk/doc/open-government-licence/63).
- **Falagas, M.E., Karageorgopoulos, D.E., Leptidis, J., et Korbila, I.P. (2013).** MRSA in Africa: Filling the Global Map of Antimicrobial Resistance. *PLoS ONE* 8, e68024.
- **Falcone M., Meier JJ, Marini MG, Caccialanza R, Mari´J, Del Prato S, Menichetti F. (2021)** Diabetes and acute bacterial skin and skin structure infections. *Diabetes Research and Clinical Practice* 174. 108732.
- **FAO. 2021.** *Plan d'action de la FAO contre la résistance aux antimicrobiens 2021-2025.* Rome. <https://doi.org/10.4060/cb5545fr>
- **Foster, T.J. (2017).** Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Review* 41, 430–449.
- **Freney J., Ferraud F., Leclercq R., Riegel P., (2006)** Précis de Bactériologie Clinique, 2<sup>ème</sup> édition. Les Editions ESKA-12., Rue Quatre Septembre-75002-Paris.
- **Fridkin, S.K., Hageman, J., McDougal, L.K., Mohammed, J., Jarvis, W.R., Perl, T.M., Tenover, F.C., (2003).** Epidemiological and Microbiological Characterization of Infections Caused by *Staphylococcus aureus* with Reduced Susceptibility to Vancomycin, United States, 1997–2001. *Clinical Infectious Disease* 36, 429–439.

- **Garnier, F., Mariani-Kurkdjian, P., Nordmann, P., Ferroni, A., Vu-Thien, H., Philippe, J.C., et Raymond, J.** (2002). Sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylocoques et d'entérocoques isolées en pédiatrie. *Médecine et Maladies Infectieuses* 32, 432–438.
- **Garrity, Jones, Krieg, Ludwig, et Rainey** (2009). Manual of Systematic Bacteriology, The Firmicutes. *Springer*, New York. vol 3 P392
- **Gauduchon, V., Cozon, G., Vandenesch, F., Genestier, A., Eyssade, N., Peyrol, S., Etienne, J., et Lina, G.** (2004). Neutralization of *Staphylococcus aureus* Panton Valentine Leukocidin by Intravenous Immunoglobulin In Vitro. *Journal of Infectious Disease* 189, 346–353.
- **Gebremedhn, G., Gebremariam, T.T., Wasihun, A.G., Dejene, T.A., et Saravanan, M.** (2016a). Prevalence and risk factors of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among HIV patients in Mekelle, Northern Ethiopia. *Springer Plus* 5, 877.
- **Ghalehnoo, Z.R.** (2018). Diagnosis, treatment and prevention of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Health Research*.4. 11; P 68-70
- **Gillet, Y.** (2013). Rôle physiopathologique de la leucocidine de Panton- Valentine (PVL) dans les infections humaines sévères à *Staphylococcus aureus*: exemple de la pneumonie staphylococcique nécrosante. Université Claude Bernard - Lyon I, NNT : 2013LYO10063 consulté le 10/06/2021 à 12h41min.
- **Gillet-Vittori, L., Afanetti, M., Dupont, A., Gondon, E., et Dupont, D.** (2014). Infections sévères à *Staphylococcus aureus* sécréteurs de la leucocidine de Panton– Valentine chez l'enfant : un large spectre de presentations cliniques. *Archives Pédiatrie* 21, 1220–1225.
- **Giraud, A.T., Mansilla, C., Chan, A., Raspanti, C., and Nagel, R.** (2003). Studies on the Expression of Regulatory Locus sae in *Staphylococcus aureus*. *Current. Microbiology*. 46, 0246–0250.
- **Gonsu K H, Yves Le Grand N T, Emilia L M, Jérémie D, Anicette C B, Michel N, Bonaventure J, Paul O E, et Arthur E** (2020) Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Intensive Care Units of Two University Hospitals in Cameroon *Microbiology Research Journal International* 30(4): 26-33.
- **Gordon, R.J., and Lowy, F.D.** (2008). Pathogenesis of Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Clinical Infectious Disease* 46, S350–S359.
- **Grumann, D., Nübel, U., and Bröker, B.M.** (2014). *Staphylococcus aureus* toxins – Their functions and genetics. *Infections Genetic and Evolotion*. 21, 583–592.

- **Guariguata, L., Whiting, D.R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., and Shaw, J.E.** (2014). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice* 103, 137–149.
- **Gumaa, M.A., Idris, A.B., Bilal, N.E., et Hassan, M.A.** (2021). First insights into molecular basis identification of 16 s ribosomal RNA gene of *Staphylococcus aureus* isolated from Sudan. *BMC Research*.14, 240.
- **Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., et Wang, Y.** (2020a). Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers Cellular Infection Microbiology* 10, 107.
- **Haddadin, R.N.S., Saleh, S., Al-Adham, I.S.I., Buultjens, T.E.J., et Collier, P.J.** (2010). The effect of subminimal inhibitory concentrations of antibiotics on virulence factors expressed by *Staphylococcus aureus* biofilms. *Journal of Applied Microbiology* 108, 1281–1291.
- **Hall, G.S.** (2013). Bailey & Scott’s Diagnostic Microbiology, 13<sup>th</sup> Ed. *Laboratory Medecine* 44, 138–139.
- **Harris, Foster, et Richards** (2002). An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. *Eurepean Cells Mater.* 39–60.
- **Hartman-Adams, H.** (2014). Impetigo: Diagnosis and Treatment. West Virginia University Robert C. Byrd Health Sciences Center, Morgantown, West Virginia 90, 7.
- **Hassoun, A., Linden, P.K., et Friedman, B.** (2017). Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations—a review of recent developments in MRSA management and treatment. *Critical Care* 21, 211.
- **Heikkila, M.P., et Saris, P.E.J.** (2003). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology* 95, 471–478.
- **Hidron, A., Moanna, M.D., A., Russell Kempker, M.D., et David Rimland, M.D.** (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *Infection and Drug Resistance.* 73.
- **Hiramatsu, K., Cui, L., Kuroda, M., et Ito, T.** (2001). The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiology.* 9, 486–493.
- **Holmes, A., Mühlen, S., Roe, A.J., et Dean, P.** (2010). The EspF Effector, a Bacterial Pathogen’s Swiss Army Knife. *Infection and Immunity.* 78, 4445–4453.
- **Hoppe, P.-A., Holzhauer, S., Lala, B., Bühner, C., Gratopp, A., Hanitsch, L.G., Humme, Kieslich, D, Kallinich, M., Lau, T., et Renate K.** (2019). Severe infections

of Panton-Valentine leukocidin positive *Staphylococcus aureus* in children. *Medicine* 98:38. e17185.

- **Hoy, J.F., Lewis, D.E., et Miller, G.G.** (1988). Functional Versus Phenotypic Analysis of T Cells in Subjects Seropositive for the Human Immunodeficiency Virus: A Prospective Study of in Vitro Responses to *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Infectious Disease* 158, 1071–1078.
- **Hsu, Y.-Y., Wu, D., Hung, C.-C., Huang, S.-S., Yuan, F.-H., Lee, M.-H., Huang, C.-T., Shie, S.-S., Huang, P.-Y., Yang, C.-C., Cheng, C. W., Leu, H.S., Wu, T. S., et Huang Y.C.** (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization among HIV-infected patients in Taiwan: prevalence, molecular characteristics and associated factors with nasal carriage. *BMC Infectious Disease* 20, 254.
- **Hu, D.-L., Ono, H.K., Isayama, S., Okada, R., Okamura, M., Lei, L.C., Liu, Z.S., Zhang, X.-C., Liu, M.Y., Cui, J.C.,** (2017). Biological characteristics of staphylococcal enterotoxin Q and its potential risk for food poisoning. *Journal of Applied Microbiology*. 122, 1672–1679.
- **Huang, S.-H.** (2006). Gold nanoparticle-based immunochromatographic test for identification of *Staphylococcus aureus* from clinical specimens. *Clinica Chimica Acta* 373, 139–143.
- **Huggan, P.J., Wells, J.E., Browne, M., Richardson, A., Murdoch, D.R., et Chambers, S.T.** (2010). Population-based epidemiology of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection in Canterbury, New Zealand: Epidemiology of *S. aureus* bacteraemia. *Intern. Med. J.* 40, 117–125.
- **Hull, M., Giguère, P., Klein, M., Shafran, S., Tseng, A., Côté, P., Poliquin, M., and Cooper, C.** (2014). Le Domaine des Co-infections et des Maladies Concomitantes du Réseau Canadien pour les Essais VIH des IRSC : Lignes Directrices Canadiennes pour la Prise en Charge et le Traitement de la Co-Infection par le VIH et l’Hépatite C chez les Adultes. *Canadian Journal of Infectious Disease and Medical Microbiology* 25, 39–62.
- **Husam Khanfar, Abiola Senok, Adnan Anani, and Vitaly Zinkevich** (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission in a low-prevalence healthcare setting. *Journal of Infectious and Public Health*. 5, 311-316.
- **Institut National de Statistiques et International Classification of Functioning** (2018). Enquete démographique et de santé, (<https://microdata.worldbank.org/index.php>). Consulté le 09/04/2022 à 12h54minutes

- **Ito, T., Katayama, Y., and Hiramatsu, K.** (1999). Cloning and Nucleotide Sequence Determination of the Entire *mec* DNA of Pre-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 43, 1449–1458.
- **Jindal, A.K., Pandya, K., and Khan, I.D.** (2015). Antimicrobial resistance: A public health challenge. *Medical Journal of Armed Forces India* 71, 178–181.
- **Jneid J, Cassir N, Schuldiner S, Jourdan N, Sotto A, Lavigne J-P et La Scola B** (2018) Exploring the Microbiota of Diabetic Foot Infections With Culturomics. *Frontiers in Cellular and Infections Microbiology*. 8:282.
- **Johnson, A.P.** (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the European landscape. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 66, 43–48.
- **Jyotshna Sapkota, Manisha Sharma, Beena Jha, and Chandra Prakash Bhatt** (2019). Prevalence of *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Samples in a Tertiary Care Hospital: A Descriptive Cross-sectional Study. *Nepal Medical Association* 398–402.
- **Judith Hübscher, Andrea Jansen, Oliver Kotte, Juliane Schäfer, Paul A Majcherzyk, Llinos G Harris, Gabriele Bierbaum, Matthias Heinemann and Brigitte Berger-Bächi** (2007) Living with an imperfect cell wall: compensation of *femAB* inactivation in *Staphylococcus aureus*, *BMC Genomics*, 8:307 doi:10.1186/1471-2164-8-307.
- **Kaneko, J., Kimura, T., Narita, S., Tomita, T., and Kamio, Y.** (1998). Complete nucleotide sequence and molecular characterization of the temperate staphylococcal bacteriophage PVL carrying Panton–Valentine leukocidin. *Gene*. 215, 57–67.
- **Katayama, Y., Ito, T., and Hiramatsu, K.** (2001). Genetic Organization of the Chromosome Region Surrounding *mecA* in Clinical Staphylococcal Strains: Role of IS 431 -Mediated *mecI* Deletion in Expression of Resistance in *mecA* -Carrying, Low-Level Methicillin- Resistant *Staphylococcus haemolyticus*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 45, 1955–1963.
- **Katayama, Y., Baba, T., Sekine, M., Fukuda, M., and Hiramatsu, K.** (2013a). Beta-Hemolysin Promotes Skin Colonization by *Staphylococcus aureus*. *Journal Bacteriology* 195, 1194–1203.
- **Kateete, D.P., Kimani, C.N., Katabazi, F.A., Okeng, A., Okee, M.S., Nanteza, A., Joloba, M.L., and Najjuka, F.C.** (2010a). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobial*. 9, 23.

- **Kateete, D.P., Namazzi, S., Okee, M., Okeng, A., Baluku, H., Musisi, N.L., Katabazi, F.A., Joloba, M.L., Ssentongo, R., and Najjuka, F.C.** (2011b). High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the surgical units of Mulago hospital in Kampala, Uganda. *BMC Research. Notes* 4, 326.
- **Kateete, D.P., Bwanga, F., Seni, J., Mayanja, R., Kigozi, E., Mujuni, B., Ashaba, F.K., Baluku, H., Najjuka, C.F., Källander, K., et al.** (2019c). CA-MRSA and HA-MRSA coexist in community and hospital settings in Uganda. *Antimicrobial Resistance Infection Control* 8, 94.
- **Kénanian, G.** (2018). *Staphylococcus aureus* se met transitoirement en dormance pour utiliser les acides gras de l'hôte et échapper à une inhibition par un anti-FASII : quel signal active son réveil. Université Paris-Saclay. Thèse de Doctorat PhD. Consulté le 16/01/2022 à 14h20min.
- **Kengne, M., Fotsing, O., Ndomgue, T., et Mbekem Nwobegahay, J.** (2019). Antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* strains isolated at the Yaounde Central Hospital, Cameroon: a retro prospective study. *Pan African Medical Journal* 32.
- **Kesah, C., Ben Redjeb, S., Odugbemi, T.O., Boye, C.S.-B., Dosso, M., Ndinya Achola, J.O., Koulla-Shiro, S., Benbachir, M., Rahal, K., et Borg, M.** (2003). Prevalence of methicillin—resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. *Clinical Microbiology Infection* 9, 153–156.
- **Khanal, A., G.C., S., Gaire, A., Khanal, A., Estrada, R., Ghimire, R., et Panthee, S.** (2021). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Nepal: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Disease* 103, 48–55.
- **Klevens, R.M., Edwards, J.R., Tenover, F.C., McDonald, L.C., Horan, T., Gaynes, R.,** (2006). Changes in the Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Intensive Care Units in US Hospitals, 1992-2003. *Clinical Infection Disease* 42, 389–391.
- **Kluytmans, J., Belkum, A.V., and Verbrugh, H.** (1997). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. *Clinical microbiology review* 10, 16.
- **Köck, R., Becker, K., Cookson, B., van Gemert-Pijnen, J.E., Harbarth, S., Kluytmans, J., Mielke, M., Peters, G., Skov, R.L., Struelens, M.J., Tacconelli E., Torné A.N., Witte W., Friedrich A. W.,** (2010a). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Eurosurveillance* 15, 5(41).

- **Köck, R., Schaumburg, F., Mellmann, A., Köksal, M., Jurke, A., Becker, K., et Friedrich, A.W.** (2013b). Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as Causes of Human Infection and Colonization in Germany. *PLoS ONE* 8.
- **Kong, E.F., Johnson, J.K., et Jabra-Rizk, M.A.** (2016). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Enemy amidst Us. *PLOS Pathogens* 12, e1005837.
- **Krakauer, T., Pradhan, K., and Stiles, B.G.** (2016a). Staphylococcal Superantigens Spark Host-Mediated Danger Signals. *Frontiers Immunology* 7.
- **Kreienbuehl, L., Charbonney, E., et Eggimann, P.** (2011). Community-acquired necrotizing pneumonia due to methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* secreting Panton-Valentine leukocidin: a review of case reports. *Annals of Intensive Care* 1, 52.
- **Kresge, N., Simoni, R.D., et Hill, R.L.** (2004). Selman Waksman: the Father of Antibiotics. *Journal of Biological Chemistry* 279, 7–8.
- **Kuete, V., Eyong, K.O., Folefoc, G.N., Beng V. P., Hussain H., Krohn K., Nkengfack A. E.** (2007). Antimicrobial activity of the methanolic extract and of the chemical constituents isolated from *Newbouldia laevis*. *Pharmazie* 62: 552–556.
- **Kuritzkes, D.R.** (2000). Neutropenia, Neutrophil Dysfunction, and Bacterial Infection in Patients with Human Immunodeficiency Virus Disease: The Role of Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Clinical Infectious Disease* 30, 256–270.
- **Lakhundi, S., and Zhang, K.** (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical Microbiology Review* 31.
- **Larburu, N.** (2015). Etude structurale de la biogenèse de la petite sous-unité ribosomique humaine par cryo-microscopie électronique et analyse d'images. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01452636>. 213.
- **Laupland, K.B., Church, D.L., Mucenski, M., Sutherland, L.R., and Davies, H.D.** (2003). Population- Based Study of the Epidemiology of and the Risk Factors for Invasive *Staphylococcus aureus* Infections. *Journal of Infectious Disease* 187, 1452–1459.
- **Laupland, K.B., Lyytikäinen, O., Sgaard, M., Kennedy, K.J., Knudsen, J.D., Ostergaard, C., Galbraith, J.C., Valiquette, L., Jacobsson, G., Collignon, P., Schönheyder H. C.** (2013). The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*

bloodstream infection: a multinational population-based surveillance study. *Clinical Microbiology Infection* 19, 465–471.

- **Lee, A.S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., and Harbarth, S.** (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Review Disease Primer* 4, 18033.
- **Lemma, M.T., Zenebe, Y., Tulu, B., Mekonnen, D., and Mekonnen, Z.** (2015). Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* among HIV Infected Pediatric Patients in Northwest Ethiopia: Carriage Rates and Antibiotic Co-Resistance Profiles. *PLOS ONE* 10, e0137254.
- **Leontine, K.S., Jerome, N.D., Samuel, W., and Sinata, S.K.** (2020). Prevalence, susceptibility testing and multi drug resistance risk factors to methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in nasal carriage of hospitalized patients and medical staff in selected hospitals in Cameroon. *Journal Microbiology Antimicrobial* 12, 42–51.
- **Lescure, F.-X., Locher, G., Eveillard, M., Biendo, M., Agt, S.V., Loup, G.L., Douadi, Y., Ganry, O., Vandenesch, F., Eb, F., Schmit F.J., Etienne J.** (2006). Community-Acquired Infection With Healthcare-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: The Role of Home Nursing Care. *Infectious Control Hospital Epidemiology* 27, 1213–1218.
- **Li, W., Atkinson, G.C., Thakor, N.S., Allas, Ü., Lu, C., Chan, K.-Y., Tenson, T., Schulten, K., Wilson, K.S., Haurlyliuk, V.** (2013). Mechanism of tetracycline resistance by ribosomal protection protein Tet(O). *Nature Communication*. 4, 1477.
- **Liang, X., Hall, J.W., Yang, J., Yan, M., Doll, K., Bey, R., and Ji, Y.** (2011). Identification of Single Nucleotide Polymorphisms Associated with Hyperproduction of Alpha-Toxin in *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE* 6, e18428.
- **Liao, F., Mo, Z., Gu, W., Xu, W., Fu, X., and Zhang, Y.** (2020). A comparative genomic analysis between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of hospital acquired and community infections in Yunnan province of China. *BMC Infectious Disease*. 20, 137.
- **Libert, N., Borne, M., Janvier, F., Batjom, E., Cirodde, A., Nizou, J.-Y., and Brinquin, L.** (2009). Pneumopathie nécrosante à *Staphylococcus aureus* sécréteur de la leucocidine de Panton-Valentine: traitement avec succès par antibiotiques et immunoglobulines à visée anti-toxinique. *Revue de Médecine Interne* 30, 907–910.
- **Lienou, G., Sighomnou, D., Sigha-Nkamdjou, L., Mahe, G., Ekodeck, G.E., and Tchoua, F.** (2003). Système hydrologique du Yaéré (Extrême-Nord Cameroun),

changements climatiques et actions anthropiques: conséquences sur le bilan des transferts superficiels. 7.

- **Lin, J., Xu, P., Peng, Y., Lin, D., Ou, Q., Zhang, T., Bai, C., Ye, X., Zhou, J., and Yao, Z.** (2017). Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization among a community-based diabetes population in Foshan, China. *Journal of Diabetes Investigation* 8, 383–391.
- **Lindsay, J.A.** (2013). Hospital-associated MRSA and antibiotic resistance—What have we learned from genomics? *International Journal of Medical Microbiology* 303, 318–323.
- **Lorenc, A., Ananthavarathan, P., Lorigan, J., Banarsee, R., Jowata, M., and Brook, G.** (2014). The prevalence of comorbidities among people living with HIV in Brent: a diverse London Borough. *London Journal of Primary Care* 6, 84–90.
- **Lowy, F.D.** (1998). *Staphylococcus aureus* Infections. *New England Journal of Medicine*. Volume 339 Number 8 p523
- **Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al.** (2012) Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*; 18(3):268–81.
- **Malachowa, N., Kobayashi, S.D., Freedman, B., Dorward, D.W., and DeLeo, F.R.** (2013). *Staphylococcus aureus* Leukotoxin GH Promotes Formation of Neutrophil Extracellular Traps. *Journal of Immunology* 191, 6022–6029.
- **Martin, J.N., Rose, D.A., Hadley, W.K., Perdreau- Remington, F., Lam, P.K., and Gerberding, J.L.** (1999). Emergence of Trimethoprim- Sulfamethoxazole Resistance in the AIDS Era. *Journal of Infectious Disease* 180, 1809–1818.
- **McClure-Warnier, J.-A., Conly, J.M., and Zhang, K.** (2013). Multiplex PCR Assay for Typing of Staphylococcal Cassette Chromosome Mec Types I to V in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Visualised Experiment* 50779.
- **Mejía, C., Zurita, J., and Guzmán-Blanco, M.** (2010). Epidemiology and surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. *Brazilian Journal of Infectious Disease* 14, 79–86.
- **Mendes, R.E., Mendoza, M., Banga Singh, K.K., Castanheira, M., Bell, J.M., Turnidge, J.D., Lin, S.S.F., and Jones, R.N.** (2013). Regional Resistance Surveillance Program Results for 12 Asia-Pacific Nations (2011). *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 57, 5721–5726.

- **Miles, G., Cheley, S., Braha, O., and Bayley, H.** (2001). The Staphylococcal Leukocidin Bicomponent Toxin Forms Large Ionic Channels . *Biochemistry* 40, 8514–8522.
- **Miragaia, M.** (2018). Factors Contributing to the Evolution of mecA-Mediated  $\beta$ -lactam Resistance in Staphylococci: Update and New Insights From Whole Genome Sequencing (WGS). *Frontiers Microbiology* 9, 2723.
- **Mootsikapun, P.** (2007). Bacteremia in adult patients with acquired immunodeficiency syndrome in the northeast of Thailand. *International Journal Infectious Disease*. 11, 226–231.
- **Murray JL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar,GR, Gray A, Han C, Bisignano C, Rao P, Wool E, et al** (2022) Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*, 399: 629–55.
- **Nagase, N., Shimizu, A., Kawano, J., Yamashita, K., Yoshimura, H., Ishimaru, M., and Kojima, A.** (2002). Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Bovine Mastitis in Japan. *Journal of Veterenian Medecine Sci*. 64, 1169–1172.
- **Narita, S., Kaneko, J., Chiba, J., PieÂmont, Y., Jarraud, S., Etienne, J., and Kamio, Y.** (2001). Phage conversion of Panton-Valentine leukocidin in *Staphylococcus aureus*: molecular analysis of a PVL-converting phage, SLT. *Gene* 268 :195-206.
- **Neuhaus, F.C., and Baddiley, J.** (2003). A Continuum of Anionic Charge: Structures and Functions of D -Alanyl-Teichoic Acids in Gram-Positive Bacteria. *Microbiology Molecular Biology Review* 67, 686–723.
- **Nicholas, K.J., Zern, E.K., Barnett, L., Smith, R.M., Lorey, S.L., Copeland, C.A., Sadagopal, S., and Kalams, S.A.** (2013). B Cell Responses to HIV Antigen Are a Potent Correlate of Viremia in HIV-1 Infection and Improve with PD-1 Blockade. *PLoS ONE* 8, e84185.
- **Nishiyama, A., Isobe, H., Iwao, Y., Takano, T., Hung, W.-C., Taneike, I., Nakagawa, S., Dohmae, S., Iwakura, N., and Yamamoto, T.** (2012). Accumulation of staphylococcal Panton-Valentine leukocidin in the detergent-resistant membrane microdomains on the target cells is essential for its cytotoxicity. *FEMS Immunology Medecine Microbiology* 66, 343–352.
- **Noor and Khetarpal** (2021). Anaerobic Infections. (Winthrop University Hospital), Bookshelf ID: NBK482349.
- **Nwakoby, I.E., Reddy, K., Patel, P., Shah, N., Sharma, S., Bhaskaran, M., Gibbons, N., Kapasi, A.A., and Singhal, P.C.** (2001). Fas-Mediated Apoptosis of Neutrophils in Sera of Patients with Infection. *Infectious Immunology*. 69, 3343–3349.

- **O'Hara, F.P., Guex, N., Word, J.M., Miller, L.A., Becker, J.A., Walsh, S.L., Scangarella, N.E., West, J.M., Shawar, R.M., and Amrine- Madsen, H. (2008).** A Geographic Variant of the *Staphylococcus aureus* Panton- Valentine Leukocidin Toxin and the Origin of Community- Associated Methicillin- Resistant *S. aureus* USA300. *Journal of Infectious Disease* 197, 187–194.
- **Okuma, K., Iwakawa, K., Turnidge, J.D., Grubb, W.B., Bell, J.M., O'Brien, F.G., Coombs, G.W., Pearman, J.W., Tenover, F.C., Kapi, M., et al. (2002).** Dissemination of New Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones in the Community. *Journal of Clinical Microbiology* 40, 4289–4294.
- **OMS (2013).** Système de Gestion de la Qualité au Laboratoire. www.who.int. Consulté le 12/12/2021 à 20h30 min.
- **OMS (2016a).** Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens. ISBN 978 92 4 250976 2. www.who.int. Consulté le 08/01/2022 à 22h15min.
- **OMS (2016b).** Maladies non transmissibles : ce que les chefs d'état et de gouvernement doivent savoir : note d'information pour le pouvoir exécutif (Genève: Organisation mondiale de la Santé). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255659>. Consulté le 10/01/2022 à 20h45min.
- **OMS (2021)** Résistance aux antimicrobiens. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/-10665/249548/9789242509762-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Consulté le 14 Aout 2023.
- **Onana, J.M. (2018).** Cartographie des écosystèmes du Cameroun. *International Journal Biological and chemical sciences. Sci* 12, 940.
- **ONUSIDA (2020)** Agissons maintenant Pour combattre les profondes inégalités et mettre fin aux pandémies. Programme commun des Nations Unies sur le VIH/sida (ONUSIDA). ONUSIDA/JC2991F.
- **Orenstein A (2011).** The discovery and Naming of *Staphylococcus aureus*. [http:// www. Antimicrobe.org/h04c.files/history/S-aureus](http://www.Antimicrobe.org/h04c.files/history/S-aureus). Consulté le 14/12/2021 à 21h10min.
- **Otto, M. (2010).** Basis of Virulence in Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Annual Review of Microbiology* 64, 143–162.
- **Parte, A.C. (2018).** LPSN – List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (bacterio.net), 20 years on. *International Journal of Systematic and Evolution Microbiology* 68, 1825–1829.
- **Perez P. (2013)** Typage de staphylococcus aureus par MLVA : étude de faisabilité de la détection par HRM. *Sciences du Vivant [q-bio]*. hal-01733242.

- **Pfaller, M.A., and Herwaldt, L.A.** (1988). Laboratory, Clinical, and Epidemiological Aspects of Coagulase-Negative Staphylococci. *Clinical Microbiology review*.1, 19.
- **Popovich, K.J., Hota, B., Aroutcheva, A., Kurien, L., Patel, J., Lyles-Banks, R., Grasso, A.E., Spec, A., Beavis, K.G., Hayden, M.K., Weinstein R. A.** (2013). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization Burden in HIV-Infected Patients. *Clinical Infection Disease* 56, 1067–1074.
- **Preeja PP, Kumar SH, Shetty V.**(2021) Prevalence and Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Community- and Hospital-Associated Infections: A Tertiary Care Center Study. *Antibiotics*; 10(2):197.
- **Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., Hartigan, P., Fanning, S., et Fitzpatrick, E.S.** (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (John Wiley & Sons). <http://dx.doi.org/10.1016/j.mjafi.2014.04.011>.
- **Rasheed, N.A., et Hussein, N.R.** (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage rate and molecular characterization of the staphylococcal cassette chromosome mec among Syrian refugees in Iraq. *International Journal Infection Disease* 91, 218–222.
- **Reddy, P.N., Srirama, K., et Dirisala, V.R.** (2017). An Update on Clinical Burden, Diagnostic Tools, and Therapeutic Options of *Staphylococcus aureus*. *Infectious Disease Research Treatment*. 10, 117991611770399.
- **Reveles, K.R., Duhon, B.M., Moore, R.J., Hand, E.O., et Howell, C.K.** (2016). Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Diabetic Foot Infections in a Large Academic Hospital: Implications for Antimicrobial Stewardship. *PLOS ONE* 11, e0161658.
- **Rosenthal, V.D., Bijie, H., Maki, D.G., Mehta, Y., Apisarnthanarak, A., Medeiros, E.A., Leblebicioglu, H., Fisher, D., Álvarez-Moreno, C., Khader, I.A., et al.** (2012). International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 36 countries, for 2004-2009. *American Journal of Infection and Control* 40, 396–407.
- **Saber H, Jasni AS, Jamaluddin TZMT, Ibrahim R.** (2017). A Review of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Types in Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) Species. *Malaysian. Journal of Medical. Science*. 24, 7–18.
- **Saber, H., Jasni, A.S., Tengku Jamaluddin, T.Z.M., Selangor Darul Ehsan, Malaysia, Ibrahim, R., and Selangor Darul Ehsan** (2017). A Review of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Types in Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) Species. *MJMS* 24, 7–18.

- **Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A.A., Ogurtsova, K., Shaw, J.E., Bright D., Williams R., On behalf of the IDF Diabetes Atlas Committee (2019).** Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practics.* 157, 107843.
- **Salmen, S., Montes, H., Soyano, A., Hernández, D., et Berrueta, L. (2007).** Mechanisms of neutrophil death in human immunodeficiency virus-infected patients: role of reactive oxygen species, caspases and map kinase pathways: Neutrophil death in HIV patients. *Clinical Experiment Immunology* 150, 539–545.
- **Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Thorup Cohn, M., Lindqvist, R., et Barker, G.C. (2011).** The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence* 2, 580–592.
- **Schulthess, B., Brodner, K., Bloemberg, G.V., Zbinden, R., Böttger, E.C., and Hombach, M. (2013).** Identification of Gram-Positive Cocci by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: Comparison of Different Preparation Methods and Implementation of a Practical Algorithm for Routine Diagnostics. *Journal of Clinical Microbiology* 51, 1834–1840.
- **Seni, J., Muvunyi, C.M., Masaisa, F., Bwanga, F., and Kayigi, E. (2018).** Antibiotic Resistance Patterns and Molecular Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Clinical Settings in Rwanda. *American Journal of Tropical Medecine and Hygièyne.* 99, 1239–1245.
- **Soe, P.E.; Han, W.W.; Sagili, K.D.; Satyanarayana, S.; Shrestha, P.; Htoon, T.T.; Tin, H.H. (2021)** High Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* among Healthcare Facilities and Its Related Factors in Myanmar (2018–2019). *Tropical. Medecine and Infectious Disease* 6, 70.
- **Shettigar, K., and Murali, T.S. (2020).** Virulence factors and clonal diversity of *Staphylococcus aureus* in colonization and wound infection with emphasis on diabetic foot infection. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease* 39, 2235–2246.
- **Singh-Moodley, A., Lowe, M., Mogokotleng, R., and Perovic, O. (2020).** Diversity of SCCmec elements and spa types in South African *Staphylococcus aureus* mecA-positive blood culture isolates. *BMC Infectious Disease.* 20, 816.

- **Sina H, Ahoyo TA, Moussaoui W, Keller D, Bankole' HS, Barogui Y, (2013)** Variability of antibiotic susceptibility and toxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin, soft tissue, and bone related infections. *BMC Microbiology* 13(1):
- **Sit, P.S., Teh, C.S.J., Idris, N., Sam, I.-C., Syed Omar, S.F., Sulaiman, H., Thong, K.L., Kamarulzaman, A., et Ponnampalavanar, S. (2017).** Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection and the molecular characteristics of MRSA bacteraemia over a two-year period in a tertiary teaching hospital in Malaysia. *BMC Infectious Disease* 17, 274.
- **Soe, P.E., Han, W.W., Sagili, K.D., Satyanarayana, S., Shrestha, P., Htoon, T.T., et Tin, H.H. (2021).** High Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* among Healthcare Facilities and Its Related Factors in Myanmar (2018–2019). *Tropical Medecine and Infection Disease.* 6, 70.
- **Sola, C., Paganini, H., Egea, A.L., Moyano, A.J., Garnero, A., Kevric, I., Culasso, C., Vindel, A., Lopardo, H., Bocco J. L. (2012).** Spread of Epidemic MRSA-ST5-IV Clone Encoding PVL as a Major Cause of Community Onset Staphylococcal Infections in Argentinean Children. *PLoS ONE* 7, 30487.
- **Spaan, A.N., van Strijp, J.A.G., et Torres, V.J. (2017).** Leukocidins: staphylococcal bi-component pore-forming toxins find their receptors. *Nature Review Microbiology* 15, 435–447.
- **Sutton, J.A.F., Carnell, O.T., Lafage, L., Gray, J., Biboy, J., Gibson, J.F., Pollitt, E.J.G., Tazoll, S.C., Turnbull, W., Hajdamowicz, N.H., Bartłomiej S., Pidwill G. R., Alison M. Condliffe A M., Stephen A., Renshaw S. A., Vollmer W., Foster S.J. (2021).** *Staphylococcus aureus* cell wall structure and dynamics during host-pathogen interaction. *PLOS Pathogens.* 17, e1009468.
- **Szumowski, J.D., Wener, K.M., Gold, H.S., Wong, M., Venkataraman, L., Runde, C.A., Cohen, D.E., Mayer, K.H., et Wright, S.B. (2009).** Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization, Behavioral Risk Factors, and Skin and Soft- Tissue Infection at an Ambulatory Clinic Serving a Large Population of HIV- Infected Men Who Have Sex with Men. *Clinical Infection Disease* 49, 118–121.
- **Taylor et Unakal (2021).** *Staphylococcus aureus* (StatPearls Publishing). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>. Consulté le 20/07/2021 à 05h25min.
- **Thampi, N., Showler, A., Burry, L., Bai, A.D., Steinberg, M., Ricciuto, D.R., Bell, C.M., and Morris, A.M. (2015).** Multicenter study of health care cost of patients

admitted to hospital with *Staphylococcus aureus* bacteremia: Impact of length of stay and intensity of care. *American Journal of Infection Control* 43, 739–744.

- **Tromp, A.T., et van Strijp, J.A.G.** (2020). Studying Staphylococcal Leukocidins: A Challenging Endeavor. *Frontiers. Microbiology*. 11, 611.
- **Tsige, Y., Tadesse, S., G/Eyesus, T., Tefera, M.M., Amsalu, A., Menberu, M.A., et Gelaw, B.** (2020). Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Associated Risk Factors among Patients with Wound Infection at Referral Hospital, Northeast Ethiopia. *Journal of Pathogens*.1–7.
- **Tumbarello, M.** (2002). Risk factors and predictors of mortality of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteraemia in HIV-infected patients. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*. 50, 375–382.
- **Turner, N.A., Sharma-Kuinkel, B.K., Maskarinec, S.A., Eichenberger, E.M., Shah, P.P., Carugati, M., Holland, T.L., et Fowler, V.G.** (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Review Microbiology* 17, 203–218.
- **Udo, E.E.** (2013). Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*:The New Face of an Old Foe. *Medecinal Principles and Practice*. 22, 20–29.
- **Van Bambeke** (2008). Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse. Université Catholique de Louvain. P 212. Consulté le 28/06/2021 à 19h36min.
- **Vandenesch, F., Lina, G., and Henry, T.** (2012). *Staphylococcus aureus* Hemolysins, bi-component Leukocidins, and Cytolytic Peptides: A Redundant Arsenal of Membrane-Damaging Virulence Factors. *Frontiers Cellular Infection Microbiology* 2.
- **Vardakas, K.Z., Matthaiou, D.K., et Falagas, M.E.** (2009). Incidence, characteristics and outcomes of patients with severe community acquired-MRSA pneumonia. *European Respiratory Journal* 34, 1148–1158.
- **Ventola, C.L.** (2015). The Antibiotic Resistance Crisis. *P&T* 7. Vol. 40 No. 4.
- **Veyssiere, A.** (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. 107.
- **Vincenot, F., Saleh, M., and Prévost, G.** (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*. 9.
- **Watkins, R.R., David, M.Z., et Salata, R.A.** (2012). Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology* 61, 1179–1193.

- **Wattam, A.R., Davis, J.J., Assaf, R., Boisvert, S., Brettin, T., Bun, C., Conrad, N., Dietrich, E.M., Disz, T., Gabbard, J.L., Gerdes S., Henry S.C., Kenyon R. W., Machi D., Mao C, Eric K. Nordberg E K ., Gary J.O., Olson R., Overbeek R., Parrello B., Pusch D.G., Shukla M., Vonstein V., Warren A., Fangfang Xia F., Yoo H. and Rick L. S. (2017).** Improvements to PATRIC, the all-bacterial Bioinformatics Database and Analysis Resource Center. *Nucleic Acids Research*. 45, 535–542.
- **Wertheim, H.F., Melles, D.C., Vos, M.C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H.A., et Nouwen, J.L. (2005).** The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infectious Disease* 5, 751–762.
- **WHO (2002).** Prevention of hospital-acquired infections a practical guide (G. Ducel, Fondation Hygie, Geneva, Switzerland). <http://www.who.int/emc>. Consulté le 21/07/2021 à 08h36min.
- **William B. (2009)** Whitman Bergey's Manual, Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three. The *Firmicutes*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York GA 30602-2605 USA. DOI: 10.1007/b92997.
- **Wylie, J.L., et Nowicki, D.L. (2005).** Molecular Epidemiology of Community- and Health Care-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Manitoba. *Canadian Journal of Clinical Microbiology* 43, 7.
- **Xia, G., Kohler, T., et Peschel, A. (2010).** The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology* 300, 148–154.
- **Zhang, K., McClure, J.-A., Elsayed, S., Louie, T., and Conly, J.M. (2005).** Novel Multiplex PCR Assay for Characterization and Concomitant Subtyping of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Types I to V in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology* 43, 5026–5033.
- **Zimmermann-Meisse, G., Prévost, G., et Jover, E. (2017).** Above and beyond C5a Receptor Targeting by Staphylococcal Leucotoxins: Retrograde Transport of Pantone–Valentine Leucocidin and  $\gamma$ -Hemolysin. *Toxins* 9, 41.
- **Zong, Z., Peng, C., et Lü, X. (2011).** Diversity of SCCmec Elements in Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci Clinical Isolates. *PLoS ONE* 6, e20191.
- **Zurita, J., Mejía, C., et Guzmán-Blanco, M. (2010).** Diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. *Brazilian Journal of Infectious Disease* 14, 97–106.

### **Annexe 1 Protocole préparation du Tampom 10 X TAE**

Matériel nécessaire : Trisbase, Acide acétique, EDTA, erlenmeyer, fiole jaugée, balance sensible, papier aluminium, cuillère.

Procédure : Pour la préparation de 500 mL de TAE, peser 24,2 g de Trisbase, ajouter 5,5 mL de l'acide acétique, puis 1,8 g de l'EDTA, ajouter 500mL d'eau distillée stérile

### **Annexe 2 Préparation du gel d'agarose 1%**

Matériel nécessaire : Agarose en poudre, erlemeyer, fiole jaugée, balance sensible, papier alluminium, cuillère, microonde, bac de préparation du gel, peigne, 1X TAE buffer, Bromure d'Éthylène.

Procédure : 0,3 g d'agarose ont été pesé puis dissoudre dans 30 mL du tampom TAE, le mélange a été chauffé au microonde pendant 30 s et laissé refroidir quelques minutes, en suite 0,5  $\mu$ L de bromure d'éthylène ont été ajouté au mélange. Le bac du gel, a préparé et positionner les peigne, en fin le mélange a été coulé dans le bac et laisser solidifier.

### Annexe 3 Illustration des substitutions de A en G

The image displays two panels from a bioinformatics tool, likely NCBI BLAST, comparing DNA and translated protein sequences. The top panel shows DNA sequences, and the bottom panel shows translated protein sequences. The sequences are color-coded to highlight substitutions of Adenine (A) to Guanine (G).

**Panel 1: DNA Sequences**

Species/Abbrv: - Ref Seq NR 118997.2 Staphylococcus aureus strain ATCC 12600 16S ribosomal RNA complete sequence

1. 5 27F  
T C A A C C G T G G A G G G T C A T T G G A A C T G G A A A

2. 11 27F  
T C A A C C G T G G A G G G T C A T T G G A A C T G G A A A

3. 14 1392R  
T C A A C C G T G G A G G G T C A T T G G A A C T G G A A A

**Panel 2: Translated Protein Sequences**

Species/Abbrv: 1. Ref Seq NR 118997.2 Staphylococcus aureus strain ATCC 12600 16S ribosomal RNA complete sequence

2. 5 27F  
A G T C T T C G G A T C G T A A A A C T C T G T T A T

3. 11 27F  
A G T C T T C G G A T C G T A A A A C T C T G T T A T

4. 14 1392R  
A G T C T T C G G A T C G T A A A A C T C T G T T G T

At the bottom right of the interface, there is a search bar with the text "with" and a magnifying glass icon, and a "Site # 449" indicator.

## Annexe 4 Illustration des substitution de T en A, A en T, A en C

The image displays two screenshots of the M11: Alignment Explorer software interface, illustrating DNA sequence alignments with highlighted substitutions.

**Top Screenshot:** The window title is "M11: Alignment Explorer (LES TROIS SEQUENCE ET LA SEQUENCE DE REFERENCE A ETUDIER.fas)". The menu bar includes Data, Edit, Search, Alignment, Web, Sequencer, Display, and Help. The "Translated Protein Sequences" panel shows the following sequences:

```

species/Abbrv      *****
. Ref Seq NR 118997.2 Staphylococcus aureus strain ATCC 12600 16S ribosomal RNA complete sequence
. 5 27F             TTAGGGAGGAA CATTATGTTAGTTAGTAACTG
. 11 27F            TTAGGGAGGAA CATTATGTTAGTTAGTAACTG
. 14 1392R          TTAGGGAGGAA CATTATGTTAGTTAGTAACTG
  
```

**Bottom Screenshot:** The window title is "M11: Alignment Explorer (LES TROIS SEQUENCE ET LA SEQUENCE DE REFERENCE A ETUDIER.fas)". The menu bar includes Data, Edit, Search, Alignment, Web, Sequencer, Display, and Help. The "DNA Sequences" panel shows the following sequences:

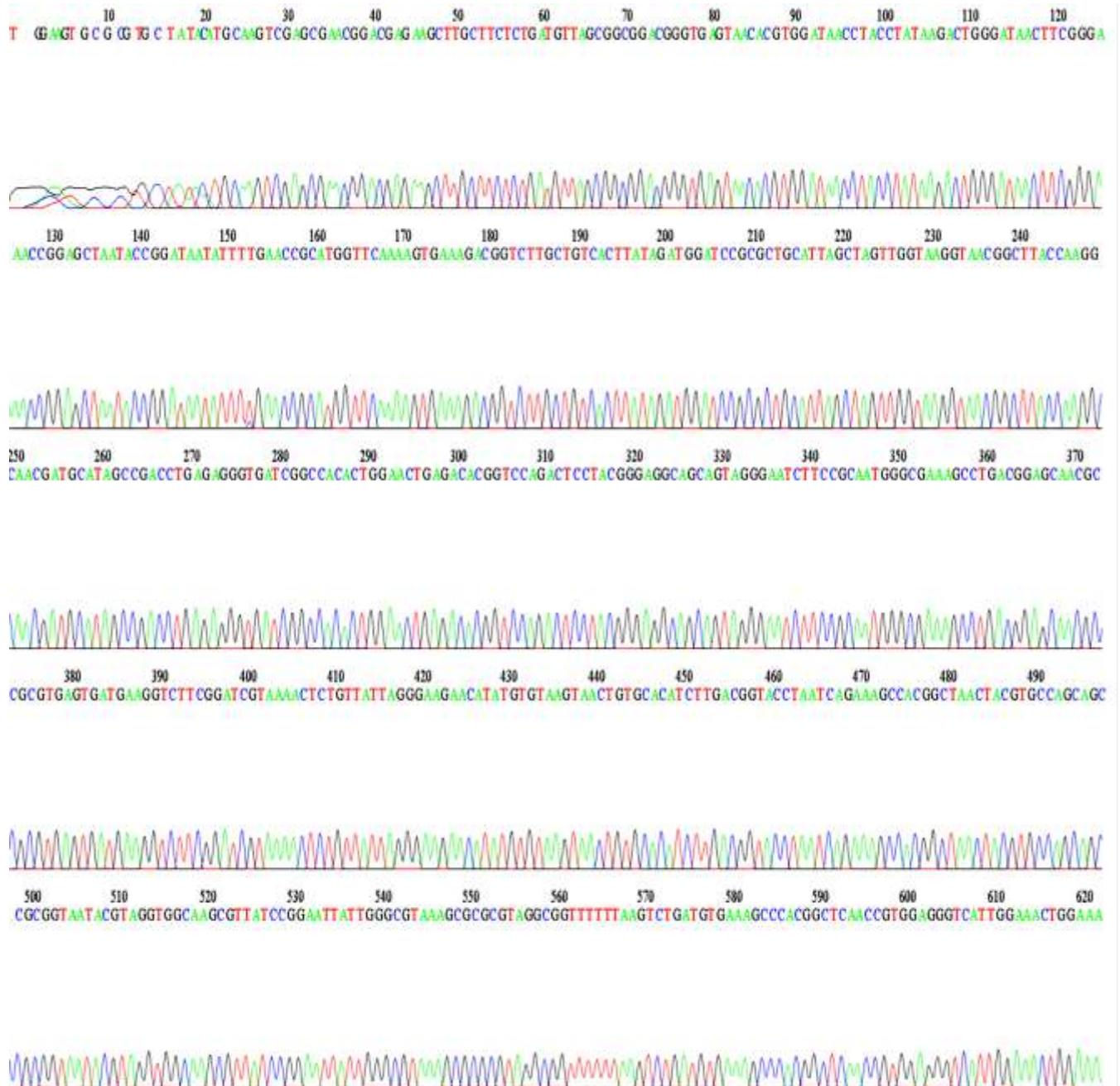
```

species/Abbrv      *****
1. Ref Seq NR 118997.2 Staphylococcus aureus strain ATCC 12600 16S ribosomal RNA complete sequence
2. 5 27F            A T C T T G A C A T C C T T T G A C A A C
3. 11 27F           A A T C T T G A C A T C C T T T G A C A A C
4. 14 1392R         A A T C T T G A C A T C C T T T G A C A A C
  
```

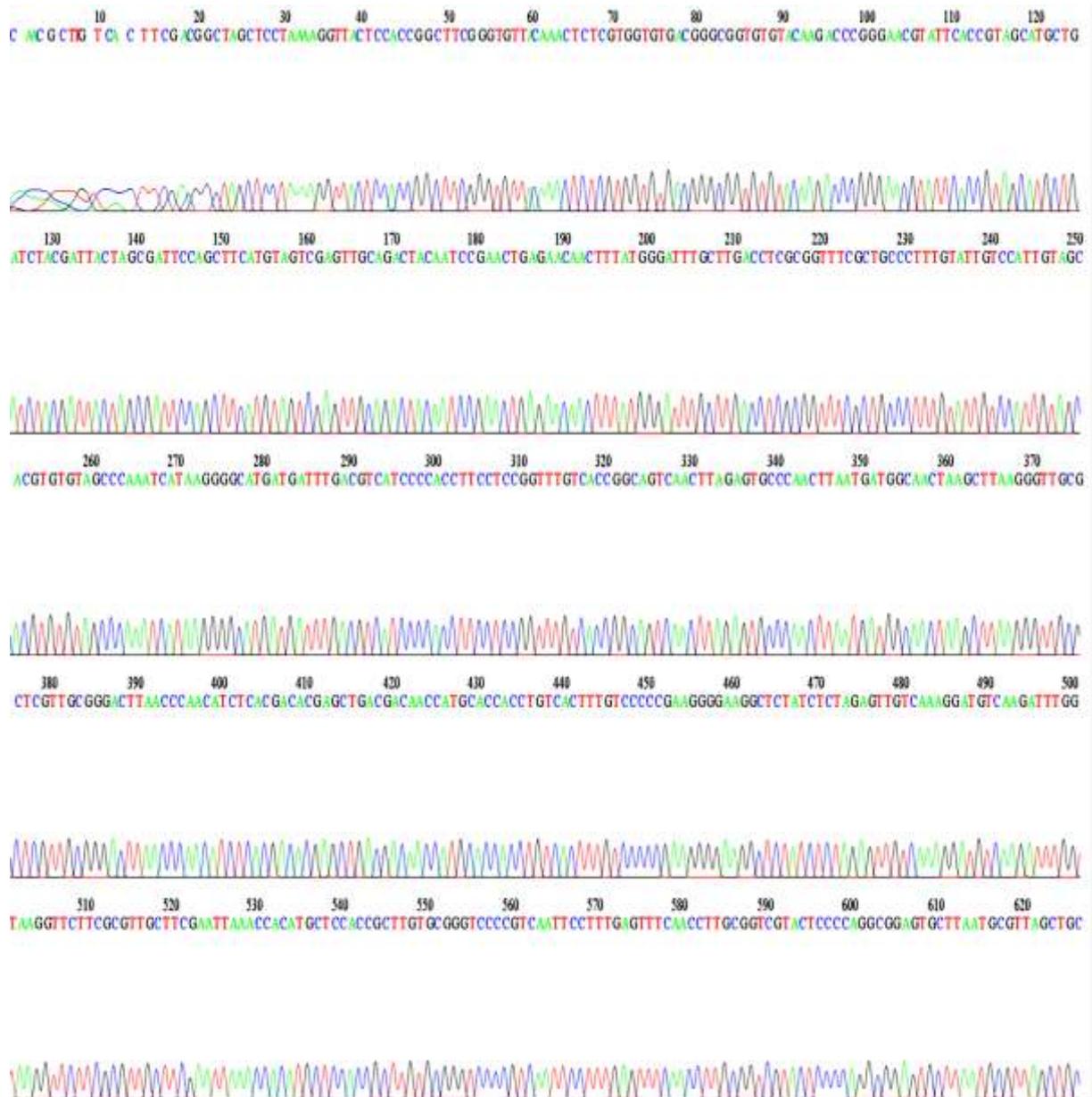
## Annexe 5 : Séquence pdf Générer à MacroGen

File: 5\_27F.ab1 Run Ended: 2021/11/30 21:34:53 Signal G:2099 A:2240 C:2655 T:2043

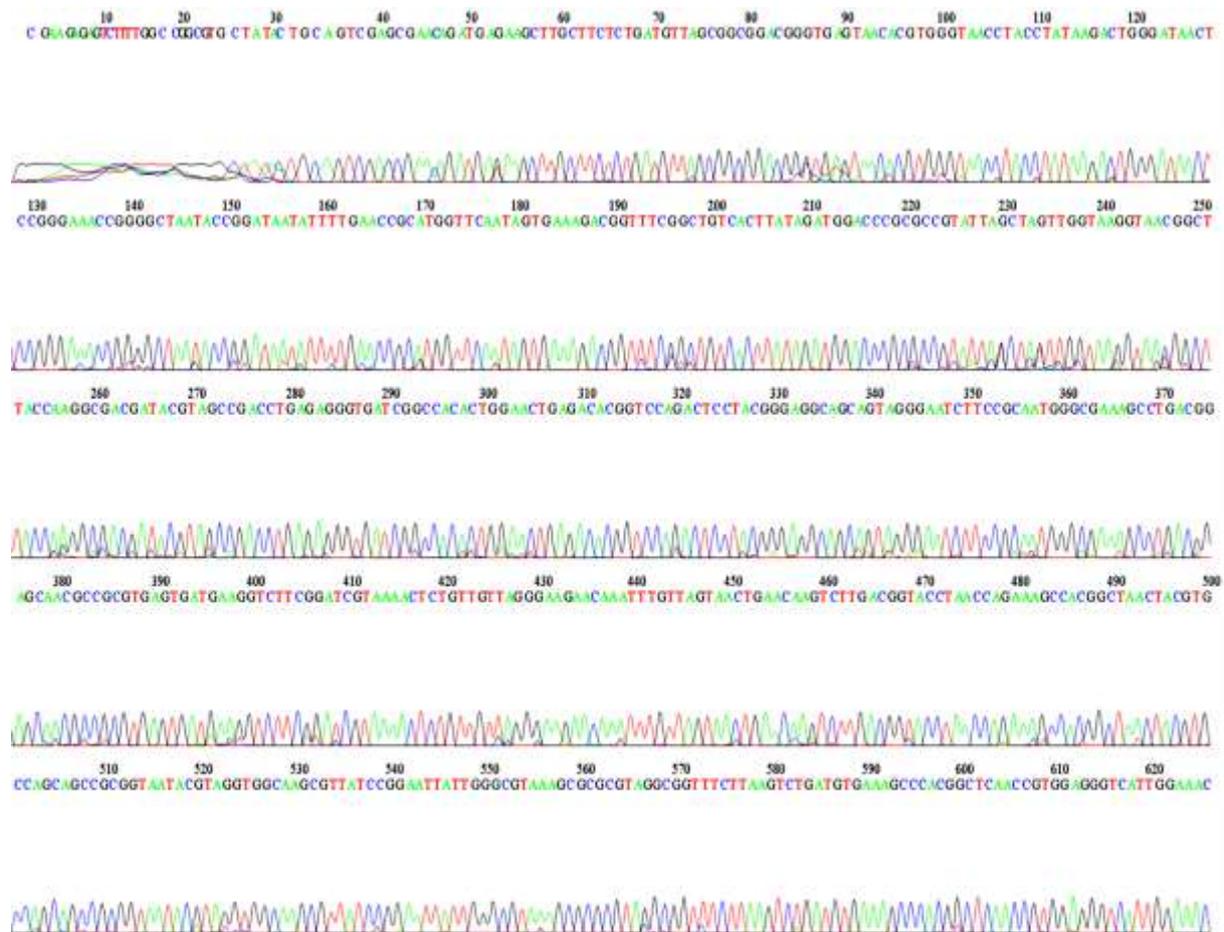
Sample: 5\_27F Lane: 31 Base spacing: 15.609302 1343 bases in 16106 scans



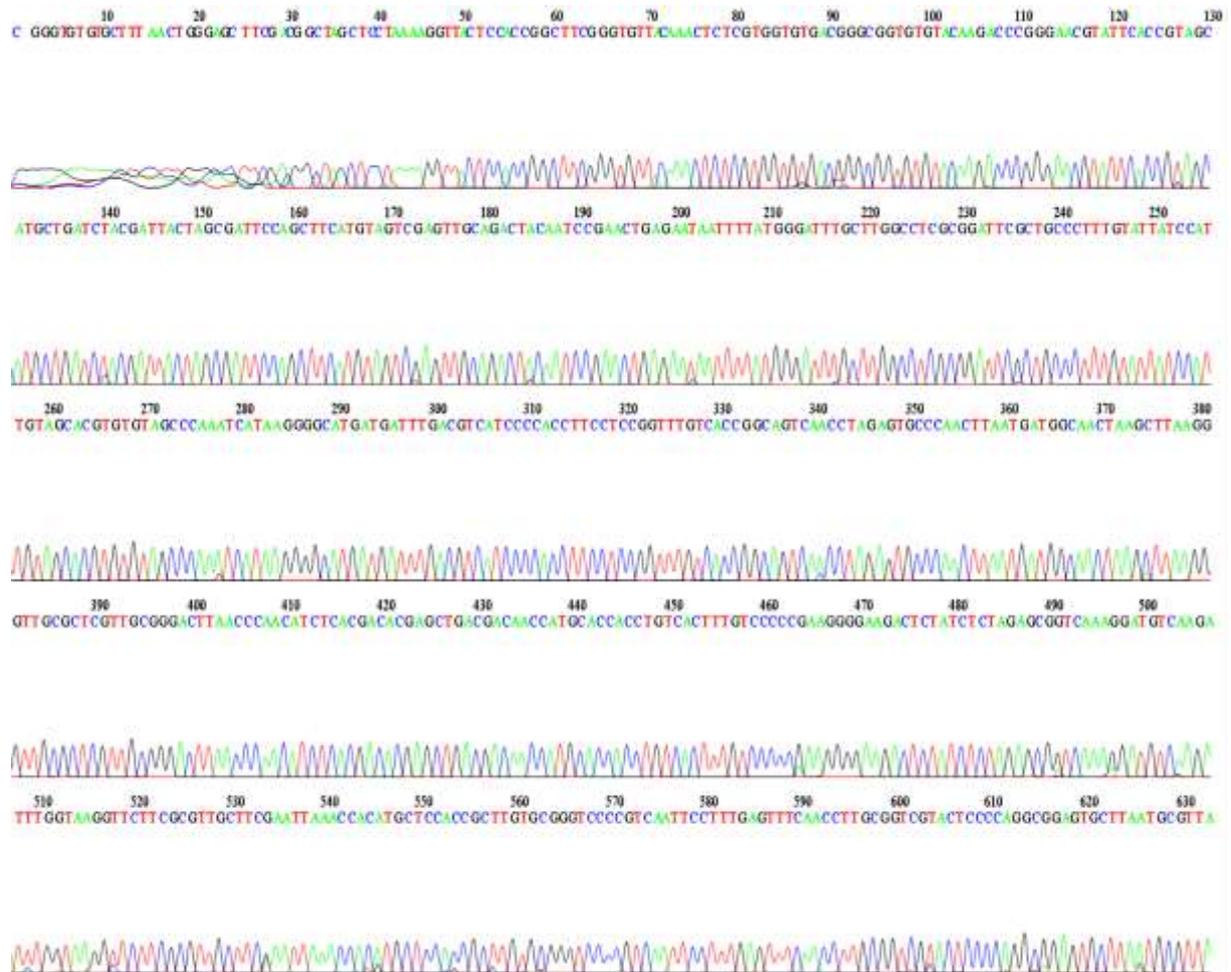
File: 5\_1392R.ab1 Run Ended: 2021/11/30 21:34:53 Signal G:1037 A:1041 C:1842 T:1391  
Sample: 5\_1392R Lane: 29 Base spacing: 15.642167 1347 bases in 16244 scans



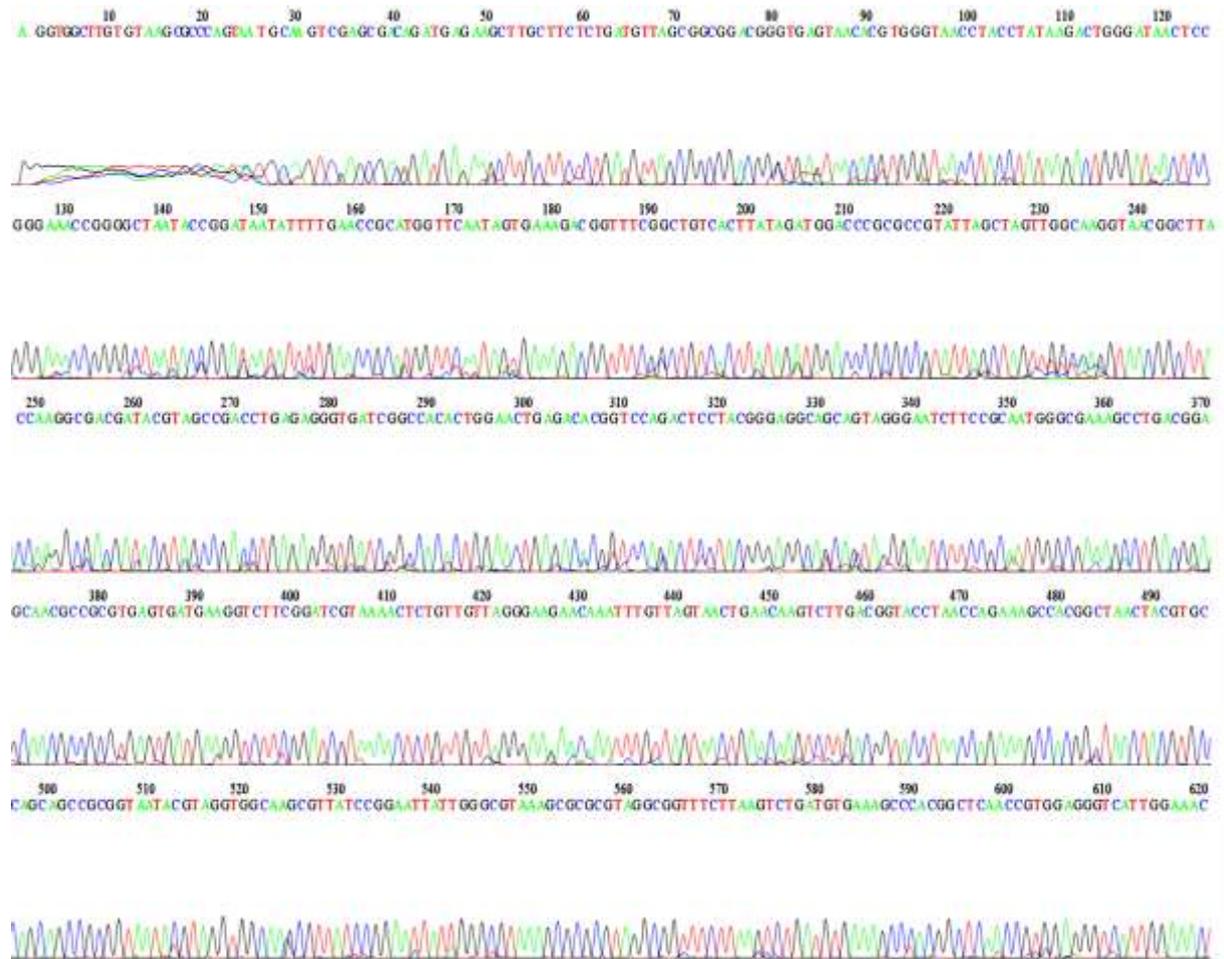
File: 11\_27F.ab1 Run Ended: 2021/11/30 21:34:53 Signal G:153 A:164 C:192 T:155  
Sample: 11\_27F Lane: 19 Base spacing: 15.760436 1310 bases in 15737 scans



File: 11\_1392R.ab1 Run Ended: 2021/11/30 21:34:53 Signal G:165 A:169 C:256 T:204  
Sample: 11\_1392R Lane: 17 Base spacing: 16.04729 1288 bases in 15384 scans



File: 14\_27F.ab1 Run Ended: 2021/11/30 21:34:53 Signal G:86 A:92 C:105 T:92  
Sample: 14\_27F Lane: 27 Base spacing: 15.474241 1364 bases in 16658 scans





## Annexe 6 Attestation de Validation des UEs

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
FACULTE DES SCIENCES  
*Département de Microbiologie*



UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
FACULTY OF SCIENCE  
*Department of Microbiology*

### CYCLE DE DOCTORAT

Centre de Recherche & de Formation Doctorale,  
Science de la Vie, Santé & Environnement

Par la présente, nous attestons que l'étudiant **MOHAMADOU MANSOUR** Matricule **17T4869**, sélectionné durant l'année académique **2017/2018** a présenté ses travaux à tous les séminaires obligatoires du Département de Microbiologie et à validé les unités d'enseignement théoriques obligatoires suivantes :

Part	BXX-600 - Comprehensive	Credits	Marks/
1a	<b>MIB 602</b> Written Protocol ( <b>document écrit du projet</b> )	3	73/100
1b	<b>MIB 602</b> Oral Presentation of Protocol ( <b>présentation orale du projet</b> )	3	79/100
2a	<b>MIB 601</b> 3-5 Article Reviews ( <b>Thèmes spéciaux</b> )	3	77/100
2b	<b>MIB 603</b> Take home questions or Oral Presentation of reviews ( <b>Methodologies de la recherche et séminaires</b> )	3	66.5/100
Total credits		12	<b>295,5/400</b>
Average/100			<b>73,9/100</b>

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

Fait à Yaoundé le..... 1 AVR 2022 .....

Les coordonateurs du niveau doctoral du Département de Microbiologie

**Dr NJIKI BIKOÏ Jacky**  
Immunologiste Médicale  
Chargé de Cours  
Département de Microbiologie / U.Y.

**Stéphane François Soubain, Ph.D**  
Food Technologist & Food Microbiologist  
Associate Professor  
University of Yaounde I

**Annexe 7 : PV Doctoriales 2018**

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
 FACULTE DES SCIENCES  
 Département de Microbiologie



UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
 FACULTY OF SCIENCE  
 Department of Microbiology

**DOCTORIALES 2017/2018**

**EXAMEN DE l'UE MIB 602**

Fiche d'évaluation du projet de thèse

Jury N° 2 / Labo 130

Date : 20 Septembre 2018

Candidat (Nom- Prénom, Matricule) : MOHAMADOU MANSOUR (17T4869)

1ere année d'inscription en thèse : 2017

Sujet de Thèse : Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches de Staphylococcus aureus isolées dans les trois régions septentrionales du Cameroun

EVALUATION DOCUMENT /100

RUBRIQUES	Excellent [18-20pts]	Très Bien [16-18pts]	Bien [14-16pts]	Assez Bien [12-14pts]	passable [10-12pts]
RESPECT DU CANEVAS /10		16			
JUSTIFICATION /10			14		
PROBLEMATIQUE /10				12	
QUESTION DE RECHERCHE ET HYPOTHESE / 10				12,5	
OBJECTIFS /10		16			
METHODOLOGIE /30				12	
CLARTE DU DIAGRAMME SYNOPTIQUE / 10				12	
CHRONOGRAMME /10				15	
TOTAL/100					73



EVALUATION PRESENTATION /100

RUBRIQUES	Excellent [18-20pts]	Très Bien [16-18pts]	Bien [14-16pts]	Assez Bien [12-14pts]	passable [10-12pts]
RESPECT DU CANEVAS		16			
DUREE		16			
QUALITE DES DIAPOSITIFS		16			
CLARTE DE L'EXPOSE		16			
CAPACITE DE JUSTIFICATION DES POINTS D'OMBRE			15		
TOTAL/100		79/100		79	

Recommandations du jury

- objectif a realiser
- revoir le type d'étude (en ajoutant la partie recherche)
- Ajouter les références pour guider dans les particularités
- Acquérir des compétences dans le domaine de la biologie moléculaire
- Revoir le budget qui semble être au rabais
- Harmoniser les références

Signatures des membres

*[Signature]* DE Lyonge E.E.  
*[Signature]* AINOM ESAMASH.  
*[Signature]* Dr. Niki Boko

Signature président du Jury

*[Signature]* P. Njougne

Annexe 8 PV Doctoriales 2019



UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
FACULTE DES SCIENCES  
Département de Microbiologie



UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
FACULTY OF SCIENCE  
Department of Microbiology

**DOCTORIALES 2019**

FICHE D'EVALUATION ETAT D'AVANCEMENT 1

Jury N° :  
 Date :  
 Candidat (Nom- Prénom, Matricule) : MOHAMADOU MANSOUR  
 Matricule : 1774869  
 1ère année d'inscription en thèse : 2017  
 Sujet de thèse : Etude de l'auto-remise en compte et capacités de résistanse moléculaire des souches de Staphylococcus aureus dans les trois régions septentrionales du Cameroun

**EVALUATION**

Originalité et pertinence de la problématique /15	Littérature et Travaux antérieurs sur le sujet /20	Méthodologie et faisabilité /25	Résultats obtenus et Discussion /25	Clarté de la présentation et qualité des Diapositives /15	Total /100
13	17,5	23	18	12	83,5

Recommandations du jury  
Améliorer le titre pour prendre en compte le contenu du travail  
Insister sur la technique des "Hot in Life Science Techniques" pour la détection des gènes de résistance au glabre  
Plus d'élaborer la problématique pour inscrire la question des recommandations

Signatures des membres

Dr GONBU KANGA Hortense

Dr ASSEM

Dr TCHIKOUA

Dr NFKI BIKOI

Pr. Jean Justin Essio Nkouo

Signature président du Jury

Dr. Mohamed Elghannem

Food Technologist & Food Microbiologist

Associate Professor

University of Yaounde I

Annexe 9 PV Doctoriales 2020

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
FACULTE DES SCIENCES  
Département de Microbiologie



UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
FACULTY OF SCIENCE  
Department of Microbiology

DOCTORIALES 2020

FICHE D'EVALUATION ETAT D'AVANCEMENT 2

Jury N° 01  
Date : 02 Décembre 2020  
Candidat (Nom- Prénom, Matricule) : MOHAMAMOU MANSOUR  
17T4869  
1ère année d'inscription en thèse : 2017-2018  
Sujet de thèse : Etude de l'antibiorésistance, facteurs de risque associés et caractérisation moléculaire des souche multirésistantes de Staphylococcus aureus dans les régions de l'Adamaoua et de l'extrême-nord du Cameroun

EVALUATION

Originalité et pertinence de la problématique /15	Littérature et Travaux antérieurs sur le sujet /20	Méthodologie et faisabilité /25	Résultats obtenus et Discussion /25	Clarté de la présentation et qualité des Diapositives /15	Total /100
					75

Recommandations du jury

Faire une meilleure discussion et mieux présenter ses résultats  
Titre trop long et redondant : enlever "antibiorésistance"  
Chercher à caractériser les souches si possible pour une diversité de pathovar, sérotype  
Mieux détailler l'approche moléculaire

Signatures des membres

Signature président du Jury

Prof. H. Gomsu Kamga  
Médecin Biologiste  
Professeur Titulaire des Universités  
NSW Bika  
Essia Gous  
Assouyouso  
REIGNOT  
Soub

## Annexe 10 Clairance éthique

### COMITE NATIONAL D'ETHIQUE DE LA RECHERCHE POUR LA SANTE HUMAINE

Arrêté N° 0977/A/MINSANTE/SESP/SG/DROS/ du 18 avril 2012 portant création, organisation et fonctionnement des comités d'éthique de la recherche pour la santé humaine au sein des structures relevant du Ministère en charge de la santé publique

N° 2017/12/388/CE/CNERSH/SP

Yaoundé, le 1<sup>er</sup> décembre 2017

Cnethique\_minsante@yahoo.fr

#### CLAIRANCE ETHIQUE

Le Comité National d'Éthique de la Recherche pour la Santé Humaine (CNERSH), en sa session extraordinaire du 11 août 2017, a examiné le projet de recherche intitulé : «**Étude de l'antibiorésistance et caractérisation des souches multirésistantes de *Staphylococcus aureus* dans les trois Régions Septentrionales du Cameroun**» soumis par Monsieur MOHAMADOU MANSOUR, Investigateur Principal, étudiant à la Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I.

Le projet est d'un grand intérêt scientifique et social. L'objectif de cette étude est de déterminer les profils, les niveaux de résistance et leurs caractères génotypiques des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques dans le septentrion du Cameroun. La procédure de l'étude est bien documentée et claire. Les risques liés aux différents prélèvements sont précisés ainsi que les mesures pour les éviter et les minimiser. La notice d'information et les formulaires de consentement éclairé, en français et en anglais, sont bien élaborés et simples à comprendre. Les mesures prises pour garantir la confidentialité des données collectées sont présentes dans le document. Les CVs des Investigateurs les décrivent comme des personnes compétentes, capables de mener à bien cette étude. Pour toutes ces raisons, le Comité National d'Éthique approuve pour une durée d'un an, la mise en œuvre de la présente version du protocole.

L'étudiant MOHAMADOU MANSOUR est responsable du respect scrupuleux du protocole approuvé et ne devrait y apporter aucun amendement aussi mineur soit-il, sans avis favorable du CNERSH. Les investigateurs sont appelés à collaborer pour toute descente du CNERSH pour le suivi de la mise en œuvre du protocole approuvé. Le rapport final du projet devra être soumis au CNERSH et aux autorités sanitaires du Cameroun.

La présente clairance peut être retirée en cas de non respect de la réglementation en vigueur et des recommandations susmentionnées.

En foi de quoi, la présente clairance éthique est délivrée pour valoir ce que de droit.

Ampliations

- MINSANTE



N.B : cette clairance éthique ne vous dispense pas de l'autorisation administrative de recherche (AAR), exigée pour mener cette étude sur le territoire camerounais. Cette dernière vous sera délivrée par le Ministère de la Santé Publique.

## Annexe 11 : Autorisation de recherche Délégué régional santé Extrême-nord

REPUBLIQUE DU CAMEROUN  
Paix - Travail - Patrie  
\*\*\*\*\*  
MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE  
\*\*\*\*\*  
SECRETARIAT GENERAL  
\*\*\*\*\*  
DELEGATION REGIONALE DE  
L'EXTREME-NORD  
\*\*\*\*\*

Tél : 22 29 10 67  
Fax: 22 29 28 04  
E-mail :  
delsante\_en@yahoo.fr

REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace - Work - Fatherland  
\*\*\*\*\*  
MINISTRY OF PUBLIC HEALTH  
\*\*\*\*\*  
SECRETARIAT GENERAL  
\*\*\*\*\*  
REGIONAL DELEGATION  
FOR FAR NORTH  
\*\*\*\*\*

N° 1916 JL/19/MINSANTE/SG/DRSPEN/MRA.

Maroua, le 03 Mai 2019

LE DELEGUE REGIONAL DE LA SANTE  
PUBLIQUE DE L'EXTREME- NORD

A

M. MOHAMADOU MANSOUR  
Etudiant en Cycle de Doctorat PhD  
Faculté des sciences  
UNIVERSITE DE YAOUNDE I.

**Objet :** Autorisation de recherche portant sur l'antibio-résistance et caractérisation moléculaire des souches Multirésistances de Staphylococcus aureus dans la région.

Après étude de votre dossier reçu en date du 25 Octobre 2018, dont l'objet est repris en marge, J'ai l'honneur de porter mon accord tout en vous exhortant à respecter la déontologie en matière d'exploitation des données sanitaires.

Y faisant suite, je vous invite à vous rapprocher des laboratoires de l'Hôpital Régional de Maroua, du Centre médico-social de l'Université de Maroua, de la pharmacie de l'Extrême-nord et du Centre médico-social de la Caisse Nationale des Prévoyances Social afin de collecter les souches de staphylocoques et effectuer des prélèvements qui vous permettront d'étoffer la recherche que vous menez sur le thème : « ETUDE DE L'ANTIBIORESISTANCE ET CARACTERISATION MOLECULAIRE DES SOUCHES MULTIRESISTANCES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS DANS LES REGIONS SEPTENTRIONALES DU CAMEROUN. »

Ampliations :

- Concernés
- Archives/chronos
- Université de Yaoundé I

Le Délégué Régional



*Stépha Hamadou*  
Médecin (MD, MA)  
Contrôleur N°1 Services de Contrôle  
-1 Activités et des Soins de Santé / DRSP-201

## Annexe 12 : Autorisation de recherche hopital régional Maroua

REPUBLIQUE DU CAMEROUN Paix-Travail-Patrie ----- MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE ----- SECRETARIAT GENERAL ----- DELEGATION REGIONALE DE L'EXTREME-NORD ----- HOPITAL REGIONAL DE MAROUA -----		REPUBLIC OF CAMEROON Peace-Work-Fatherland ----- MINISTRY OF PUBLIC HEALTH ----- SECRETARY GENERAL'S OFFICE ----- REGIONAL DELEGATION FOR FAR NORTH ----- MAROUA REGIONAL HOSPITAL -----
N° <u>23</u> /L/2018/MSP/DRSPEN/HPM	Maroua le	<u>07 NOV 2018</u>
	LE PRESIDENT DU COMITE D'ETHIQUE	
	A	
	MOHAMADOU MANSOUR Etudiant PHD à l'université de Yaoundé I	
<p><b>Objet</b> : Autorisation de recherche académique</p> <p>Monsieur,</p> <p>Suite à votre demande du 26 Octobre 2018, J'ai l'honneur de vous accorder une autorisation de recherche académique au sein de l'Hôpital Régional de Maroua pour une période d'un (01) an sur le thème « <b>étude de l'anti bio résistance et caractérisation moléculaire des souches multi résistantes de <i>staphylococcus aureus</i> dans les trois régions septentrionales du Cameroun</b> ».</p> <p>Toutefois, Vous serez assujettis aux règlements et déontologies de l'Hôpital en ce qui concerne la discrétion et la confidentialité des informations récoltées pendant toute la durée de votre recherche.</p> <p>Veillez-vous rapprocher du surveillant général pour le début effectif de vos recherches.</p>		
		LE PRESIDENT  ELOGH ERIC SERGI

**Annexe 13 : Autorisation de recherche Laboratoire Pharmacie Extreme-Nord**



Maroua, le 22/04/2019

MR MOHAMADOU MANSOUR  
ETUDIANT CYCLE DOCTORAT  
L'UNIVERSITE DE YAOUNDE 1

Objet : Autorisation de recherche

Monsieur,

Suite à votre demande du **26/10/2018** dont l'objet est susmentionné, je vous informe que je donne mon accord pour que vous effectuiez votre recherche sous le thème « **Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* dans les trois Régions Septentrionales du Cameroun** » dans mon Laboratoire.

Cependant, nous vous rappelons que cette l'étude doit se faire dans le strict respect de l'éthique. Vous allez prendre attache du Laboratoire pour les dispositions pratiques.

Je vous prie d'agréer mes salutations distinguées.

Le Responsable du Laboratoire

**Dr. BABI EBAI Emmanuel**  
*Pharmacien - Biologiste*  
(CNOP 504)



## Annexe 14 Autorisation de recherche CMS-Université de Maroua

REPUBLIQUE DU CAMEROUN Paix Travail – Patrie **** INISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR **** UNIVERSITE DE MAROUA **** RECTORAT **** Centre Medico-Social **** BP 46 MAROUA N° 18/250 UMa/Tr/CMS		REPUBLIC OF CAMEROON Peace – Work – Fatherland **** MINISTRY OF HIGHER EDUCATION **** THE UNIVERSITY OF MAROUA **** RECTOR'S OFFICE **** Health And Social Welfare Centre **** P.O BOX 46 MAROUA Maroua, le 8/11/18
<b>LE RECTEUR A MONSIEUR MOHAMADOU MANSOUR</b>		
<p><b>Objet :</b> Demande d'une autorisation de recherches</p> <p>Monsieur,</p> <p>Faisant suite à votre correspondance du 22 Octobre 2018 dont l'objet est repris en marge,</p> <p>J'ai l'honneur de vous informer que, je marque mon accord pour que vous effectuiez vos recherches au CMS de l'Université de Maroua de novembre 2018 à novembre 2019, sur le thème « Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches multi résistantes de <i>Staphylococcus aureus</i> dans les trois régions septentrionales du Cameroun ».</p> <p>Toutefois, je tiens à préciser que les recherches s'effectuent dans le strict respect de l'éthique et de la déontologie médicale et qu'une copie des résultats soit déposée dans nos services.</p> <p>Je vous prie d'agréer, Monsieur, mes souhaits cordiaux.</p>		
<p><b>POUR LE RECTEUR ET PAR DELEGATION LE CHEF DU CENTRE MEDICO-SOCIAL</b></p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"><div style="margin-left: 20px;"><p><i>Evariste Youmbi</i> Médecin du Travail</p></div></div>		

## Annexe 15 : Autorisation de recherche Délégué régional Santé Adamaoua

REPUBLIQUE DU CAMEROUN  
Paix – Travail – Patrie

REGION DE L'ADAMAOUA

DELEGATION DE LA SANTE PUBLIQUE

N° 122 /L/RA/DSP/SAGE/BAA/C/NGD

Ref. : V/L du 27 septembre 2018

REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace – Work – Fatherland

ADAMAWA REGION

DELEGATION OF PUBLIC HEALTH

Ngaoundéré, le 28 NOV 2018

Le Délégué

A

Monsieur MOHAMADOU MANSOUR, Etudiant  
en cycle de Doctorat PhD, Université de Yaoundé I  
Tél : 697 33 14 78 / 679 98 25 10

Objet : Demande d'une autorisation de recherche

Faisant suite à votre correspondance dont l'objet et la référence ont été repris en marge,

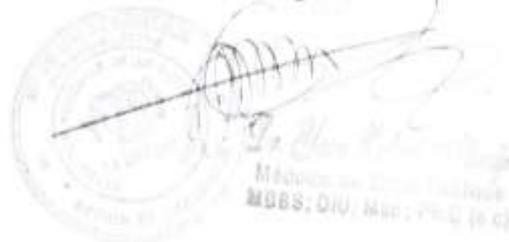
J'ai l'honneur de vous signifier mon accord de principe, vous autorisant à mener le projet de recherche intitulé «Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches multirésistantes de Staphylococcus aureus dans les trois régions septentrionales du Cameroun ».

Vous voudriez bien noter que le présent accord de principe ne vaut pas autorisation à mener cette étude et devez-vous conformer à la Décision N°0689/D/ MISANTE/SG/DROS du 29 juillet 2009 de Monsieur le Ministre de la Santé Publique, portant conditions de délivrance de l'Autorisation Administrative de Recherche en Santé Humaine au Cameroun.

Veuillez agréer, Monsieur, l'expression de ma parfaite considération.

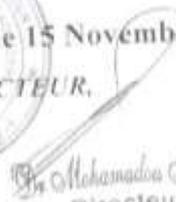
AMPLIATIONS :  
- MINSANTE/DROS  
- ARCHIVES

Le Délégué



Médecin de Santé Publique  
MBS: DIU, Msp: Ph.D (6 C)

## Annexe 16 : Autorisation de recherche Hopital régional Ngaoundéré

<p>REPUBLIQUE DU CAMEROUN Paix - Travail - Patrie</p> <p>REGION DE L'ADAMAOUA</p> <p>DELEGATION DE LA SANTE PUBLIQUE</p> <p>HOPITAL REGIONAL DE NGAOUNDERE</p> <p>N° _____ /LIRA/DRSPA/HR/NGD</p>		<p>REPUBLIC OF CAMEROON Peace-Work-Fatherland</p> <p>ADAMAWA REGION</p> <p>DELEGATION OF PUBLIC HEALTH</p> <p>NGAOUNDERE REGIONAL HOSPITAL</p>
<p>LE DIRECTEUR DE L'HOPITAL REGIONAL DE <u>NGAOUNDERE</u></p>		
<p><b>A</b></p> <p>Monsieur MOHAMADOU MANSOUR, Etudiant en cycle de Doctorat Ph D à l'Université de Yaoundé I.</p>		
<p><i>Objet : Autorisation de recherche sur le thème « Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches multirésistantes de Staphylococcus aureus dans les trois régions septentrionales du Cameroun ».</i></p>		
<p>Monsieur,</p>		
<p>Suite à votre demande déposée à l'Hôpital Régional de Ngaoundéré en date du 12 novembre 2018 en vue de mener une étude sur le thème ci-dessus,</p>		
<p>J'ai le plaisir de vous marquer mon accord de principe relatif à votre demande d'autorisation de recherche. Toutefois, vous devriez requérir au préalable le consentement éclairé et écrit de tout patient avant son enrôlement dans l'étude et vous êtes tenu de vous rapprocher des services concernés pour mener cette étude ; ce, dans le respect scrupuleux du règlement intérieur de l'Hôpital Régional de Ngaoundéré et, déposer une copie finale de votre travail auprès de la Direction de ladite structure.</p>		
<p>En foi de quoi la présente autorisation est établie et délivrée pour servir et valoir ce que de droit.</p>		
<p>Ngaoundéré, le 15 Novembre 2018</p> <p>LE DIRECTEUR,</p> <p> Dr. Mohamadou Hassan Directeur</p>		

## Annexe 17 : Autorisation de recherche Hopital Protestant Ngaoundéré



**Eglise Evangélique Luthérienne Du Cameroun**  
**Œuvre de Santé**  
**HOPITAL PROTESTANT DE NGAOUNDERE**

Lauréat de l'Excellence Africaine 2001



### **AUTORISATION DE RECHERCHE**

L'étudiant **MOHAMADOU MANSOUR** en Cycle de Doctorat ph D à l'Université de Yaoundé I est autorisé à effectuer une recherche à l'Hôpital Protestant de Ngaoundéré sur le thème : «**Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches multirésistance de *Staphylococcus aureus* dans les trois régions septentrionales du Cameroun.**».

L'intéressé devra travailler selon l'éthique et la déontologie professionnelle pour garantir la confidentialité des données recueillies.

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Ngaoundéré, le 11 avril 2019

**Le Directeur,**

**Ampliations :**

- RH/OSEELC ;
- Le Surveillant Général/HPN;
- Archives.



*[Signature]*  
Dr Med. Simon Z AROGA  
N° 3755 ORDRE DES MEDECINS  
CAMEROUN

Hôpital Protestant de Ngaoundéré  
BP.06, Ngaoundéré-Cameroun  
E-mail : [hospitalprotestant@yahoo.fr](mailto:hospitalprotestant@yahoo.fr)  
[www.oseelc.org](http://www.oseelc.org)

## Annexe 18 : Autorisation de recherche CHUY

REPUBLIQUE DU CAMEROUN  
Paix – Travail – Patrie

MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE



YAOUNDE

CENTRE HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE DE YAOUNDE  
YAOUNDE UNIVERSITY TEACHING HOSPITAL

Tél. : 22 31 25 66 Fax 22 31 25 67

Site web : www.chu-yaounde.org

**DIRECTION GENERALE**

CELLULE D'APPUI PEDAGOGIQUE, DE LA  
RECHERCHE ET DE LA COOPERATION

BUREAU DES STAGES ET DE LA FORMATION

REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace – Work – Fatherland

MINISTRY OF PUBLIC HEALTH

N° 427/AR/CHUY/DG/DGA/CAPRC

### AUTORISATION DE RECHERCHE

Dans le cadre de la rédaction d'une thèse de fin d'étude, en vue de l'obtention de son doctorat, Monsieur MOHAMADOU MANSOUR est autorisé à mener une recherche au CHUY sur le thème : « Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches de staphylococcus aureus dans les trois régions septentrionales du Cameroun ».

Ces travaux se dérouleront dans le service de bactériologie sous la supervision du chef de service.

Toutefois, l'étudiant doit obligatoirement déposer un exemplaire de sa thèse au CHUY (bureau des stages et de la formation)

En foi de quoi la présente autorisation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit./-

#### COPIE :

- CAPRC
- BSF
- SUPERVISEUR
- CHRONO

Yaoundé, le 06 DEC 2018

LE DIRECTEUR GENERAL



*Arthur Essomba*

## Annexe 19 Questionnaire de l'étude

REPUBLIQUE DU CAMEROUN  
Paix – Travail – Patrie  
\*\*\*\*\*

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
\*\*\*\*\*  
UNIVERSITE DE YAOUNDE I



REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace – Work – Fatherland  
\*\*\*\*\*

MINISTRY OF HIGHER EDUCATION  
\*\*\*\*\*  
THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

**Thème :** « Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* dans les trois Régions septentrionales du Cameroun ».

### QUESTIONNAIRE PATIENTS

#### I- DONNEES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES

- 1- Numéro Anonymat....
- 2- Région d'étude.....  Site d'étude.
- 3- Sexe .....M  F
- 4- Si Féminin préciser Enceinte oui  non
- 5- Date de naissance  Age (années)

#### II- Patients Hospitalisés

- 6- Service d'admission
- 7- Depuis combien de temps (jours) êtes-vous hospitalisé
- 8- Avez-vous été interné dans un autre service Oui  Non
- 9- Si oui précisez le service et combien de jours vous avez passé dans ce service
- 10- êtes-vous dans une salle commune Oui  Non
- 11- Si oui combien de lits y a-t-il dans cette salle

#### III- Patient non hospitalisé

- 12- Avez-vous séjourné dans un centre hospitalier dans les trois derniers jours oui  non
- 13- Si non passer à IV
- 14- Si oui précisez le motif de votre séjour à l'Hôpital : Rendre visite à malade interné  ; Se faire consulter  ; Faire un pansement  ; Recevoir une injection  ; Retrait de la sonde  ; autres à préciser

#### IV- Antécédents médicamenteux

- 15- Avez-vous pris des Antibiotiques à la maison Oui  Non  Si non passez à Q18
- 16- si oui quelle est la durée (jours) du traitement
- 17- Pouvez-vous nous dire le nom de l'Antibiotique
- 18- Prenez-vous les remèdes traditionnels : Oui  Non
- 19- Si oui depuis combien de temps (en jours)

#### V- Statut immunologique

- 20- Connaissez-vous votre statut sérologique VIH actuel Oui  Non
- 21- Si oui précisez Positif  Négatif
- 22- Si non acceptez-vous qu'on effectue votre dépistage oui  non
- 23- Si oui prélever
- 24- Résultat du dépistage Positif  Négatif
- 25- Souffrez-vous d'une des pathologies chroniques suivantes oui non : Diabète  ; Hypertension artérielle  ; Cancer  ; Autres à préciser
- 26- Si dépistage diabète non connu effectuez la glycémie

#### VI- PRELEVEMENT

- 27- Précisez (encerclez) le type de prélèvement dans lequel le Staphylocoque a été isolé : PCV, PU, ECBU, Coproculture PUS, Hémoculture, Autre précisez
- 28- Date du prélèvement

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

\*\*\*\*\*

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace – Work – Fatherland

\*\*\*\*\*

MINISTRY OF HIGHER EDUCATION

\*\*\*\*\*

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

## NOTICE D'INFORMATION

**Lisez attentivement cette notice et posez toutes les questions qui vous sembleront utiles. Vous pourrez alors décider si vous voulez participer à cette recherche ou non.**

**TITRE DE L'ETUDE:** « Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* dans les trois régions septentrionales du Cameroun ».

**Nom de l'Etudiant:** MOHAMADOU MANSOUR, Etudiant en doctorat Ph D à l'Université de Yaoundé I.

**Adresse de l'Etudiant :** Université de Yaoundé I, Faculté de Sciences, BP 812 Yaoundé-Cameroun

Madame, Mademoiselle, Monsieur,

En vue de notre obtention d'un Diplôme de Doctorat Ph D à l'Université de Yaoundé I, nous voulons mener une étude pour caractériser les souches de *Staphylococcus aureus* qui est un germe qui cause plus de maladies chez l'Homme ainsi que chez les Animaux et on enregistre de plus en plus des échecs thérapeutiques due à l'apparition des germes multirésistants dont on a les difficultés à éradiquer. Vous pouvez donc participer à cette étude si vous acceptez.

- Nous vous demanderons de remplir un questionnaire simple,
- Nous utiliserons l'échantillon prélevé sur vous pour la culture du germe ;
- Nous mènerons une étude approfondie sur ce germe le *Staphylococcus aureus* en occurrence afin de mieux caractériser ce dernier et comprendre leur profil de résistance pour obtenir une meilleure gamme d'antibiotiques capable de vous traiter efficacement ;
- Tous les échantillons et données vous concernant seront rendus anonymes ;
- vous avez le droit de refuser de participer ;
- Si vous acceptez de participer à cette étude nous vous en serons reconnaissants ;

**Les risques liés à l'étude:** il y a aucun risque direct recensé dans le cadre de cette étude.

**Les bénéfices :** les bénéfices de participer à l'étude seront accrues par exemple vous n'aurez aucune charge financière à déboursier pour la suite des analyses, les mécanismes de résistances seront connues et une meilleure prise en charge sera proposée dans l'avenir.

**Votre participation est volontaire et bénévole, et vous n'aurez aucune charge financière à supporter**

### Adresse:

**Investigateur principal**

MOHAMADOU MANSOUR

Etudiant en cycle de Doctorat Ph D  
à l'Université de Yaoundé I

Tel : 697 33 14 78/ 679 98 25 10

**Directeur de thèse**

Pr. GONSU KAMGA Hortense

Maitre de Conférences

FMSB/Université de Yaoundé I

Tel : 677 93 32 70

**Co Directeur de thèse**

Pr. RIWOM ESSAMA Sara

Maitre de Conférences

FS/Université de Yaoundé I

Tel : 694 49 80 53

**Comité National d'éthique pour la recherche:**

Comité National Ethique pour la Recherche en Santé (CNERSH)

Tel: 243 67 43 39

Email: [cnethique-minsante@yahoo.fr](mailto:cnethique-minsante@yahoo.fr)

Consentement éclairé

ail: [cnethique-minsante@yahoo.fr](mailto:cnethique-minsante@yahoo.fr)

REPUBLIQUE DU CAMEROUN  
Paix – Travail – Patrie  
\*\*\*\*\*  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
\*\*\*\*\*  
UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
\*\*\*\*\*  
FACULTE DES SCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace – Work – Fatherland  
\*\*\*\*\*  
MINISTRY OF HIGHER EDUCATION  
\*\*\*\*\*  
THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
\*\*\*\*\*  
FACULTY OF SCIENCE

## CONSENTEMENT ECLAIRE

**Titre de l'étude :** « Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* dans les trois régions septentrionales du Cameroun ».

Les détails concernant cette étude sont fournis dans la notice d'information spécifique qui vous a été remise.

**Lisez attentivement cette notice et posez toutes les questions qui vous sembleront utiles.**

Je soussigné, M./Mme/Mlle..... Déclare avoir été invité au travail de recherche intitulé « Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* dans les trois régions septentrionales du Cameroun ». Conduit sur le Terrain par MOHAMADOU MANSOUR Etudiant en cycle de Doctorat à l'Université de Yaoundé 1, sous la direction du Pr. GONSU KAMGA Hortense et Pr. RIWOM ESSAMA Sara Maitres de Conférences à l'Université de Yaoundé 1.

J'ai compris le but et les modalités de cette étude, qui nous ont été pleinement expliqués.

J'ai reçu le formulaire d'information spécifique que j'ai eu la possibilité d'étudier avec attention.

On a répondu à toutes mes questions et j'en suis satisfait(e).

J'ai disposé d'un délai de réflexion suffisant avant de prendre ma décision.

**Je donne mon accord de plein gré pour que l'échantillon prélevé sur moi soit utilisé pour cette étude dans les conditions précisées dans le formulaire d'information ci-joint.** Je sais que je pourrai, à tout moment, retirer mon consentement. J'en informerai alors l'Etudiant MOHAMADOU MANSOUR (investigateur principal).

J'ai été informé(e) que conformément à la réglementation sur les études cliniques, le **Comité National d'Ethique de la Recherche pour la santé Humaine (CNERSH)** a rendu un **avis favorable** pour la réalisation de cette étude **en date du 11/08/2017**.

Toutes les données me concernant resteront **anonymes**. J'accepte que les données nécessaires à la recherche soient recueillies durant ma participation à l'étude.

**Je donne mon consentement pour participer à cette recherche en toute connaissance de cause et en toute liberté.**

### LE PARTICIPANT

Date : .....

Signature du participant (précédé de la mention « lu et approuvé »)

### Adresse:

#### Investigateur principal

MOHAMADOU MANSOUR  
Etudiant en cycle de Doctorat Ph D  
à l'Université de Yaoundé 1  
Tel : 697 33 14 78/ 679 98 25 10

#### Directeur de thèse

Pr. GONSU KAMGA Hortense  
Maitre de Conférences  
FMSB/Université de Yaoundé 1  
Tel : 677 93 32 70

#### Co Directeur de thèse

Pr. RIWOM ESSAMA Sara  
Maitre de Conférences  
FS/Université de Yaoundé 1  
Tel : 694 49 80 53

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

\*\*\*\*\*

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace – Work – Fatherland

\*\*\*\*\*

MINISTRY OF HIGHER EDUCATION

\*\*\*\*\*

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*

## ASSENTIMENT DU PARENT OU TUTEUR

**Titre de l'étude :** « Etude de l'antibiorésistance et caractérisation moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* dans les trois Régions septentrionales du Cameroun ».

Les détails concernant cette étude sont fournis dans la notice d'information spécifique qui vous a été remise.

**Lisez attentivement cette notice et posez toutes les questions qui vous sembleront utiles.**

Je soussigné, M./Mme/Mlle.....**Parent/tuteur** du nommé  
..... Agé de ..... déclare avoir compris

le but et les modalités de cette étude, qui nous ont été pleinement expliqués.

J'ai reçu le formulaire d'information spécifique que j'ai eu la possibilité d'étudier avec attention.

On a répondu à toutes mes questions et j'en suis satisfait(e).

J'ai disposé d'un délai de réflexion suffisant avant de prendre ma décision.

**Je donne mon accord de plein gré pour que mon (ma) ..... participe à cette recherche dans les conditions précisées dans le formulaire d'information ci-joint.** Je sais que je pourrai, à tout moment, retirer mon consentement. J'en informerai alors l'Etudiant MOHAMADOU MANSOUR (investigateur principal).

J'ai été informé(e) que conformément à la réglementation sur les études cliniques, le **Comité National d'Ethique de la Recherche pour la santé Humaine (CNERSH)** a rendu un **avis favorable** pour la réalisation de cette étude **en date du 11/08/2017.**

Toutes les données concernant mon (ma)..... resteront **anonymes.** J'accepte que les données nécessaires à la recherche soient recueillies durant sa participation à l'étude.

**Je donne mon consentement pour que mon (ma)..... participe à cette recherche en toute connaissance de cause et en toute liberté.**

**A REMPLIR PAR LE PARENT/TUTEUR**

Date : .....

Signature du participant (précédé de la mention « lu et approuvé »)

### Adresse:

**Investigateur principal**

MOHAMADOU MANSOUR

Etudiant en cycle de Doctorat Ph D

à l'Université de Yaoundé 1

Tel : 697 33 14 78/ 679 98 25 10

**Directeur de thèse**

Pr. GONSU KAMGA Hortense

Maitre de Conférences

FMSB/Université de Yaoundé 1

Tel : 677 93 32 70

**Co Directeur de thèse**

Pr. RIWOM ESSAMA Sara

Maitre de Conférences

FS/Université de Yaoundé 1

Tel : 694 49 80 53

**Annexe 20 : Bonification letter**



**COMSATS University Islamabad (CUI)**

International Students Unit, International office,  
4th Floor, Faculty Block II, Park Road, Islamabad  
Phone +92 51-9247001-3, +92 51 8318471 Ext 5195

No: CUI/IO-PS(1)Bonafide-2021

July 26, 2021

**To Whom It May Concern**

This is to certify that Mr. Mohamadou Mansour, Cameroonian National, bearing passport no. 0586741 is a bonafide student of PhD (Sandwich) program in department of Biosciences at COMSATS University Islamabad (CUI).

The length of program is 6 – 12 months and he is currently doing his research work.

Kashif Masood

Deputy Registrar

**Kashif Masood**  
Deputy Registrar  
International Office  
COMSATS University Islamabad

## Annexe 21 Registration letter



# ہائیر ایجوکیشن کمیشن HIGHER EDUCATION COMMISSION

Government of Pakistan, Islamabad

Sector H-8  
Islamabad, Pakistan  
Phone : +92-51-90402446  
Fax : +92-21-90402102  
www.hec.gov.pk  
smirza@hec.gov.pk

Office of the  
Assistant Director (Academics)

No. 5-2/FS (COMSATS-05)/Acad/HEC/2020/۴۸7  
Dated: December 29, 2020

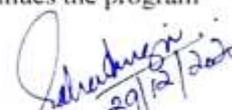
**Subject: Admission of Foreign Students in Educational Institutions of Pakistan**

The Higher Education Commission (HEC) has no objection on the admission of following foreign student(s) at **COMSATS University, Islamabad** from educational point of view for visa purpose only subject to clearance from all relevant authorities / agencies:

Sr. #	Name	Nationality	Passport No.	Course & Duration
1.	MUJTABA BARAK	AFGHAN	P00889309	MS Molecular Genetics 2 Years
2.	ABIDEEN TEMITAYO OYEW	NIGERIAN	A08523348	PhD Research Programme 6 Months
3.	ADDIS TADESSE TEKLE	EITHOPIAN	EP5077871	PhD Research Programme 6 Months
4.	MOHAMADOU MANSOUR	CAMEROONIAN	0586741	PhD Research Programme 6 Months
5.	ALIDEHOU JERROLD AGBANKPE	BENINESE	B0483251	Postdoctoral Fellowship 6 Months
6.	MAHJOUB YAGOUR ABDALLA ISMAIL	SUDANESE	P05397845	Postdoctoral Fellowship 6 Months
7.	MUHAMMAD ABDULLAHI	NIGERIAN	A09586942	MS Mathematics 2 Years
8.	NAZIR KHAN AZIZI	AFGHAN	P00855879	MS Computer Science 2 Years
9.	DAHIRU ABDURRAHMAN	NIGERIAN	A08929081	MS Mathematics 2 Years
10.	MOHAMMAD OMER AYOUBI	AFGHAN	P03889700	MS Computer Engineering 2 Years

2. The University/Institute must ensure that their respective programs & degree levels are in line with **HEC Semester Guidelines and National Qualification Framework of Pakistan along with equivalence certificate of last degree/qualification (in case of foreign qualification)**. Any admission awarded without complying above instructions would not be recognized by HEC.

3. The intimation of confirmation of joining of the above mentioned student(s) to this office is **MANDATORY** within 15 working days. In case of non-submission of joining report by the concerned University / Degree Awarding Institute (DAI), the NOC would be treated as **cancelled**. Furthermore, it is mandatory for the University / DAI to inform this office, in case the student discontinues the program of study at any point in time.

  
29/12/2020  
(Saher Mirza)

**Mr. Main M. Taj Arsal**  
Assistant Registrar  
International Office, 4<sup>th</sup> Floor, Block II  
COMSATS University, Park road  
Islamabad

**Copy for information:**

- Section Officer (Poll. E-I), Ministry of Interior, Islamabad.
- PS to Director General (Academics) HEC, Islamabad
- PS to Advisor (HRD), Islamabad
- PS to Director General (SIU) HEC, Islamabad
- Office Copy



**CUI-TWAS SANDWICH  
POSTGRADUATE FELLOWSHIP  
AWARD**



TO:  
**Mr. Mohamadou Mansour**  
Faculty of Science,  
University of Yaounde I  
PO BOX 812 Yaounde  
Cameroon

7 December 2020

**SUBJECT: Award of 2020 CUI-TWAS Sandwich Postgraduate Fellowship  
FR number: 3240315420**

Dear Mr. Mohamadou Mnasour,

The COMSATS University Islamabad (CUI) and The World Academy of Sciences (TWAS) - for the advancement of science in developing countries, are pleased to inform you that you have been awarded a CUI-TWAS Sandwich Postgraduate Fellowship to pursue a PhD research programme in Pakistan.

The terms and conditions of the Fellowship are contained in this award letter.

It is recommended that you carefully read the award letter as it contains KEY INFORMATION on every aspect of your Fellowship, including visa, medical, stipend and travel arrangements.

**PURPOSE & DURATION**

- The Fellowship is intended for a sandwich postgraduate study programme comprising course work and research. It is tenable at the **Department of Biosciences, CUI, Islamabad Campus**, under the supervision of **Prof. Syed Habib Bukhari**.

- The Fellowship must be taken up within one year of the date of the award letter or the Fellowship will become null and void.

- The effective commencement date of this Postgraduate Fellowship is any time from February 2021 and should match with the beginning of the academic calendar of CUI, which starts in February and September each year. The exact date must be decided and confirmed with CUI, and TWAS must be informed of this date.

- From the effective date of commencement you will have six (6) months to complete your Postgraduate Fellowship since you are already registered in your home country for a PhD. This period may be extended by another six (6) months upon satisfactory progress on the recommendation of the host supervisor and concurrence of the home supervisor. You are expected to complete your research visit within this timeframe.

In extremely exceptional cases, where the research work cannot be completed due to **COMPELLING** circumstances beyond your control, the Fellowship may be extended for an additional period of 6 months without financial liability of CUI and TWAS, after which CUI and TWAS will bear no further responsibility.

- You must return to your home country on completion of the Fellowship and must sign the attached Acceptance Form (see Annex 1) to this effect.

- By remaining in the host country on completion of the fellowship, awardees can be considered in breach of regulations and may therefore be asked to return the full amount of the fellowship to TWAS and CUI.

- Also note any expenses regarding travel that have not been pre-approved by TWAS will not be reimbursed.

If you accept the terms and conditions of this Fellowship, you should sign and return copies of the attached Acceptance Form (see Annex 1) to TWAS and CUI, **no later than 6 January 2021**, while you retain the original version. If no confirmation is received by this date, the CUI-TWAS Postgraduate Fellowship will be cancelled.

Upon receipt of the completed and signed Acceptance Form, TWAS will inform you how to proceed with travel arrangements. Please note you must NOT purchase any ticket without prior permission and that any advance payment for travel expenses requires at least two months' preparation.

Yours sincerely,



Prof. Romain Murenzi  
Executive Director  
The World Academy of Sciences (TWAS) - for the  
advancement of science in developing countries



Prof. Dr. Shamsul Qamar  
Registrar  
COMSATS University Islamabad (CUI)