

**ANTIBIORESISTANCE ET PRODUCTION DE TOXINES PAR DES SOUCHES  
DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLEES DE DIARRHEE**



**BABA-MOUSSA Lamine Saïd<sup>1\*</sup>, ZINZENDORF Nanga Yesse<sup>2</sup>, YOUSAO A.K. Issaka<sup>3</sup>, ASSOGBA Bérénice<sup>1</sup>, ANAGONOU Sévérin<sup>4</sup>, PREVOST Gilles<sup>5</sup>, SANNI Ambaliou<sup>1</sup>**

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, FAST, Université d'Abomey-Calavi, BENIN, 04 BP 0320 Cotonou

2. UFR de Pharmacie, Laboratoire de microbiologie, BP V 34 Abidjan

3. Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Département des Productions Animales, Université d'Abomey-Calavi, BP 2009, Cotonou Bénin

4. Service de bactériologie, CHU Hubert MAGA de Cotonou, Bénin

5. UPRES EA-3432, Institut de Bactériologie de la Faculté de Médecine, Université Louis Pasteur-Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Rue Koeberlé 3, F-67000 Strasbourg, France

**Auteur correspondant : BABA-MOUSSA Lamine Saïd**, Email : [laminesaid@yahoo.fr](mailto:laminesaid@yahoo.fr)

Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, FAST, Université Abomey-Calavi, BENIN, 04BP0320 Cotonou Tel : (00229) 90942906 ou (00229)21301024, FAX (00229)21301024

**RESUME**

Les diarrhées aiguës infectieuses représentent un problème majeur de santé publique dans le monde, surtout dans les pays en développement où elles sévissent à l'état endémique. On évalue entre 5 et 10 millions par an le nombre de morts par diarrhée infantile et la bactérie *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) est l'un des principaux agents. Très peu de donnée existe sur les facteurs de pathogénicité produits par ces souches de *S.aureus* isolées de diarrhées dans les pays africains. Le but de cette étude est donc d'isoler cette bactérie à partir des selles de diarrhées chez des patients du Centre Hospitalier Hubert Koutoucou MAGA de Cotonou et de rechercher les leucotoxines et entérotoxines qu'elle produit. De Novembre 2004 à Janvier 2005, 230 selles de diarrhées ont été prélevées et analysées chez 198 patients et 32 contenaient la bactérie *S. aureus* en culture pure soit 13, 91%. La majorité des patients chez lesquels les souches de *S. aureus* ont été isolées, était sous antibiotique. Les toxines ont été recherchées par la PCR multiplex ou immunoprécipitation. Toutes les souches sont résistantes à la Pénicilline G et 62% à l'Oxacilline. Quant aux toxines, la majorité des souches soit 56% produisent la leucotoxine Luke-LukD. Toutes les souches qui produisent l'entérotoxines A produisent également la leucotoxine Luke-LukD. La leucocidine de Panton et Valentine est produite par 19% des souches. Cette étude apporte des connaissances nouvelles notamment sur les facteurs de virulence produits par la bactérie *S. aureus*. C'est en partie par une grande rapidité dans le diagnostic et la mise en oeuvre des thérapeutiques que l'on pourra diminuer l'incidence de ces infections.

**Mots-clés** : *Staphylococcus aureus*, diarrhées, leucotoxines, entérotoxines

**ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY AND TOXIN PRODUCTION BY STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS ISOLATED FROM DIARRHOEA**

**ABSTRACT**

Acute infectious diarrhea is a major public health issue in the world, particularly in developing countries where such diseases remain endemic and the resulting dehydration complicates prognosis. Infectious infant diarrhea caused between 5 to 10 millions deaths per year and *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) was one of their causative agents. Little is known on the virulence factors produced by the diarrhoea isolated strains of *S.aureus* in Africa. The goal of this study is therefore to find out the leucotoxins and enterotoxins produced by its strains isolated from diarrhoea from patients attending the Centre Hospitalier Hubert Koutoucou MAGA, in Cotonou, Benin. The toxins were screened par multiplex PCR or immunoprecipitation. From November 2004 to January 2005, 230 faecal diarrhoea were investigated from 198 patients and 32 (13.91%) were positive for *S. aureus*, in pure culture. Most of the patients from whom the bacteria were isolated were under antibiotics treatment regimen. All isolated strains are resistant to penicillin G, and 62% to Oxacillin. Concerning the toxins, the Leucotoxin Luke-LukD was produced by 56 % of the studied strains. All the strains that produced Luke-LukD, also produced the Enterotoxin A (SEA). The Panton and Valentine Leucocidine (PVL) were produced by 19% of the strains. This study brings new insight into the virulence factors produced by *S. aureus* strains isolated from diarrhoea in Cotonou, Benin. The characterization of these factors may improve diagnosis.

**Keywords**: *Staphylococcus aureus*, diarrhoea, leucotoxins, enterotoxins

## INTRODUCTION

*S. aureus* est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme. C'est une espèce saprophyte, ubiquitaire et présente à l'état commensal. Trente à cinquante pour cent d'individus sains sont porteurs de ce germe.

Pendant longtemps la bactérie *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) a été considérée comme étant une des causes de diarrhées associées à la prise d'antibiotique [1]. C'est la bactérie la plus fréquemment isolée en milieu hospitalier. Son équipement génétique lui permet d'être responsable d'une grande variété d'infections touchant les systèmes de l'organisme. Cet agent est responsable d'environ 20% des infections nosocomiales [2] et la multirésistance de nombre de ses souches aux différentes familles d'antibiotiques est une cause d'échecs thérapeutiques et de morbidité en milieu hospitalier. Ces aléas augmentent les séjours et les coûts d'hospitalisation. Depuis une vingtaine d'années, des infections intestinales à *S. aureus* sont rapportées. McDonald *et al.* [3] rapportent 10 cas et Scopetti *et al.* [4] 9 cas. Les facteurs de risque sont la prise d'antibiotiques, l'âge, une chirurgie intestinale récente [4]. Les souches impliquées sont le plus souvent résistantes à la pénicilline.

Le constat est que dans les pays en voie de développement comme le Bénin la prise en charge des malades souffrant de diarrhées commence toujours par un traitement antibiotique sans même que le germe mis en cause ne soit diagnostiqué et ce n'est qu'en cas de persistance de la diarrhée qu'on passe à la recherche des germes. La bactérie *S. aureus* est très rarement recherchée dans les selles dans les hôpitaux au Bénin alors que des études effectuées précédemment ont déjà montré qu'elle peut être responsable de diarrhée. Vu le nombre de souches de *S. aureus* de plus en plus résistantes à la pénicilline en Afrique [5, 6] il était important d'étudier la prévalence de cette bactérie dans les diarrhées au Bénin et de rechercher les toxines et facteurs d'adhésion associés. En effet, *S. aureus* est responsable de nombreux types d'infections où les facteurs d'adhésion, d'opsonisation et d'invasion se complètent pour exprimer la virulence de la bactérie. Plusieurs souches sont capables de produire une ou plusieurs entérotoxines [7] responsables des symptômes gastro-intestinaux observés lors des intoxications alimentaires [8].

Très peu de données existent sur les facteurs de virulence produits par les souches de *S. aureus* en Afrique [9]. Ce travail a eu donc

pour objectif de rechercher les toxines sécrétées par ces souches de *S. aureus* isolées dans les selles de patients souffrant de diarrhées au Centre Hospitalier Hubert Koutoucou MAGA (CHU-HKM) de Cotonou et d'étudier leur antibiorésistance.

## MATERIELS ET METHODES

### Identification des souches

L'isolement a été réalisé au laboratoire de bactériologie du CHU-HKM. Cette collecte a été faite pendant la période de Novembre 2004 à janvier 2005. Les souches de *S. aureus* ont d'abord identifiées comme des cocci groupés en amas à Gram (+), aérobies-anaérobies facultatif produisant une catalase, une coagulase et de l'acétone. Les autres bactéries entéropathogènes à savoir *Salmonella sp*, *Shigella*, *E. coli*, *Clostridium difficile* ont été également recherchées mais seuls les prélèvements où *S. aureus* était en culture pure ou majoritaire de la flore aérobie ( $\geq 90\%$  UFC) ont été considérés pour cette étude afin d'être certain que la diarrhée est associée à cette bactérie. Les coprocultures ont été ensemencées de façon classique [10].

Des questionnaires ont été établis afin d'avoir des renseignements sur l'identité, l'âge, le sexe, les raisons d'admission, la durée de la diarrhée, les autres symptômes, et l'antibiothérapie des malades concernés. La diarrhée est définie comme l'émission d'au moins 3 selles liquides ou semi-molles par jours pendant une durée d'au moins 48 h.

### Test de résistance aux antibiotiques

Les sensibilités aux antibiotiques ont été déterminées par diffusion sur milieu Mueller-Hinton gélosé conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie [11]. Les antibiogrammes présentés ont été effectués par la méthode de diffusion en gélose à partir de disques chargés en antibiotiques: Pénicilline G, Oxacilline, kanamycine, gentamicine, Ofloxacin, pristinamycine, érythromycine, rifampicine, fosfomycine, acide fusidique, triméthoprimesulfaméthoxazole, Tobramycine, Linezolid, Chloramphénicol, Tétracycline. La résistance à l'oxacilline a été déterminée par le diamètre d'inhibition de croissance sur une gélose hyper salée à 6,5% (p/v) NaCl après 24 h d'incubation à 30°C.

### Détection phénotypique des toxines leucotoxines

Les différentes leucotoxines à savoir la Leucotoxine de Pantan et Valentine (PVL), la leucotoxine LukE-LukD ont été détectées à partir de

surageant après 18 heures de culture dans le milieu YCP [12] par un test d'immunoprécipitation après une diffusion radiale. La réaction s'effectue dans un gel d'agarose 0,6% (p/v) dans le tampon PBS (10 mM Hepes, 150 mM NaCl pH 7.5), contenant des puits d'un volume de 50 µl, espacés de 8 mm entre eux, dans lesquels ont été déposés des anticorps de lapin anti-leucotoxine purifiés par affinité [12] à DO<sub>280nm</sub>3 qui vont réagir avec les surnageants de culture ou les lysats bactériens. Après une diffusion de 16 heures, les arcs de précipitation ont été visionnés directement à l'œil nu ou après une coloration au bleu de Coomassie.

#### Recherche des entérotoxines par le Test d'agglutination

Les entérotoxines A, B, C et D ont été déterminées par des tests semi quantitatifs utilisant respectivement des kits SET-RPLA (Reversed passive latex agglutination) et TST-RPLA (Oxoid, Hampshire, England). Ces tests sont connus pour être très sensibles et spécifiques [13]. Les réactions ont lieu dans des microplaques ELISA à 96 puits en présence de 25 µl surnageant de culture des souches et 25 µl des billes de latex imbibés des anticorps adéquats. Lorsque la réaction est positive on observe, après 24 H à température ambiante, un dépôt blanchâtre au fond de la plaque.

#### Détection génotypique des entérotoxines

Les autres toxines pour lesquelles nous n'avons pas d'anticorps ont été détectées par PCR Multiplex (Tableau I) sur ADN purifié à partir de Kit : QIAamp®DNA Mini Kit (Qiagen, GmbH, Germany) La présence des gènes codant les entérotoxines E (*see*), G (*seg*), H (*seh*), K (*sek*), L (*sel*), T (*set*), épidermolysine D (*etd*), les gènes codant les facteurs ADP-ribosylants EDIN-A,-B,-C (Epidermal Cell Differentiation inhibitor). La PCR a été réalisée avec un appareil Gene Amp® PCR System 9700 (Perkin-Elmer, Norwalk, USA) dans un volume total de 50 µl contenant 25 pmole de chaque amorce, 50 ng d'ADN, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM du mélange de dNTP, Tampon PCR 10X concentré et 5 unités de Fast Taq DNA polymerase (Roche Applied Science, GmbH, Germany).

La réaction de PCR comprend une étape initiale de dénaturation (2 min à 92°C) suivie par 35 cycles d'amplification comprenant chacun 2 min de dénaturation à 92°C, 1 min d'hybridation à 50°C et une elongation de 2 min 30 s à 72°C. La réaction est terminée par une étape d'extension finale de 3 min à 72°C. Le produit de PCR a été analysé par une électrophorèse sur agarose 1,4% (Euro-medex, Mundolsheim, France). Le gel a été ensuite visualisé sous lumière ultraviolette (UV).

Tableau 1 : Oligonucléotides utilisés pour la recherche des toxines

Facteurs de virulence	Sequences des amorces	Polarité	Taille (pb)	PCR Multiplexe
<b>EDIN B</b>	EDIN B1 : 5'-ACAGACTTAGTTGAAGCTACTAAATG-3'	Sens	522	4
	EDIN B2 : 5'-TGTCCTGTAGGCAAAAGAACTTCTTG-3'	Antisens		
<b>SEH</b>	SEH1 : 5'-CATCTACCCAAACATTAGCACC-3'	Sens	222	4
	SEH2 : 5'-AGAAATCAAGGTGATAGTGGCAA-3'	Antisens		
<b>EDIN A</b>	EDIN A1 : 5'-TCATAGAAGTATCTAATACTTCTTTAGCA-3'	Sens	604	1
	EDIN A2 : 5'-TCCAACACGGTATTCTGTGCCTCTAGGTA-3'	Antisens		
<b>SET</b>	SET1 : 5'-GAAGGTCTACAAGGCCAAAATGTCT-3'	Sens	363	5
	SET2 : 5'-TCAACACATCGCCCATGCGCTCGA-3'	Antisens		
<b>SEE</b>	SEE1 : 5'-CTTACCGCCAAAGCTGTCTG-3'	Sens	159	2
	SEE2 : 5'-GTCCACTTGTAATGGTAGCGAGAA-3'	Antisens		
<b>SEK</b>	SEK1 : 5'-TGATACTCCTATAGCTAATCAACTACA-3'	Sens	300	2
	SEK2 : 5'-ATCAATCTCTTGAGCGGTAACA-3'	Antisens		
<b>SEG</b>	SEG1 : 5'-AATTATGTGAATGCTCAACCCGAT-3'	Sens	408	2
	SEG2 : 5'-CTTTAGTGAGCCAGTGTCTTGCTTTG-3'	Antisens		
<b>ETD</b>	ETD1 : 5'-ACGAATTCAATACATATGAAGAATCTGAAATTTTA-3'	Sens	800	1
	ETD2 : 5'-GCAGAATTCAAGTTATTCCATAATGATTAGAATGA-3'	Antisens		
<b>SEL</b>	SEL1 : 5'-ACCAGAATCACACCGCTTAGAATAC-3'	Sens	422	1
	SEL2 : 5'-TGGAATACTACACTCCCCTTATCAAAG-3'	Antisens		
<b>EDIN C</b>	EDIN C1 : 5'-AGGTCTTCCAGCTAATGCAGCTCCTT-3'	Sens	543	5
	EDIN C2 : 5'-ACAGTTCAAAGACAAAGAAGCTATT-3'	Antisens		
<b>ETB</b>	ETB1 : 5'-GAGGTTCCACCTACAGATAAAGAG-3'	Sens	243	5
	ETB2 : 5'-CTGATCCAGAGTTTACCACTGTGA-3'	Antisens		

## RESULTATS

### Données cliniques

La plupart des malades hospitalisés ne souffraient pas de diarrhées avant leur hospitalisation. Sur 230 prélèvements de selles de diarrhée analysées, chez 198 malades, 32 souches soit un pourcentage de 13,91% ont été identifiées comme des *S. aureus*, 17 souches provenaient de patients de sexe féminin et les 15 autres de sexe masculin. L'âge des patients féminins varie de 1 à 70 ans avec une moyenne d'âge de 31,76 ans ( $\pm 20,30$ ) celui des patients masculins varie de 8 mois à 60 ans avec une moyenne d'âge de 28,88 ans ( $\pm 23,11$  ans). La moyenne d'âge de tous les patients étant 30,32 ans.

Parmi les patients chez lesquels les souches de *S. aureus* ont été isolées, 21 reçoivent une antibiothérapie depuis au moins 5 jours. La durée moyenne des antibiothérapies varie de 5 à 14 jours. Sept (7) malades étaient sous Ampicilline, 10 sous Amoxicilline, 3 sous Gentamycine, 1 sous Zinnat® (Céfuroxime). La durée moyenne du traitement avant le prélèvement est de 4 jours.

### Antibiorésistance

De rares données existent sur les profils de sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées de diarrhées en Afrique équatoriale [9]. Le Tableau 2 indique les résultats obtenus pour les souches isolées au CHU-HKM de Cotonou. Toutes les souches sont résistantes à la Pénicilline G. Par contre aucune souche n'est résistante à la Vancomycine, à la Téricoplanine au Linezolid, et à l'Ofloxacin. Vingt cinq pour cent (25%) des souches sont résistantes à la Kanamycine, la Tobramycine et la Chloramphénicol alors que 53% sont résistantes à l'Erythromycine. La majorité des souches soit 62% sont résistantes à l'Oxacilline.

### Recherche de la production de toxine

Les résultats sont représentés dans le Tableau 3. La leucocidine de Pantan et Valentine est produite par 19% des souches, tandis que 56% des souches produisent la leucotoxine LukE-LukD. Les entérotoxines A et B sont produites respectivement par 40% et 25% des souches. Quatre souches sur les 32 produisent ces deux entérotoxines à la fois. Aucune souche produisant les épidermolysines ETB et ETD, les entérotoxines C, D, SEL, SEK, SET, SEH ainsi que les facteurs EDIN B et EDIN C n'a été identifiée. Les entérotoxines A et B sont produites à la fois par 12,5% (4/32) des souches. Toutes les souches produisant

l'entérotoxine A produisent également la leucotoxine LukE/LukD (40%).

## DISCUSSION

Les données obtenues à partir de cette étude permettent de tirer plusieurs enseignements. Une grande majorité des souches de *S. aureus* isolées de diarrhées (62%) étaient résistantes à la méthicilline. Des résultats obtenus dans une étude précédemment effectuée au Nigeria [15] donnaient 5 SARM sur 72 souches de soit 7% seulement des souches isolées de diarrhées sporadiques chez des enfants âgés de moins de 5 ans. Cette différence peut s'expliquer par le fait que l'étude réalisée au Bénin porte sur une large gamme de patient dont la moyenne d'âge est de 30 ans et comprend des adultes et des personnes âgées.

Au Togo une étude effectuée au CHU de Tokoin à Lomé montrait un taux de résistance de 67% [5]. En France ce taux a baissé *aujourd'hui* à 35% [16]. La grande majorité des souches résistantes à la méthicilline étaient prélevées chez les malades sous antibiothérapie. Ces diarrhées étaient consécutives à la prise d'antibiotiques et la plupart du temps elles disparaissaient avec l'arrêt du traitement. Les diarrhées sont observées dans 30% des cas, au cours des traitements antibiotiques. La plupart du temps elles sont bénignes, mais dans certaines circonstances les perturbations de l'écologie de la flore intestinale induites par l'antibiothérapie permettent l'émergence d'agents infectieux pathogènes dont *S. aureus*.

Les SARM sont responsables de plus de 20% des infections nosocomiales dans un pays développé comme la France où la qualité des soins est bien meilleure que dans les pays africains. Des données n'existent pas encore pour ces derniers mais on imagine que ce chiffre peut être beaucoup plus élevé vu le faible niveau de couverture sociale et les prises en charge pas toujours efficaces des malades dans leurs hôpitaux. La résistance à la méthicilline des souches de *S. aureus* est aujourd'hui un problème mondial. Aujourd'hui plusieurs études montrent que le staphylocoque doré encore appelé *S. aureus* élargit son territoire.

Les infections extrahospitalières liées au *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) progressent aux Etats-Unis [17]. Jusqu'à récemment, les souches SARM résistantes à la pénicilline M et parfois à d'autres antibiotiques n'apparaissaient que rarement en dehors des hôpitaux ou des centres médicalisés. Mais une étude des Centers for Disease

Control and Prevention (CDC) révèle que les infections dites communautaires, survenues chez des personnes n'ayant pas été en contact avec le milieu hospitalier depuis au moins un an, sont plus fréquentes [17].

En analysant les données épidémiologiques des villes de Baltimore et d'Atlanta et de l'Etat du Minnesota, Fridkin *et al.* [17] ont constaté que, sur l'ensemble des cas d'infections par SARM déclarées entre 2001 et 2002, 17%

avaient une origine communautaire. Six pour cent correspondaient à des infections invasives (méningites, pneumonies, etc.) et 77% à des infections cutanéomuqueuses.

Les traitements s'orientent aujourd'hui vers la vancomycine. Comme on peut le constater dans le Tableau 2, aucune des souches isolées de diarrhées au Bénin n'est résistante à cet antibiotique.

**Tableau 2 :** Résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus*

Antibiotiques	Pourcentage de Résistance
Oxacilline	20/32 (62)
Pénicilline G	32/32 (100)
Vancomycine	0/32 (0)
Téicoplanine	0/32 (22)
Kanamycine	8/32 (25)
Gentamycine	2/32 (6)
Tobramycine	8/32 (25)
Chloramphénicol	7/32 (0)
Rifampicine	2/32 (6)
Acide Fusidique	2/32 (6)
Triméthoprim Sulfaméthozoline	6/32 (19)
Ofloxacin	0/32 (0)
Pristinamycine	2/32 (0)
Linezolid	0/32 (6)
Erythromicine	17/32 (53)

Le Tableau 3 montre que 65% des souches produisent au moins l'une ou l'autre des entérotoxines A et B. L'entérotoxine A est produite par 40% des souches alors que l'entérotoxine B est produite par 25% des souches. Des études ont montré que l'entérotoxine A est la plus fréquemment impliquée (65%) dans les Toxi-infections Alimentaires Collectives (TIAC) en France [18]. Le biotype B serait la deuxième cause avec 20% [18]. Ces deux types sont impliqués dans 80% des TIAC dans ce pays.

Les chiffres observés au CHU-HKM de Cotonou (Bénin) pour les souches de *S. aureus* isolées de selles de diarrhées se rapprochent de ceux obtenus pour la France. Les entérotoxines sont des toxines excrétées qui activent les récepteurs de la paroi intestinale dont le stimulus, parviennent jusqu'au centre de vomissement via le nerf vague. La bactérie *S. aureus* peut produire d'autres entérotoxines non identifiables par les méthodes sérologiques. Dans cette étude, les entérotoxines G (9%) et E (6%) ont pu être identifiées par la PCR.

**Tableau 3 :** Recherche de la présence de toxine ou de gène codant les toxines

<b>Toxines</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
SE(A)	13/32 (40)
SE(B)	8/32 (25)
SE(C)	0/32 (0)
SE(D)	0/32 (0)
SE(AB)	4/32 (12,5)
LPV	6/32 (19)
LukE/LukD	18/32 (56)
ETD	0/32 (0)
SEL	0/32 (0)
SEG	3/32 (9)
SEK	0
SEE	2/32 (6)
SET	0/32 (0)
SEH	0/32 (0)
EDIN B	0/32 (0)
EDIN C	0/32 (0)
EDIN A	3/32 (9)

#### **SE=Staphylococcal enterotoxin**

La leucocidine de Panton et Valentine est produite par 6 souches sur 32 (19%) tandis que la leucotoxine LukE-LukD est produite à un fort pourcentage à savoir 53%. L'épidermolyse A (ETA) est produite par 19% des souches (Tableau 3). La remarque la plus importante est que toutes les souches qui produisent l'entérotoxine A (SEA) produisent également la leucotoxine LukE-LukD. Ces chiffres confirment les résultats déjà observés pour des souches de *S. aureus* isolées de Diarrhées Post-antibiotiques (DPA) en France [19]. Cette étude rapportait que les souches de *S. aureus* isolées de DPA sont le plus souvent productrices de LukE-LukD et SEA. De 1998 à 2001, le rôle pathogène de *S. aureus* dans les DPA a été évoqué pour des patients hospitalisés au CHU de Lille, au CHU d'Amiens et l'hôpital Vitry Le François en France (A.Gravet, Thèse 2001, Université Louis Pasteur, Strasbourg). Les souches de *S. aureus* isolées en culture pure ou prédominantes dans les coprocultures ont été étudiées à l'Institut de Bactériologie de la Faculté de Médecine de l'université Louis Pasteur de Strasbourg (France) et elles produisaient toutes l'entérotoxine A et la Leucotoxine LukE-LukD [19]. La virulence de la bactérie *S. aureus* passe par une étape de colonisation assurée par la fixation sur les organes cibles. Elle sécrète des toxines qui se fixent spécifiquement sur les cellules de la muqueuse et stimule l'hypersécrétion d'eau et d'électrolytes.

#### **CONCLUSION**

Le traitement antibiotique n'est pas toujours nécessaire. Il doit être, si possible, guidé par la mise en évidence de l'agent pathogène. Il est indiqué dans certaines conditions notamment dans un tableau clinique grave, un syndrome dysentérique. Son but est d'abroger l'évolution des symptômes, de limiter le risque de dissémination et d'éviter les complications en cas de bactériémie. La contamination bactérienne des aliments peut donner des symptômes gastro-intestinaux ou des symptômes de maladies généralisées. Ces maladies sont dues à une toxine préformée et sécrétée lorsque l'aliment est ingéré.

La culture des selles ne permettra donc généralement pas les diagnostics. Il est donc important de mettre au point des techniques permettant de rechercher les toxines produites par les bactéries diarrhéogènes. *Staphylococcus aureus* est souvent impliqué dans les intoxications avec symptômes gastro-intestinaux. Notre étude apporte des connaissances nouvelles sur les profils toxinogéniques des souches de *S. aureus* isolées de selles de diarrhées. La méthode de PCR a permis la recherche de toxines non identifiables par les méthodes sérologiques. La présence d'une bactérie dans les selles ne suffit pas pour dire qu'elle est responsable de la diarrhée. Il faut prouver qu'elle possède l'équipement toxinogénique. Ainsi les méthodes de numération bactérienne doivent être couplées à la recherche des toxines.

La présence de cette bactérie dans les selles de diarrhées au Bénin et la production de facteurs de virulence par ces souches devraient conduire à une prise de conscience collective dans nos pays africains afin que les diagnostics soient mieux posés. La plupart du temps, faute de moyen financier, on se limite à une identification morphologique des germes ce qui ne permet pas toujours la meilleure prise en charge thérapeutique possible.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions tous les techniciens et le personnel du laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire Hubert Koutoucou Maga de Cotonou.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Surgalla M. J., Dack G. M., Enterotoxin produced by *Micrococci* from cases of enteritis after antibiotic therapy. JAMA 1955. 158, 649-650.
- 2-Emori TG., Gaynes RP.. An overview of nosocomial infections, including the role of microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Rev 1993. 6, 428-442
- 3-McDonald M., Ward P., Harvey K., Antibiotic-associated diarrhoea and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Med. J. Aust. 1982., 1, 462-464.
- 4- Scopetti F., Orefici G., Biondi F., Benini F., *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin and gentamicin as a cause of outbreak of epidemic enteritis in a hospital. Boll. Ist. Sieroter Milan. 1983. 62, 406-411.
- 5-Dagnra A. Y., Hounkpati A., Prince-David M., Fort pourcentage de souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline au CHU de Lomé (Togo). Med Mal Infect, 2001. 31, 14-15
- 6-Baba-Moussa L., Sanni A., Dagnra A. Y., Anagonou S., Prince-David P., Edoh V., et al, Approche épidémiologique de l'antibiorésistance et de la production de leucotoxines par les souches de *Staphylococcus aureus* isolées en Afrique de l'Ouest. Méd Mal Infect 1999. 29, 689-696.
- 7-Balaban N., Rasooly A., Analytical chromatography for recovery of small amounts of staphylococcal enterotoxins from food. Int. J. Food Microbiol. 2001. 64, 33-40.
- 8-Tamarapu S., Mckillip J. L., Drake M., Development of a multiplex Polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products. J. Food Prot 2001. 64, 664-668.
- 9-Voss A., Doebbeling B. N., The worldwide prevalence of methicillin- resistant *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents 1995. 5, 101-106.
- 10-Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C. Precis de Bactériologie Clinique. Eds ESKA ed Paris, 2000.
- 11-Kloos W. E., Bannermann T. L., *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In Murray, P. R., Baron, E.J., Tenover, F.C. and Tenover, R.H. (eds), Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, Washington, D.C. 1999, 264-282.
- 12-Gravet A., Colin D., Keller D., Girardot R., Monteil H., Prevost G., Characterization of a novel structural member, Luke-LukD, of the bi-component staphylococcal leucotoxins family. FEBS Lett. 1998. 436, 202-208.
- 13-Brett M., Kits for the detection of some bacterial food poisoning toxins: problems, pitfalls and benefits. Journal of Applied Microbiology. 1998. 84, S110-S118.
- 14-Prevost G., Pottecher B., Dahlet M., Bientz M., Mantz J. M., Piemont Y., Pulsed field electrophoresis as a new epidemiological tool for monitoring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care unit. J. Hosp. Infect. 1991. 17, 255-269.
- 15-Efuntoye M. O., Adetosoye A. I., Enterotoxigenicity and drug sensitivity of Staphylococci from children aged five years and below with sporadic diarrhoea. East African Medical Journal. 2003. 12, 656-659.
- 16-Mahoudeau I., Elkhaili H., Delabranche X., Freitas I., Meunier O., Prevost G., et al. Epidémiologie de *S.aureus* dans les Hôpitaux Universitaire de Strasbourg. J. Med. Strasbourg. 1997. 28, 153-159.
- 17- Fridkin S. K., Hageman J. C., Morrison M., Sanza L. T., Como-Sabetti K., Jernigan J. A., Harriman K., Harrison L. H., Lynfield R., Farley M.M., Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Disease in Three Communities. N Engl J Med. 2005. 352, 1436-1444.
- 18- H. Dupin, Alimentation et Nutrition Humaine, eds 1983
- 19- Gravet A., Rondeau M., Harf- Monteil C., Grunenberger F., Monteil H., Scheffel J. M., Prevost G., Predominant *Staphylococcus aureus* isolated from antibiotic-associated diarrhea is clinically relevant and produces enterotoxin A and the bicomponent toxin Luke-LukD. J Clin Microbiol. 1999. 37, 4012-4019