

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
***Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou***



**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**  
**Département de Biochimie et Microbiologie**

Mémoire de Fin de d'étude  
En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Isolement nasal de *Staphylococcus aureus* chez le  
poulet de chair et résistance des isolats aux  
antibiotiques.

Présenté par :

- M<sup>lle</sup> BEN MESSAOUD Lydia
- M<sup>lle</sup> OUCHACHE Cylia

Soutenu le 13 /07/2021 devant le jury :

- Présidente : M<sup>lle</sup> OUSSAID. S., MCB à l'UMMTO
- Promoteur : Mr TITOUCHE.Y., MCA à l'UMMTO
- Examinatrice : M<sup>lle</sup> DERMECHE.S., MCB à l'UMMTO

Promotion : 2020-2021

## **Remerciements**

*On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Monsieur TITOUCHE YACINE qui a su mettre à disposition ses connaissances pour nous permettre d'avancer dans le présent travail, pour sa généreuse disponibilité et pour son suivi permanent, pour ses remarques et ses conseils précieux, son aide dans le cheminement de cette étude.*

*Nos remerciements à l'ensemble des membres de jury, qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir étudier et évaluer notre travail.*

*Finalement nous tenons à remercier nos familles et toute personne qui a, de près ou de loin, contribué d'une manière ou d'une autre au succès de ce travail.*

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents Farid et Nassima, source de vie d'amour et d'affection, pour leurs sacrifices, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*Ma chère sœur Nawal et son époux Fahim ainsi que mon cher frère Bilel pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*Mon cher fiancé Yacine pour sa présence, son assistance moral et ses conseils.*

*Ma chère amie Lydia avant d'être binôme.*

*Ma famille et mes amis et toutes les personnes que j'aime.*

*Tous ceux qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.*

*Cylia*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A la mémoire de mon très cher grand-père parti trop tôt, tu as été pour moi le symbole du dévouement et du courage car même sur le lit d'hôpital tu as été d'un courage sans égal, j'aurai tant aimé que tu sois présent pour ce jour j'espère que tu es fier de moi Que Dieu, tout puissant, t'ait dans sa sainte miséricorde.*

*A mes très chers parents que j'aime énormément vous avez été pour moi le support qui me poussaient à aller de l'avant dans les moments difficile, vous n'avez jamais cessé de m'encourager et de prié pour moi tous les mots de la terre ne seraient suffisants pour exprimer la reconnaissance que je porte envers vous, que dieu vous accorde une bonne santé et une longue vie heureuse.*

*A mon cher frère Anis avec qui j'ai partagé les bons moments de mon enfance tu es mon model, ma source d'inspiration Puissent nos liens fraternels se consolident et se pérennisent encore plus.*

*A ma très chère amie et collègue Cylia avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler. Cette année fut riche en émotions, je tiens à te remercier pour ce lien tout particulier qui s'est créé entre nous*

*A mon oncle Nafa et sa famille*

*A mon oncle et tante Younes et Farida, pour leur présences et leur soutiens*

*A ma grand-mère Horia*

*A tous mes amis et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.*

*Lydia*

## Résumé

*Staphylococcus aureus* est un pathogène opportuniste qui peut causer diverses maladies chez l'humain et l'animal, allant des infections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles. L'objectif principal de notre étude est d'estimer la prévalence de *S.aureus* en portage nasal chez le poulet de chair et d'étudier la résistance des isolats aux antibiotiques, dans le but de prévoir la présence des souches SARM.

Afin de réaliser cette étude, 170 prélèvements nasaux chez le poulet de chair ont été effectués au niveau de deux abattoirs de la wilaya de Tizi Ouzou.

Au total, 27 souches de *S.aureus* ont été isolées à partir de 12 échantillons positifs, avec une prévalence de 7.06%. Des taux élevés de résistance ont été enregistrés vis-à-vis de la pénicilline (85.18%), de l'érythromycine (40.74%). Par ailleurs, de faibles résistances ont été enregistrées vis-à-vis les autres antibiotiques, à savoir : le triméthoprime/sulfaméthoxazole (22.22%), la néomycine (11.11%), l'ofloxacine (11.11%) et la tétracycline (3.70%). Aucune résistance n'a été enregistrée vis-à-vis le chloramphénicol, la gentamycine et la céfoxitine.

Le caractère pathogène de *S.aureus*, sa virulence et son potentiel de diffusion au sein de la chaîne de production révèlent le risque sanitaire associé à la présence de ce germe chez le poulet de chair. Ainsi, l'application des mesures de biosécurité et les bonnes pratiques d'hygiène pourraient limiter et prévenir la diffusion des *S.aureus* au niveau de la chaîne de production.

**Mots clés :** Portage nasal, *S. aureus*, Poulet de chair, SARM, résistance aux antibiotiques.

# SOMMAIRE

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Introduction.....1

### Synthèse bibliographique

#### Généralités sur le *S.aureus*

I.1.Historique.....	4
I.2. Taxonomie et classification.....	4
I.3. Habitat et épidémiologie.....	5
I.4. Critères d'identification de <i>S.aureus</i> .....	7
I.4.1. Caractères morphologiques.....	7
I.4.2. Caractères cultureux.....	7
I.4.3.Caracteres biochimiques.....	8

#### Facteurs de virulence de *S.aureus*

II.1. Protéines de surface.....	11
II.1.1. Facteurs d'adhésion.....	11
II.1.1.1. MSCRAMM.....	11
II.1.1.2. SERAM.....	11
II.1.2. Protéine A.....	11
II.2. Composants de la paroi.....	12
II.2.1. Peptidoglycane.....	12
II.2.2. Acide teichoïque.....	12
II.2.3. Capsule.....	12
II.3. Substances élaborées par <i>S.aureus</i> .....	13
II.3.1. Enzymes staphylococciques.....	13
II.3.1.1.Coagulase libre.....	13
II.3.1.2. Catalase.....	13
II.3.1.3. Hyaluronidase.....	13
II.3.1.4. Lipases.....	14
II.3.1.5. Bêta-lactamase.....	14

II.3.1.6. Nucléases.....	14
II.3.1.7. Protéases.....	14
II.3.1.8. Staphylokinases (fibrinolysines).....	14
II.3.1.9. Lysozyme.....	14
II.3.2. Toxines.....	15
II.3.2.1. Toxines à tropisme membranaire.....	15
II.3.2.2. Leucocidine de Panton Valentine (LPV).....	16
II.3.2.3. Groupe des toxines à deux composants.....	16
II.3.2.4. Exfoliatines.....	17
II.3.2.5. Entérotoxines.....	18
II.3.2.6. Toxine du syndrome du choc toxique.....	18

### **Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques**

III.1. Introduction.....	20
III.2. Les antibiotiques.....	20
III.2.1. Définition.....	20
III.2.2. Classification des antibiotiques.....	20
III.3. Mécanismes de résistance.....	23
III.3.1. Définition de la résistance bactérienne.....	23
III.3.2. Support génétique de la résistance bactérienne.....	24
III.3.3. Principaux modes de résistances des bactéries.....	25
III.3.3.1. Inactivation enzymatique.....	26
III.3.3.2. Défaut d'affinité.....	26
III.3.3.3. Phénomène d'imperméabilité.....	27
III.3.3.4. Résistance par efflux.....	27
III.3.4. Mécanismes de résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....	28
III.3.4.1. Résistance aux bêta-lactamines.....	28
III.3.4.2. Résistance aux glycopeptides.....	29
III.3.4.3. Résistance aux macrolides, lincosamides et synergystines (MLS).....	31
III.3.4.4. Résistance aux fluoroquinolones.....	31
III.3.4.5. Résistance aux rifamycines.....	32
III.3.4.6. Résistance aux tétracyclines.....	32

III.3.4.7. Résistance aux aminosides .....	32
III.3.4.8. Resistance aux phénicolés.....	33
III.3.4.9. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline.....	33
III.4. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance.....	34

## **Partie expérimentale**

### **Matériels et méthodes**

I.1. Objectif de l'étude.....	37
I.2. Matériels.....	37
I.3. Milieux de culture et réactifs.....	37
I.4. Méthodes.....	38
I.4.1. Durée et lieu de l'étude.....	38
I.4.2. Collecte des échantillons.....	38
I.4.3. Analyse des échantillons au laboratoire.....	39

### **Résultats et discussion**

II.1. Résultats.....	44
II.1.1. Prévalence de <i>S. aureus</i> .....	44
II.1.2. Antibiorésistance des souches isolées.....	46
II.2. Discussion.....	50

<b>Conclusion</b> .....	53
-------------------------	----

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

### Liste des abréviations

<b>APC</b>	Antigen-Presenting Cell
<b>BHIB</b>	Brain Heart Infusion Broth
<b>BP</b>	Baird-Parker
<b>CA-MRSA</b>	Community-Acquired Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>CASFM</b>	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
<b>CLSI</b>	Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>CMB</b>	Concentration minimale bactéricide
<b>CMH</b>	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>Cna</b>	Collagen binding protein
<b>CPS</b>	Staphylocoques à coagulase positive
<b>D.O</b>	Densité Optique
<b>Eap</b>	Extracellular adherence protein
<b>Efb</b>	Extracellular fibrinogen binding protein
<b>Emp</b>	Extracellular matrix binding protein
<b>FnBPA</b>	Fibronectin binding protein A
<b>FnBPB</b>	Fibronectin binding protein B
<b>HA-MRSA</b>	Hospital-Acquired Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>Hla</b>	L'α-hémolysine
<b>LA-MRSA</b>	Livestock-Acquired Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>LPV</b>	Leucocidine Panton Valentine
<b>MH</b>	Mueller-Hinton
<b>MLS</b>	Macrolide Lincosamide Synergystine

### Suite de la liste des abréviations

<b>MR</b>	Methyl Red
<b>MSCRAMM</b>	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PBP</b>	Penicillin Binding Protein
<b>PLP</b>	Proteins Liants la Pénicilline
<b>QRDR</b>	Quinolone Resistance-Determining region
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méricilline
<b>SASM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> Sensible à la Méricilline
<b>SCCmec</b>	Staphylococcal cassette chromosome mec
<b>SE</b>	Staphylococcal Enterotoxin
<b>SERAM</b>	Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules
<b>SNC</b>	Staphylocoques à coagulase négative
<b>TCR</b>	T cell receptor
<b>TNF</b>	Tumor Necrosis Factors
<b>TSST</b>	Toxic Shock Syndrome Toxin
<b>VISA</b>	Vancomycin intermediate <i>S. aureus</i>
<b>VRSA</b>	Vancomycin-resistant <i>S. aureus</i>
<b>VP</b>	Voges Proskauer

## Liste des figures

<b>Figure 1</b>	Observation de <i>S. aureus</i> après coloration de Gram sous microscope optique au G x1500.	<b>7</b>
<b>Figure 2</b>	Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> .	<b>10</b>
<b>Figure 3</b>	Mécanisme d'assemblage des deux protéines LukF-PV et lukS-PV pour former un pore octaédrique.	<b>16</b>
<b>Figure 4</b>	Représentation schématique de la distribution de la desmogleine dans une peau saine(A) et une peau exposée à la toxine exfoliative (B).	<b>17</b>
<b>Figure 5</b>	Mécanisme d'action des superantigènes de <i>S. aureus</i> .	<b>19</b>
<b>Figure 6</b>	Modes d'action des antibiotiques sur les bactéries.	<b>22</b>
<b>Figure 7</b>	Représentation schématique des quatre grands types de mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques.	<b>25</b>
<b>Figure 8</b>	Structure des systèmes d'efflux actifs.	<b>28</b>
<b>Figure 9</b>	Schéma représentatif de la résistance de <i>S. aureus</i> aux bêta-lactamines.	<b>29</b>
<b>Figure 10</b>	Comparaison d'une cellule de <i>S.aureus</i> sensible (1) et une autre résistante à la vancomycine (2). (Image prise par microscope électronique à transmission grossissement : x30000).	<b>30</b>
<b>Figure 11</b>	Ecouvillonnage de la cavité nasale du poulet de chair (Photo personnelle prise au laboratoire).	<b>40</b>
<b>Figure 12</b>	Aspect macroscopique des colonies caractéristiques de <i>S.aureus</i> sur gélose Baird-Parker (Photo personnelle prise au laboratoire).	<b>44</b>
<b>Figure 13</b>	Aspect des colonies pures de <i>S.aureus</i> sur gélose BHI. (Photo personnelle prise au laboratoire).	<b>44</b>
<b>Figure 14</b>	Test de la catalase (Photo personnelle prise au laboratoire).	<b>45</b>
<b>Figure 15</b>	Test d'ADNase (photo personnelle prise au laboratoire).	<b>45</b>
<b>Figure 16</b>	Résultats de la recherche de la coagulase (Photo personnelle prise au laboratoire).	<b>45</b>
<b>Figure 17</b>	Profil de multi-résistance de la souche S 515 (photo prise au laboratoire).	<b>49</b>
<b>Figure 18</b>	profil de multi-résistance de la souche S 558 (photo prise au laboratoire).	<b>49</b>

### Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b>	Principaux caractères permettant de différencier les espèces et sous espèces du genre <i>Staphylococcus</i> .	<b>9</b>
<b>Tableau 2</b>	Facteurs induisant la résistance aux antibiotiques.	<b>35</b>
<b>Tableau 3</b>	Nature et nombre de prélèvements.	<b>39</b>
<b>Tableau 4</b>	Liste des molécules d'antibiotiques testés.	<b>43</b>
<b>Tableau 5</b>	Prévalence de <i>S. aureus</i> et nombre de souches isolées selon la région.	<b>46</b>
<b>Tableau 6</b>	Résistance des souches de <i>S. aureus</i> aux molécules d'antibiotiques testées.	<b>47</b>
<b>Tableau 7</b>	Profil d'antibiorésistance des souches de <i>S. aureus</i> isolées.	<b>48</b>
<b>Tableau 8</b>	phénotypes de multi-résistances.	<b>48</b>

## Introduction

*Staphylococcus aureus* est à la fois un commensal et un agent pathogène chez l'homme et chez de nombreuses espèces animales, il est généralement présent sur la peau et les muqueuses (Muyiwa et al, 2015). Il est ubiquitaire et résiste pendant longtemps dans le milieu environnemental. Le staphylocoque peut causer diverses maladies allant de maladies mineures qui sont des infections cutanées à des infections graves et potentiellement mortelles comme l'endocardite, la pneumonie et la septicémie chez l'homme. Chez l'animal, *S. aureus* est un germe habituel responsable de la maladie du pied bourdon chez la volaille et des mammites chez le bovin laitier (Gavin et al, 2014). Certaines souches sont également responsables de l'intoxication alimentaire humaine lorsqu'ils produisent des entérotoxines dans les denrées alimentaires (Morandi et al, 2010).

Les pathologies causées par le *S. aureus* sont responsables de pertes économiques qui obligent les éleveurs et les vétérinaires d'instaurer des mesures prophylactiques et thérapeutiques pour limiter ces pertes. Cependant, le recours aux mesures médicales n'est pas sans inconvénients car l'utilisation abusive d'antibiotiques pourrait générer des souches multi-résistantes.

Au cours des dernières années, ce germe s'est imposé comme une bactérie multi-résistante aux antibiotiques, en particulier à la pénicilline et à la vancomycine qui peuvent causer des infections nosocomiales ou communautaires. *S.aureus* résistant à la pénicilline (SARM) est l'une principale cause d'infections nosocomiales (HA-MRSA: hospital-acquired-MRSA) et communautaires (CA-MRSA : community-acquired-MRSA) (Muyiwa et al, 2015). Dernièrement, d'autres souches de SARM, associées aux élevages (LA-MRSA : livestock-acquired-MRSA) ont émergé dans différents pays du monde, elles circulent principalement chez les porcs, les bovins et les chevaux et elles sont capables de coloniser et de provoquer des infections graves chez l'homme en contact étroit avec ces animaux (Caruso et al, 2015).

Le succès de *S. aureus* en tant qu'agent pathogène est en partie attribuable à la gamme diversifiée de facteurs de virulence produits (Gordon et Lowy, 2008 ), impliqués dans les différentes étapes nécessaires à l'infection staphylococcique et lutter contre les mécanismes de défense immunitaire de l'hôte (Myles et Datta, 2012). Ils facilitent aussi l'acquisition de nutriments et la dissémination des bactéries dans le tissu de l'hôte (Ferry et al, 2005 ; Haveri et al, 2008 ). Parmi ces facteurs de virulence, on trouve de nombreuses enzymes et

cytotoxines, telles que la coagulase, les toxines, les hémolysines, la hyaluronidase, les lipases, les nucléases et la staphylokinase (Smeltzer et *al*, 2009 ).

La présente étude a pour objectif d'estimer le portage nasal chez le poulet de chair, d'évaluer la sensibilité des souches isolées vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques, dans le but de prévoir la présence des SARM.

# Synthèse bibliographique

## Chapitre I : Généralités sur le *Staphylococcus aureus*

### I.1. Historique

En 1878, Koch a noté pour la première fois que différentes maladies ont été causées par des cocci à Gram positif selon qu'ils formaient des paires, des chaînes ou groupes (Subhankari et al, 2012).

Les staphylocoques du grec "staphyle" ont été initialement identifiés comme des bactéries en forme de grappe de raisin après coloration de Gram, isolées du pus des abcès humains en 1880 par Alexander Ogston, chirurgien Ecossais en présentant ces travaux établissant le rôle causal des bactéries dans l'infection des plaies et la septicémie subséquente. Ogston avait observé du pus de 88 abcès humains sous son microscope et noté des «microcoques» sphériques à Gram positif en s'appuyant sur les enseignements de Louis Pasteur et Joseph Lister (Myles et Datta, 2012).

En 1884, le médecin allemand Friedrich Julius Rosenbach a pu cultiver les organismes en culture pure et différencia les espèces de staphylocoques en se basant sur la couleur du pigment. Le *Staphylococcus aureus*, causant la maladie, a produit un pigment jaune, alors que la souche qui ne cause pas de maladie était généralement blanche, *Staphylococcus epidermidis* (Subhankari et al, 2012).

La pénicilline, un antibiotique découvert en 1928 par Alexander Fleming dans une moisissure environnementale a été utilisé pour la première fois en 1941 pour traiter un patient atteint d'une septicémie à staphylocoque (Mohammad, 2017).

*S.aureus* est un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique et des mécanismes de régulation. Ainsi, dès 1941 sont apparus les staphylocoques résistants à la pénicilline (Tomasz, 2002).

En 1959, l'introduction de la méticilline pour le traitement des infections staphylococciques a soulevé un grand espoir, mais un an plus tard, les premières souches hospitalières de *S.aureus* résistantes à la méticilline sont apparues (Tomasz, 2002).

### I.2. Taxonomie et classification

Le genre *Staphylococcus* appartenait à la famille des *Micrococaceae* qui comprenait trois autres genres : *Micrococcus*, *Planococcus* et *Stromatococcus*. Ces derniers partageaient un certain nombre de caractères généraux (coque à Gram positif, non sporulés...), mais des

études ont démontré que la composition chimique de la paroi et le pourcentage en guanine et cytosine (G + C %) du génome entre ces quatre genres sont très éloignés, donc leur regroupement dans une même famille n'est plus justifié. Cependant, la composition des séquences d'ARNr 16S a confirmé la nécessité d'un profond remaniement de cette famille (Federighi, 2005).

À ce jour, plus de 50 espèces et sous-espèces de staphylocoques ont été décrites en fonction de leur potentiel à produire de la coagulase. Leur classification distingue ainsi les souches productrices de coagulase, désignées comme staphylocoques à coagulase positive (CPS) (Hennekine et al, 2012), dont le chef de file est *Staphylococcus aureus*, mais qui comprend aussi d'autres espèces comme *S.hyicus* ou *S.intermedius* et les souches non productrices de coagulase, appelées staphylocoques à coagulase négative (SNC), qui regroupent une vingtaine d'espèces (Hama, 2006).

Selon la deuxième édition de Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, la classification phylogénétique du genre *Staphylococcus* est la suivante :

Règne:..... Bacteria  
Phylum:..... Firmicutes  
Classe:..... Bacili  
Ordre:..... Bacillales  
Famille:..... *Staphylococaccae*  
Genre :..... *Staphylococcus*  
Espèce :..... *Staphylococcus aureus*

### **I.3. Habitat et épidémiologie**

*Staphylococcus aureus* est un germe opportuniste commensal, ubiquitaire, très résistant dans le milieu extérieur, son habitat naturel est l'épithélium squameux humides des narines antérieurs. Environ 20% de la population humaine sont porteurs de *S. aureus* en permanence dans leur nez et 60% des individus sont des porteurs intermittents. La capacité de *S.aureus* à coloniser l'épithélium nasal est en partie due à l'expression de certains facteurs d'agglutination des protéines de surface ainsi que certains déterminants de surface qui favorisent l'adhésion aux cellules épithéliales desquamées présentes dans la partie antérieure

du vestibule nasal. Toutefois, d'autres composants de la surface cellulaire pourraient également y contribuer (Corigan et al, 2009).

*S.aureus* peut également coloniser d'autres sites tels que le tractus gastro-intestinal, le pharynx, les aisselles ; elle est aussi retrouvée dans l'environnement (air, eau, sol), ainsi que les produits alimentaires (Kluytman et al, 1997).

### **I.3.1. Chez les êtres vivants**

A la différence des autres espèces de Staphylocoques qui ont un hôte préférentiel, *S. aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères. Chez l'homme, il est principalement présent au niveau du tractus respiratoire supérieur, en particulier dans les fosses nasales (Kloos et al, 1976), mais aussi au niveau du cuir chevelu et les mains (Harvey et Gilmour, 2000 ; Watson et al, 2006), la bouche, les dents et le périnée (Smith et al, 2001).

### **I.3.2. Dans l'environnement**

Le *S.aureus* possède des capacités d'adaptation au stress qui lui confèrent la survie dans un large éventail d'habitats environnementaux. Dans le milieu hospitalier, il est considéré l'un des principaux germes responsables d'infections nosocomiales persistantes notamment au niveau des prothèses, les infections osseuses ou cardiaques. Il serait aussi capable de survivre dans l'eau pendant plusieurs mois ainsi que les sols, l'air et les surfaces (Dworkin et al, 2006).

### **I.3.3. Dans les produits alimentaires**

La présence de *S. aureus* dans les aliments constitue un risque pour la santé humaine parce que certaines souches sont capables de produire des entérotoxines, qui sont de petites protéines thermostables dont l'ingestion provoque une intoxication. Les symptômes que peut provoquer cette dernière sont généralement des nausées, douleurs abdominales, vomissements violents souvent accompagnés de diarrhée. L'aliment ne devient toxique que s'il est contaminé par des souches productrices d'entérotoxines et si des conditions favorables à une multiplication bactérienne importante se trouvent réunies (Soares et al, 1997).

### **I.3.4. Transmission de *S.aureus***

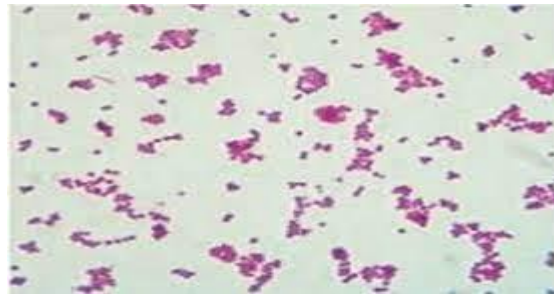
En raison de la localisation de *S.aureus*, c'est principalement le mode de transmission manuportée qui est à l'origine des infections. Sa transmission peut être due soit à un portage direct par l'individu lui-même, soit par une contamination transitoire par un autre réservoir (Verdier et al, 2000). Bien que *S.aureus* soit capable de survivre plusieurs mois dans

l'environnement en état de dormance, la contamination par une source environnementale reste relativement rare, sauf en milieu hospitalier où elle est fréquente. En effet, la contamination peut se faire par plusieurs entrées; soit entre individus ou bien par le matériel chirurgical (Soares et *al*, 1997).

#### **I.4.Critères d'identification de *S.aureus***

##### **I.4.1.Caractères morphologiques**

Après coloration de Gram, les *Staphylococcus aureus* apparaissent comme des cocci à Gram positif, avec un diamètre de 0,8 à 1µm, isolés ou groupé en diplocoques ou le plus souvent en amas en grappes de raisins. Ils sont immobiles et non sporulés. La grande majorité des souches de *S.aureus* sont capsulées, mais elles peuvent perdre leur capsule après culture (Le Loir et Gautier, 2010).



**Figure 1 :** Observation de *S. aureus* après coloration de Gram sous microscope optique au G x1500 (Prescott et *al*, 2002).

##### **I.4.2.Caractères cultureux**

*S. aureus* se cultive facilement sur un milieu ordinaire en aérobiose comme en anaérobiose (*S.aureus* subsp anaerobius est anaérobie stricte) ; sur gélose ordinaire, les colonies de *S.aureus* sont lisses, rondes, d'un diamètre de 1 à 3mm, arrondies, bombées, opaques, plus ou moins pigmentées en jaune ou orange d'où l'appellation de staphylocoque doré. En gélose profonde, la croissance est observée sur toute la hauteur du tube signant le caractère aéro-anaérobie facultatif. En bouillon, la culture de *S.aureus* forme un trouble uniforme abondant, parfois un dépôt et un voile en surface (Le Loir et Gautier, 2010).

Il est capable de croître dans une large gamme de températures allant de 7° C à 48,5 ° C, avec un optimum de 30 à 37 ° C, un pH de 4,2 à 9,3 avec un optimum de 7 à 7,5 et les concentrations de chlorure de sodium (jusqu'à 15% de NaCl). Ce caractère est mis à profit dans un milieu de culture sélectif hyper-salé de Chapman pour isoler le Staphylocoque d'un

prélèvement contenant une variété de germes. Ces caractéristiques permettent à *S. aureus* de se développer dans une grande variété d'aliments (Le Loir et al, 2003).

#### **I.4.3. Caractères biochimiques**

Toutes les souches de *S. aureus* ont un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, produisent une coagulase, une nucléase thermostable et une catalase, mais pas d'oxydase (Ananthanarayan et Paniker, 2006). *S. aureus* est indole (-), acétone (+), Uréase (+), VP (+), MR (+), réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisent de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Le Minor et Verron, 1990 ; Freney et al, 1999). La plupart des souches sont lipolytiques produisant une zone opaque lorsqu'elles sont cultivées dans des milieux contenant le jaune d'œuf (Ananthanarayan et Paniker, 2006). *S. aureus* est capable de dégrader de nombreux substrats glucidiques, protéiques et lipidiques grâce à son équipement enzymatique (Ferron, 1984). La plupart des sucres sont fermentés (glucose, saccharose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol (Couture, 1990 ; Guiraud et Rosec, 2004).

Globalement, l'espèce *S. aureus* peut être différenciée des autres staphylocoques par la présence simultanée d'une coagulase libre et d'une DNase thermostable (Couture, 1990; Fauchere et Avril, 2002).

Pour l'identification de l'espèce, il est nécessaire de passer par certains tests biochimiques résumés dans le Tableau 1 (Le Loir et Gautier, 2010).

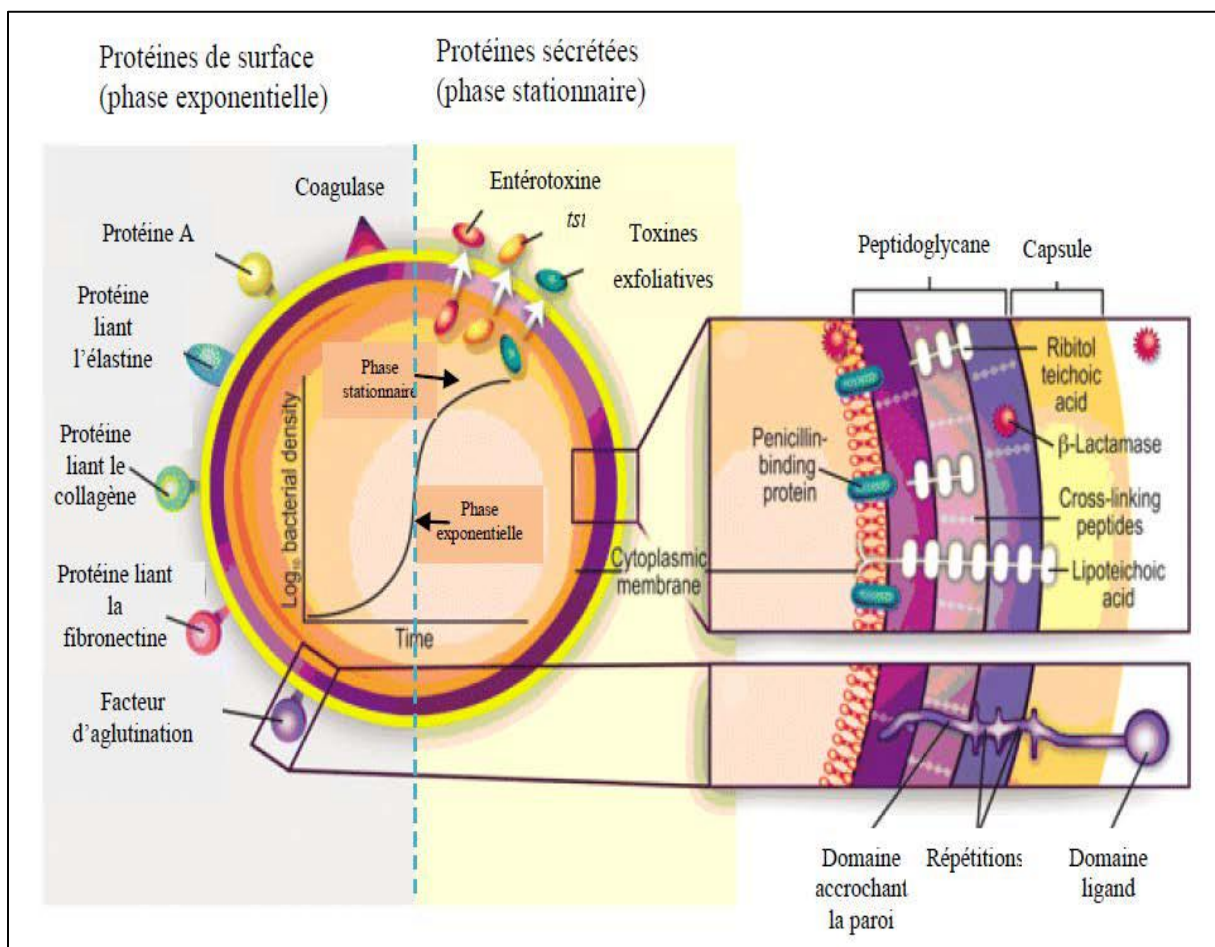
**Tableau 1** : Principaux caractères permettant de différencier les espèces et sous espèces du genre *Staphylococcus* (Le Loir et Gautier, 2010).

Caractère	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i> subsp <i>anaerobiose</i>	<i>S.delphini</i>	<i>S.hyicus</i>	<i>S.intermedius</i>	<i>S.lutrae</i>	<i>S.schleiferi</i>
<b>Pigmentation de la colonie</b>	+	-	-	-	-	-	-
<b>Croissance anaérobie</b>	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+
<b>Croissance aérobie</b>	+	()	+	+	+	+	+
<b>Staphylcoagulase</b>	+	+	+	d	+	+	-
<b>Thermo nucléase</b>	+	+	-	+	+	()	+
<b>Hémolyse</b>	+	+	+	-	d	+	(+)
<b>Catalase</b>	+	-	+	+	+	+	+
<b>Uréase</b>	d	ND	+	d	+	+	-
<b>Oxydase</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Arginine dihydrolase</b>	+	ND	+	+	d	-	+
<b>Production d'acétone</b>	+	-	-	-	-	-	+
<b>Réduction du nitrate</b>	+	-	+	+	+	+	+
<b>Clumping factor</b>	+	-	-	-	d	-	+
<b>D-Mannitol</b>	+	ND	(+)	-	(d)	d	-
<b>D-Mannose</b>	+	-	+	+	+	+	+
<b>D-xylose</b>	-	-	-	-	-	+	-
<b>Maltose</b>	+	+	+	-	()	+	-
<b>Saccharose</b>	+	+	+	+	+	ND	-

**Légende:** +, au moins 90% de souches positives; -, au moins 90% de souches négatives ;(), réaction positive retardée; d, 11-89% de souches positives ; ND, non déterminé.

## Chapitre II : Facteurs de virulence de *S.aureus*

*S.aureus* est solidement armé pour annihiler un bon nombre de défenses que son hôte pourrait lui opposer (anticorps, phagocytose ou cytotoxicité) (Fanny et al, 2008), sa pathogénie est liée à la synthèse de nombreux facteurs de virulence. La diversité de ces facteurs de virulence staphylococciques peut s'expliquer par la grande plasticité du génome de *S.aureus*. Treize génomes complets sont aujourd'hui disponibles et révèlent une grande variabilité dans la distribution des éléments génétiques mobiles tels que les transposons, les bactériophages et les îlots de pathogénicité. Ces éléments codent notamment pour des protéines de surface, des exotoxines et des enzymes extra-cellulaires. Ces facteurs sont impliqués dans les différentes étapes nécessaires à l'infection par le staphylocoque : l'adhésion, l'échappement aux défenses de l'hôte, la pénétration et la diffusion dans les tissus. En effet, deux caractéristiques remarquables des staphylocoques sont qu'un facteur de virulence peut avoir plusieurs fonctions dans la pathogénèse et d'autres peuvent remplir la même fonction (Gordon et Lowy, 2008).



**Figure 2 :** Facteurs de virulence de *S. aureus* (Gordon et al, 2008).

## **II.1. Protéines de surface**

### **II.1.1. Facteurs d'adhésion**

L'adhésion constitue la première étape d'une infection. *S.aureus* est capable de se fixer sur les protéines de la matrice extra-cellulaire de l'hôte selon deux mécanismes. Un premier, non spécifique est médié par des forces physico-chimiques incluant des liaisons hydrophobes (Carruthers et Kabat, 1983). Un second mécanisme, spécifique, met en jeu des adhésines parmi lesquelles on distingue les adhésines associées au peptidoglycane de la bactérie par des liaisons covalentes, regroupées sous le terme de MSCRAMM et les adhésines sécrétées, appelées SERAM (Chavakis et al, 2005).

#### **II.1.1.1. MSCRAMM**

Les MSCRAMM pour Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules sont associées au peptidoglycane par des liaisons covalentes et ont des caractéristiques communes (Foster et Hook, 1998). Les MSCRAMM les plus étudiées sont les protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB), la protéine de liaison au collagène (Cna) et les protéines de liaison au fibrinogène (ClfA et ClfB). La fibronectine et le fibrinogène sont des glycoprotéines présentes sous forme soluble dans le plasma et insoluble dans la matrice extracellulaire. Les FnBP et les Clf jouent un rôle dans l'adhésion des cellules bactériennes aux cellules de l'hôte mais également sur les biomatériaux (Menziez, 2003).

#### **II.1.1.2. SERAM**

Les SERAM pour Secretable Expanded Repertoire Adhesive Matrix Molecules regroupent les Eap (Extracellular adherence protein), Emp (Extracellular matrix binding protein), Efb (Extracellular fibrinogen binding protein) ainsi que la coagulase. Celles-ci se fixent par des liaisons non covalentes aux protéines de la matrice extracellulaire comme le fibrinogène, la fibronectine, la prothrombine, le collagène, l'élastine, la laminine...etc. Ces liaisons seraient de type hydrophobe dans le cas de l'interaction avec les acides lipoteichoïques ou de type électrostatique. En plus de leurs fonctions d'adhésines, ces molécules possèdent des propriétés immunomodulatrices. Elles sont impliquées dans la pathogénèse des maladies endo et extra-vasculaires aiguës ou chroniques (Chavakis et al, 2005).

### **II.1.2. Protéine A**

La protéine A est l'une des protéines de surface majeure chez *S.aureus* que l'on qualifie de facteur de virulence pléiotropique, de part ses rôles multiples dans l'interaction avec l'hôte

lors d'une infection. C'est une exoprotéine de 42KDa, qui existe à la fois sous forme sécrétée ou associée à la paroi. Elle est constituée de cinq domaines homologues extracellulaires désignés E, D, A, B et C. (Shopsin et *al*, 1999; Ruppitsch et *al*, 2006). L'interaction de la protéine A avec les immunoglobulines G (IgG) empêche l'opsonisation dont le rôle est de faciliter la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles (Foster, 2005).

## **II.2. Composants de la paroi**

### **II.2.1. Peptidoglycane**

La paroi cellulaire de *S. aureus* est composée de 50 à 60% en poids de peptidoglycane, celui-ci a une structure rigide et est fait de chaînes polysaccharidiques constituées de motifs répétitifs de *N*-acétylglucosamine et d'acide *N*-acétyl-muramique, qui sont liés à des résidus d'acides aminés (Mattsson et *al*, 2002). Le peptidoglycane sert de barrière protectrice, ainsi que d'échafaudage pour la fixation des protéines de surface et des matrices extracellulaires, nécessaires à la morphogénèse cellulaire, à la division cellulaire et à la pathogénèse (Sharif et *al*, 2009).

### **II.2.2. Acide teichoïque**

Les acides teichoïques (TA) sont des glycopolymères découverts chez les bactéries à Gram positif en 1958 et représentent environ la moitié du poids total sec de la paroi (Neuhaus et Baddiley, 2003). Ils possèdent des fonctions cruciales en contrôlant la rigidité et la porosité de la paroi et en jouant un rôle dans la morphogénèse et la division cellulaire. Ils contribuent aussi à l'homéostasie des cations, à l'interaction avec le système immunitaire, à la protection contre les peptides antimicrobiens et les antibiotiques, ce qui leur confère un rôle important dans la virulence (Julie, 2017).

Deux types de TA ont été identifiés : les acides lipotéichoïques (LTA, lipoteichoicacid) sont liés à la membrane plasmique via un Glc-diacylglycérol glycolipide, et les WTA (wall teichoic acid) sont covalamment attachés au peptidoglycane (Neuhaus et Baddiley, 2003).

### **II.2.3. Capsule**

Pour résister à la clairance phagocytaire, *S. aureus* a développé plusieurs moyens pour protéger sa surface de la reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte. Le premier mécanisme de protection est représenté par la formation d'une capsule, une structure polysaccharidique entourant la paroi cellulaire et qui masque efficacement la surface bactérienne et les protéines associées à la surface telles que les opsonines, contre la

reconnaissance par les cellules phagocytaires. Les deux principaux sérotypes produits par les souches cliniques de *S.aureus* sont le sérotype constitué du polysaccharide capsulaire 5 (CP5) et du polysaccharide capsulaire 8 (CP8), représentant environ 75% de tous les isolats cliniques, dont les souches CP8 sont les plus répandues (Annemarie et *al*, 2016).

### **II.3. Substances élaborées par *S.aureus***

*S. aureus* synthétise des protéines extracellulaires qui peuvent être subdivisées en deux types, celles qui ont une activité enzymatique, et celles qui ont une activité toxique, mais le caractère extracellulaire de ces substances n'est pas toujours respecté, certaines d'entre elles restent fixées à la membrane cytoplasmique (Le Minor et *al*, 1990).

#### **II.3.1. Enzymes staphylococciques**

##### **II.3.1.1. Coagulase libre**

La présence de cette enzyme définit l'espèce *Staphylococcus aureus* (EL Kouri et *al*, 1998). C'est une enzyme extracellulaire, thermostable, capable de coaguler en quelques heures le plasma humain ou de lapin. Cette protéine est d'origine chromosomique et codée par le gène *coa*, elle est produite pendant la phase exponentielle de croissance du germe, son poids moléculaire (PM) varie selon les souches de 31 à 58 KDa (Le Minor et Veron, 1990). Cette enzyme possède un domaine de liaison avec la prothrombine. La formation du complexe coagulase-prothrombine, appelé staphylothrombine, entraîne la polymérisation du fibrinogène en fibrine. Les thrombus formés contribuent probablement à empêcher la phagocytose (Tally, 1993 ; Pancholi, 2002).

##### **II.3.1.2. Catalase**

C'est une enzyme qui empêche la formation, par les globules blancs, de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie (EL Kouri et *al*, 1998) et permet la transformation du  $H_2O_2$  en  $H_2O$  et  $O_2$ . La catalase donne une protection pour ce germe à l'intérieur des cellules phagocytaires, lui permettant d'échapper au système immunitaire (Tally, 1993 ; Pancholi, 2002).

##### **II.3.1.3. Hyaluronidase**

C'est une enzyme thermolabile (80 KDa), agissant à pH acide, qui hydrolyse l'acide hyaluronique présent dans la matrice du tissu conjonctif, ce qui a pour effet de permettre la diffusion des staphylocoques dans les tissus (EL Kouri et *al*, 1998; Avril et *al*, 2003).

#### **II.3.1.4. Lipases**

*S.aureus* est capable de produire des lipases capables de métaboliser les graisses cutanées et jouent un rôle dans la dissémination de l'infection (Le Minor et Veron, 1990 ; EL Kouri et *al*, 1998).

#### **II.3.1.5. Bêta-lactamase**

C'est une enzyme située dans la membrane cytoplasmique et responsable de l'inactivation des  $\beta$ -lactamines et joue le rôle dans la résistance vis-à-vis de cette famille d'antibiotiques (Collomb, 2011).

#### **II.3.1.6. Nucléases**

Ce sont des enzymes capables d'hydrolyser l'ADN et l'ARN des cellules de l'hôte; leur action s'exerce à pH alcalin en présence de calcium (EL Kouri et *al*, 1998). La désoxyribonucléase thermostable c'est une endonucléase résistante aux températures élevées (100°C/15mn) et responsable de la destruction de l'ADN (Guiraud et Rosec, 2004).

#### **II.3.1.7. Protéases**

Il existe trois types connus de protéases chez *S.aureus*; serine-protéase, cystéine protéase et métalloprotéase (Boisset et Vandenesch, 2010). Les sérines protéases attaquent les chaînes lourdes des immunoglobulines G, ce qui peut affaiblir les défenses de l'hôte (Vincenot et *al*, 2008). Les cystéines-protéases possèdent une forte activité sur l'élastine (Pancholi, 2002) et les métalloprotéases détruisent les inhibiteurs de protéases (Vincennot et *al*, 2008).

#### **II.3.1.8. Staphylokinases (fibrinolysines)**

La staphylokinase est une enzyme impliquée dans l'activation du plasminogène en plasmine, conduisant à la dislocation du thrombus en de petits fragments contenant des bactéries. Elle est généralement produite par les souches d'origine humaine. Du point de vue génétique, elle peut être soit d'origine chromosomique, soit d'origine phagique (Le Minor et Veron, 1990). Cette enzyme possède la propriété de cliver les IgG et le fragment C3b du complément qui vont se fixer à la paroi bactérienne et empêcher par la suite la phagocytose (Foster, 2005).

### **II.3.1.9. Lysozyme**

*S. aureus* produit un lysozyme capable de lyser la paroi des cellules bactériennes (Le Minor et Veron, 1990).

### **II.3.2. Toxines**

#### **II.3.2.1. Toxines à tropisme membranaire**

*S.aureus* produit des toxines ayant pour cible les membranes cellulaires. Ces toxines provoquent soit la formation de canaux membranaires dans les cellules cibles laissant passer des ions, soit une déstabilisation de structure membranaires par action enzymatique. Elles sont en quatre classes les hémolysines alpha, bêta, delta et gamma (Le Loir et Gautier, 2010).

##### **❖ Hémolysine alpha ou la toxine alpha**

La toxine alpha ou hémolysine alpha, codée par le gène *hla* représente l'archétype de ces toxines. Elle est sécrétée sous forme de monomère qui se regroupe en un heptamère lytique dans la membrane plasmique des cellules cibles, telles que les érythrocytes, les plaquettes, les kératinocytes et fibroblastes humains. Les érythrocytes de lapin sont particulièrement sensibles à l'hémolysine alpha (Song et *al.* 1996).

##### **❖ Hémolysine bêta**

L'hémolysine bêta provoque une hémolyse partielle sur gélose au sang de mouton à 37°C. Cependant, ce halo d'hémolyse augmente considérablement à 4°C, d'où la dénomination d'hémolyse « chaud-froid ». C'est une phospholipase qui possède plus particulièrement une activité de sphingomyélinase, elle est donc plus ou moins active sur les hématies des différentes espèces en fonction de la teneur en sphingomyéline de leur membrane. L'hémolysine bêta est hautement active sur les érythrocytes de mouton mais inactive sur ceux de lapin. Cette toxine est plus fréquemment produite par les souches de *S.aureus* d'origine animale. *In vitro*, elle est produite en phase post-exponentielle de croissance (Dinges et *al.*, 2000).

##### **❖ Hémolysine delta**

L'hémolysine delta est un petit peptide de 26 acides aminés, qui se présente sous la forme d'une hélice alpha avec des domaines hydrophobes (Janzon et *al.*, 1989). Grâce à cette caractéristique structurale, elle crée des cylindres hydrophobes dans les membranes cellulaires et perméabilise ainsi les cellules. Elle agit comme un surfactant au niveau de la membrane

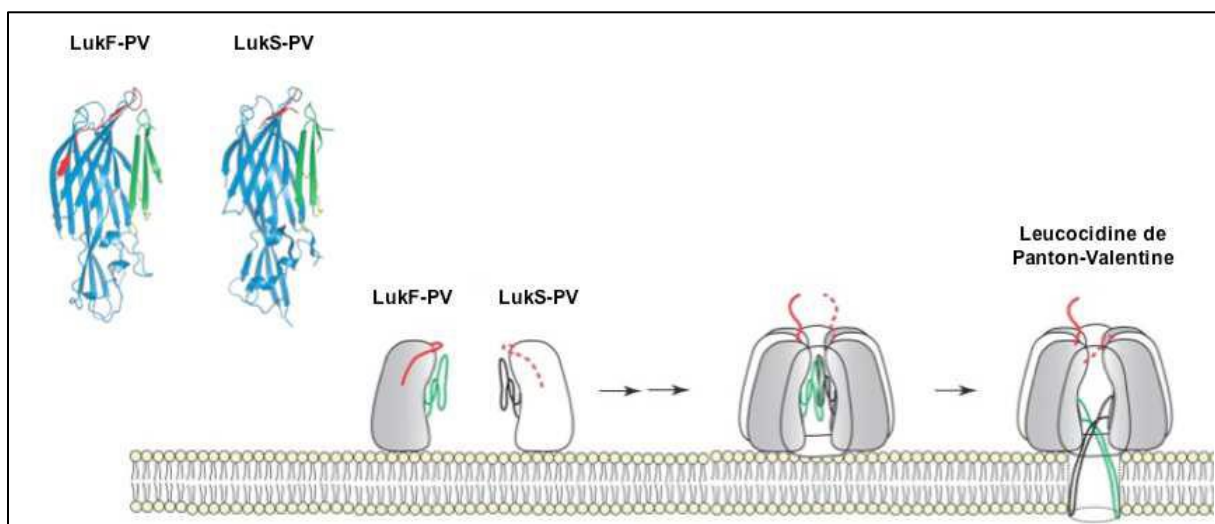
cellulaire. Produite par 97% des souches de *S.aureus*, l'hémolysine delta a pour cible différents types cellulaires (Le Loir et Gautier, 2010).

#### ❖ Hémolysine gamma

Elle est antigénique chez l'homme, formée de deux sous unités, agissant en synergie dont le cholestérol inhibe leur action, elle est produite par 30% des souches hospitalières de *S.aureus*. Cette toxine possède un spectre d'activité assez large de par son action sur les lymphocytes T, les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, les macrophages (prévost et *al*, 2004).

#### II.3.2.2. Leucocidine de Panton Valentine (LPV)

La LPV est impliquée dans les furonculoses chroniques et dans la pneumonie nécrosante (Gilet et *al*, 2002). Cette toxine se compose des protéines LukS-PV et LukF-PV. Il existe 20 à 27% d'homologie de séquence entre les deux composés. Les deux composants sont sécrétés séparément, puis s'assemblent en octaèdre à la surface des cellules cibles. La formation d'un pore dans la membrane cellulaire requiert la présence des deux composants de la toxine (Prevost et *al*, 1995). *In vitro*, la LPV induit la lyse de plusieurs types cellulaires participant aux défenses de l'hôte comme le polynucléaire neutrophile, les monocytes et les macrophages. La LPV, à forte concentration induit la nécrose cellulaire des polynucléaires par activation des canaux calciques et fuite osmotique du cytosol. A faible concentration, la formation de pore dans la membrane mitochondriale induit l'apoptose (Genestier et *al*, 2005).



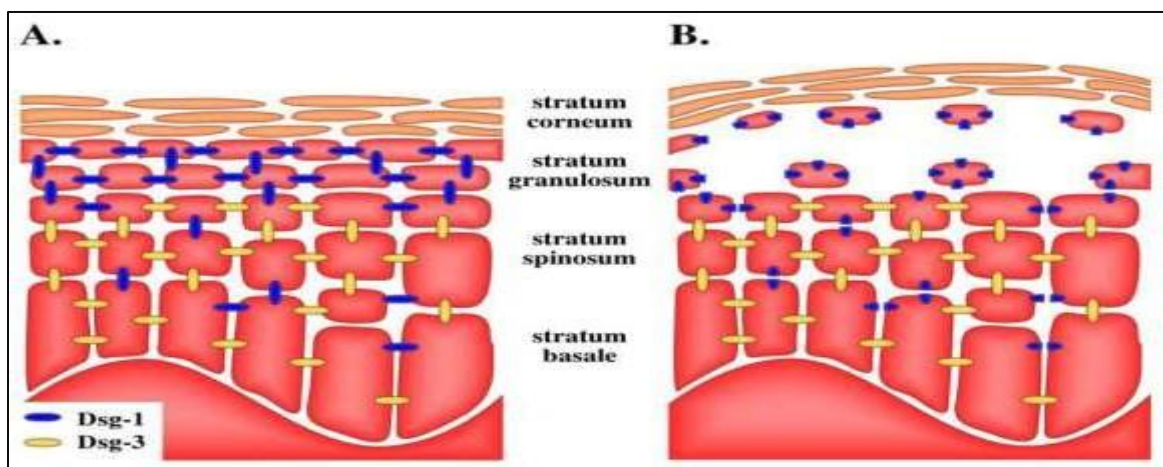
**Figure 03 :** Mécanisme d'assemblage des deux protéines lukF-PV et lukS-PV pour former un pore octaédrique (Miles *et al*, 2006).

### II.3.2.3. Groupe des toxines à deux composants

La leucocidine de Pantone Valentine (LPV) et l'hémolysine gamma sont des toxines composées de deux protéines distinctes, le composé « S » pour « slow » et le composé F pour « fast ». Nommés ainsi en fonction de leur vitesse d'éluion en chromatographie. Elles agissent de façon synergique sur les membranes cellulaires. Les composés S se fixent en premier à la surface des cellules cibles puis l'interaction secondaire des composés F aboutit à la perméabilisation membranaire (Miles et al, 2006). L'hémolysine gamma est produite par toutes les souches de *S.aureus* alors que la LPV n'est produite que par 2 à 3 % des souches. Une autre toxine à deux composants nommée LukDE a été caractérisée, elle possède une activité dermonécrotique et des propriétés leucotoxiques moindre que la LPV et elle n'est pas active sur les érythrocytes (Gravet et al, 1998).

### II.3.2.4. Exfoliatines

Les exfoliatines sont à l'origine du syndrome d'exfoliation généralisée et de l'impétigo bulleux staphylococcique. Actuellement quatre exfoliatines ont été décrites : ETA, ETB, ETC et ETD. En pathologie humaine, on retrouve principalement ETA et ETB et moins fréquemment ETD (Yamasaki et al, 2005). Le mécanisme d'action de ces toxines protéiques au niveau de l'épiderme n'est pas complètement élucidé. Ces toxines à tropisme membranaire agissent par clivage intra-épidermique de la desmogleine entre le stratum spinosum (couche épineuse) et le stratum granulosum (couche granuleuse) des kératinocytes, provoquant l'apparition de lésion bulleuses (Bukowski et al, 2010).



**Figure 4:** Représentation schématique de la distribution de la desmogléine dans une peau saine (A) et une peau exposée à la toxine exfoliative (B) (Bukowski et al, 2010).

Au niveau de toutes les strates, à l'exception du stratum granulosum, l'hydrolyse médiée par la toxine exfoliative de la desmogléine 1 (Dsg-1) est compensée par la desmogléine 3 (Dsg-3). La Dsg-3 est absente dans le stratum granulosum, ce qui explique le détachement cellulaire et la division des couches épidermiques lors de l'hydrolyse du Dsg-1 (Bukowski et *al*, 2010).

### **II.3.2.5. Entérotoxines**

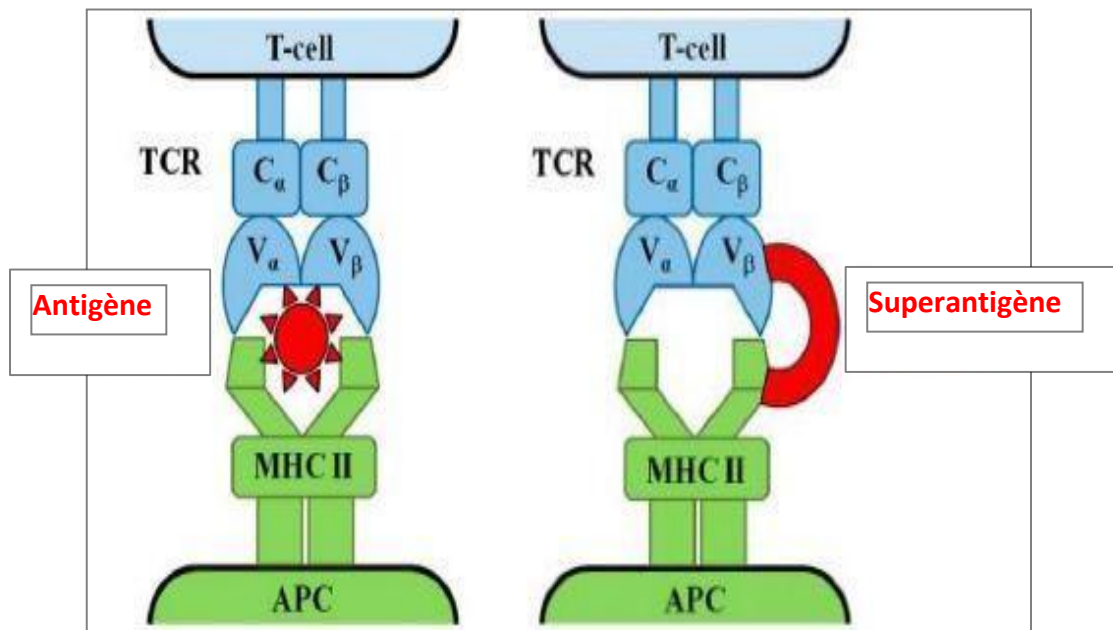
Les entérotoxines staphylococciques sont des petites protéines d'un poids moléculaire compris entre 22.000 et 29.600 Da (Gustafson et *al*, 2015). Les études sur les entérotoxines staphylococciques ont débuté par l'analyse des souches de *S. aureus* impliquées dans les toxi-infections alimentaires. Elles sont thermostables, résistantes aux enzymes protéolytiques et assez stables sur une large gamme de pH (Bendahou et *al*, 2009 ; Digiannatal et *al*, 2011). La production d'entérotoxines staphylococciques peut débuter à partir d'une faible concentration bactérienne ( $10^3$ ) après une incubation de 2h à 37 C°, chez l'humain l'infection se manifeste après ingestion d'une petite quantité de toxine (0.5 ng/ ml) (Le Loir et *al*, 2003 ; Digiannatal et *al*, 2011).

Plus de neuf types antigénique majeurs d'entérotoxines ont été reconnus et désignés SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEQ, SEK (Zhang et *al*, 2011), toutes ces toxines présentent une activité super antigénique en interagissant avec les cellules présentatrices d'antigène et stimulent la prolifération non spécifique des cellules T (Nehal et *al*, 2010).

### **II.3.2.6. Toxine du syndrome du choc toxique**

La toxine TSST-1 a été reconnue comme la cause majeure du syndrome du choc toxique staphylococcique TSS , caractérisée par une fièvre, hypotension , desquamation, la TSST-1 est une protéine extracellulaire à unique chaîne appartenant à la grande famille des exotoxines pyrogènes produites par plusieurs souches de *Staphylococcus aureus* (Nagase et *al*, 2001). La TSST-1 est la seule à pouvoir traverser les membranes muqueuses (Zhang et *al*, 2011).

L'effet pyrogène et superantigène des TSST induit l'activation simultanée de plusieurs populations lymphocytaires, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs (interleukine, interféron gamma, TNF alpha et bêta) responsables de la symptomatologie du choc staphylococcique (fièvre, desquamation, hypotension... ect) (Hirsh et Biberstein, 2004), illustré en dessous en figure 5.



**Figure 05:** Mécanisme d'action des superantigènes de *S. aureus*. (Macias et al, 2011).

## **Chapitre III : Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques**

### **III.1. Introduction**

La plasticité du génome de *S.aureus* lui confère la capacité de s'adapter à toutes les conditions environnementales, et notamment d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques et de développer des mécanismes de régulation pour s'adapter à des concentrations croissantes d'antibiotiques. Le secret de ce pouvoir d'adaptation est lié au génome de *S. aureus* qui est formé de deux domaines fonctionnels distincts. La majeure partie du chromosome contient les gènes qui assurent la maintenance de la bactérie. La deuxième partie du génome est constituée d'éléments génétiques accessoires et mobiles comme des plasmides, transposons, prophages ou des îlots de pathogénicité portant la plupart des gènes associés à des facteurs de virulence et à la résistance aux antibiotiques (Dumitrescu et al, 2010).

### **III.2. Les antibiotiques**

#### **III.2.1. Définition**

Par opposition au phénomène de symbiose, le mot antibiotique dérive du terme « antibiose » créé en 1889 par VUILLEMIN pour désigner les phénomènes d'antagonisme entre les micro-organismes vivants. En 1942, WAKSMAN définit les antibiotiques comme « des substances chimiques naturelles produites par des microorganismes qui ont le pouvoir d'inhiber d'autres micro-organismes » (Joly, 1989). Le mot antibiotique est maintenant employé dans un sens plus large qui inclut, en outre, toute substance synthétique ou semi synthétique dotée de ces propriétés (Singleton, 2005).

Selon Joly (1989) et Yala et al (2001), les antibiotiques sont définis par leur :

- Activité antibactérienne (certains antibiotiques agissent contre les champignons unicellulaires, ils sont donc appelés antibiotiques antifongiques) ;
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme ;
- Activité en milieu organique ; dans le sang ou les tissus ;
- Toxicité sélective grâce à un mécanisme d'action spécifique. Les antiseptiques et les désinfectants qui sont trop toxiques pour être administrés par voie générale sont exclus de cette définition.

### III.2.2. Classification des antibiotiques

Selon Kezzal (1993), les antibiotiques sont classés d'après plusieurs critères: nature chimique, origine, le site d'action, spectre d'action et l'effet antibactérien.

#### ➤ **Classification selon la nature chimique**

Selon Barzic et Ioan (2015) et Archambaud (2009), cette classification permet de distinguer les antibiotiques en familles, groupes, générations.

#### ➤ **Classification selon l'origine**

Les antibiotiques naturels (produits par les micro-organismes principalement par les champignons et les bactéries) ; les antibiotiques synthétiques (Produits obtenus entièrement par voie chimique) ; Les antibiotiques semi-synthétiques (Ils sont obtenus à partir de composés naturels chimiquement modifiés). Les antibiotiques naturels sont souvent plus toxiques que les antibiotiques synthétiques.

#### ➤ **Classification selon le site d'action**

Les cibles principales des antibiotiques chez les bactéries sont : la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique, la synthèse protéique, la réplication d'ADN et la transcription.

#### Les antibiotiques agissant sur la paroi cellulaire

- Bêta-lactamines
- Glycopeptides
- Fosfomycine

#### Les antibiotiques agissant sur les membranes

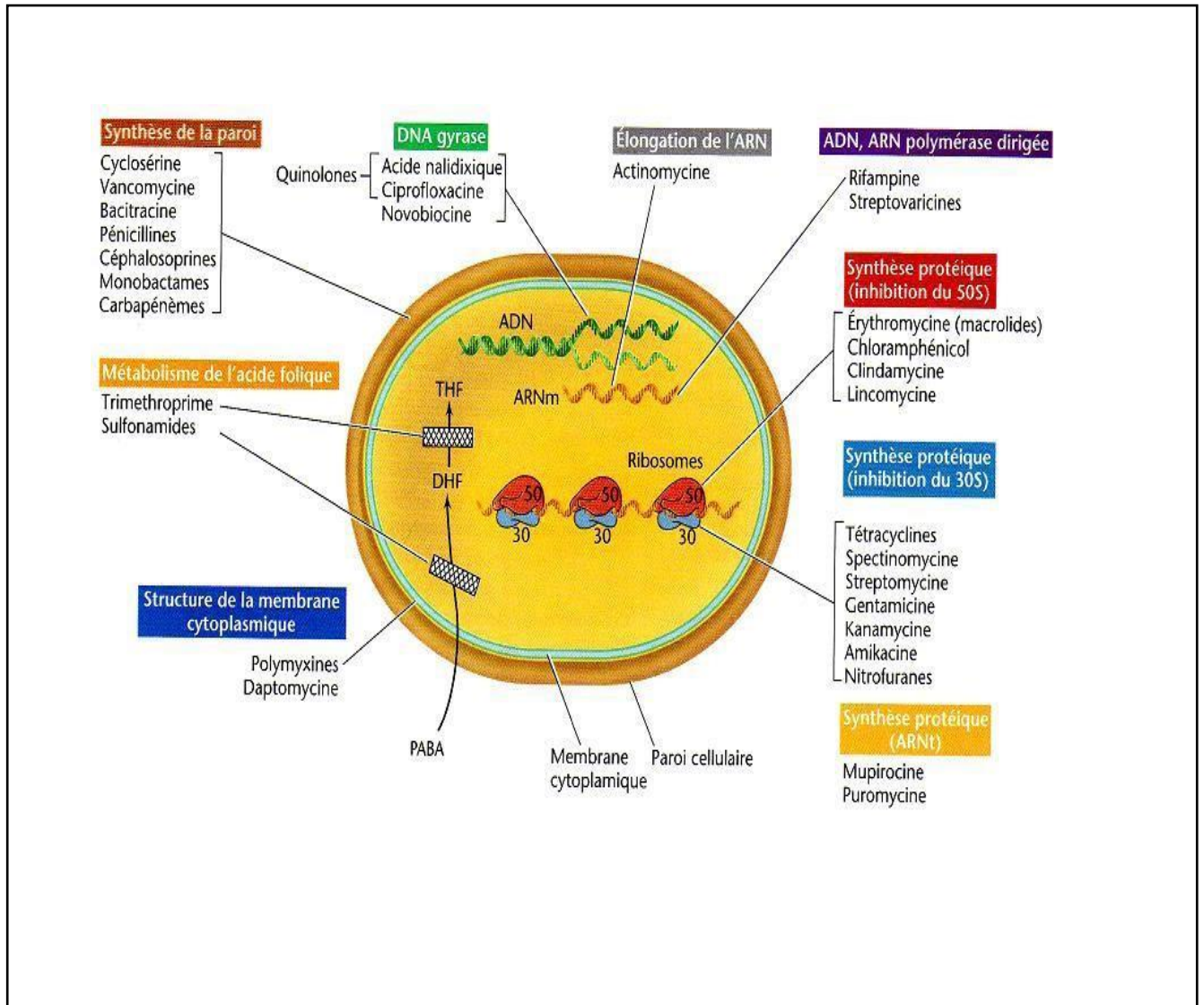
- Polymyxines
- Lipopeptides

#### Les antibiotiques inhibant la synthèse protéique

- Aminocyclitolides
- Tétracyclines
- Macrolides, Lincosamides et synergystines
- Acide fusidique
- Oxazolidinones
- Ketolides
- Phénicolés

## Les antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

- Quinolones
- Rifamycines
- Nitroimidazolés
- Sulfamides



**Figure 6:** Modes d'action des antibiotiques sur les bactéries (Madigan et Matinko, 2007).

### ➤ Classification selon le spectre d'activité

Il existe deux grandes catégories d'antibiotiques :

**Les antibiotiques à spectre étroit :** ils ne tuent qu'un nombre limité de bactéries. Ils peuvent cibler et tuer les bactéries à l'origine de la maladie tout en laissant en vie les autres bactéries,

qui peuvent être bénéfiques. Ces antibiotiques sont habituellement prescrits lorsque la bactérie à l'origine de l'infection est exactement connue (Pascale, 2014).

**Les antibiotiques à spectre large :** ils sont efficaces contre de nombreuses bactéries, y compris certaines bactéries résistantes aux antibiotiques à spectre étroit. Ce type d'antibiotique est prescrit lorsque l'on ne connaît pas exactement quelle est la bactérie à l'origine de l'infection ou lorsque la maladie est causée par plusieurs bactéries différentes (Pascale, 2014).

➤ **Classification selon l'effet antibactérien**

Les antibiotiques peuvent être, soit bactéricides, soit bactériostatiques (Singleton, 2005). Un antibiotique bactériostatique arrête la croissance des bactéries, un antibiotique bactéricide tue les bactéries. La distinction entre les deux types d'activité peut se faire en comparant *in vitro* la CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMB (concentration minimale bactéricide). Un antibiotique peut être considéré comme bactéricide lorsque sa CMB est sensiblement égale à sa CMI. Un antibiotique dont la CMB est très supérieure à la CMI, de telle sorte que sa concentration au site d'infection *in vivo* ne permet pas d'atteindre la valeur de la CMB, sera considéré comme bactériostatique (Pascale, 2014).

### **III.3. Mécanismes de résistance**

#### **III.3.1. Définition de la résistance bactérienne**

Un micro-organisme est considéré « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. En effet, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre *in vivo* à la suite d'un traitement (Carle, 2009).

Cette définition bactériologique de la résistance doit être complétée par deux autres; une clinique et une génétique. La définition clinique associe la notion de succès et d'échec clinique. En première approximation, une bactérie résistante est une bactérie qui échappe au traitement, ce qui peut se manifester par un échec clinique. La définition génétique correspond à la présence de gènes de résistance au sein de la bactérie, détectés par des techniques biophysiques et ou génétiques (Guillot, 1988).

Parfois, la résistance à un antibiotique confère de la résistance à un autre antibiotique, et c'est ce que l'on appelle la résistance croisée. Les bactéries sont dites multi-résistantes

lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques. Elles sont alors résistantes à plusieurs antibiotiques ou classes pharmacologiques d'antibiotiques (Carle, 2009).

### **III.3.2. Support génétique de la résistance bactérienne**

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extra-chromosomique). La résistance peut être soit naturelle ou acquise (Carle, 2009)

#### **III.3.2.1. Résistance naturelle ou intrinsèque**

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique, elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (Carle, 2009).

#### **III.3.2.2. Résistance acquise**

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (Carle, 2009).

##### **a. Mutation chromosomique spontanée**

Les gènes de résistance se situent dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action (Tenover, 2006). La résistance due à une mutation, se transmet seulement verticalement (d'une bactérie à sa descendance) ; elle ne se transmet pas horizontalement (d'une bactérie à une autre) (Andremont et *al*, 1997).

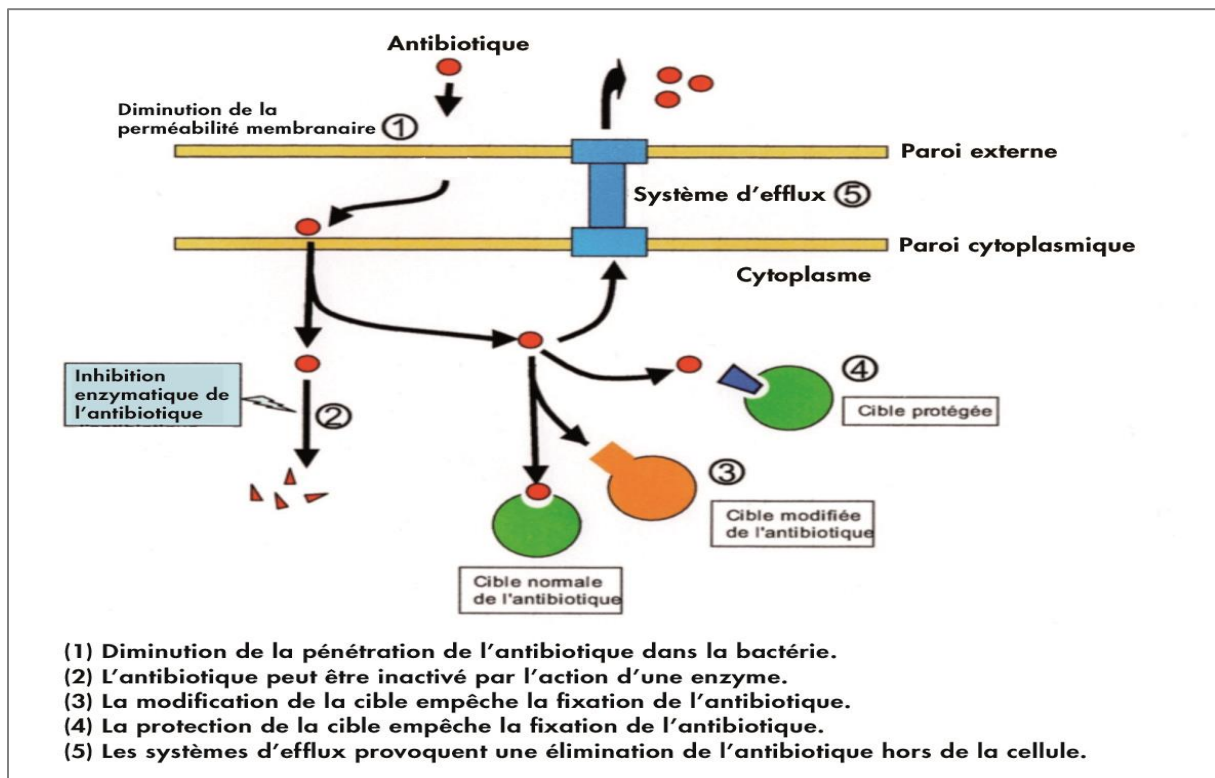
## b. Acquisition de gènes de résistance

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles tels que les plasmides. Comme les mutations chromosomiques, les gènes de résistances plasmidiques se transmettent verticalement comme ils peuvent aussi se transmettre horizontalement (d'une bactérie à sa voisine) qu'elle soit ou non de la même espèce. Les gènes de résistance peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou par conjugaison (Carle, 2009)

### III.3.3. Principaux modes de résistance des bactéries

Selon Le Loir et Gautier (2010), il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les micro-organismes développent de la résistance, y compris *S.aureus*, il s'agit de :

- Inactivation enzymatique ;
- Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique ;
- Réduction de la perméabilité cellulaire ;
- Phénomène d'efflux.



**Figure 7:** Représentation schématique des quatre grands types de mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques (Pascale, 2014).

### III.3.3.1. Inactivation enzymatique

C'est le mécanisme le plus répandu dans la nature, il se traduit par la perte d'affinité de l'antibiotique pour sa cible. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité (Muylaert et Mainil, 2012).

Ce mode de résistance est présenté principalement par la production de  $\beta$ -lactamases, qui sont des enzymes codées par des gènes plasmiques ou chromosomiques. Elles constituent un mécanisme de résistance très efficace. Elles inactivent les  $\beta$ -lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle  $\beta$ -lactame (Carle, 2009). Parmi les bactéries à Gram positif, le *Staphylococcus aureus* ainsi que l'entérocoque sont les pathogènes les plus susceptibles de produire des  $\beta$ -lactamases transmises par des plasmides et d'hydrolyser les pénicillines ou les céphalosporines (Carle, 2009).

### III.3.3.2. Défaut d'affinité

C'est un phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action. Ci-dessous quelques exemples de ce mécanisme de résistance:

1. Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP (Penicillin Binding Protein). Selon Lozniewski et Rabaud (2010), trois mécanismes peuvent intervenir:

- Diminution de l'affinité des PLP pour les  $\beta$ -lactamines, ainsi les  $\beta$ -lactamines ont du mal à se fixer aux PLP qui restent disponibles pour la synthèse du peptidoglycane ;
- Augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines ;
- Synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux  $\beta$ -lactamines (ex: *Staphylococcus aureus*: l'acquisition et l'intégration dans le chromosome d'un gène *mecA*, d'origine mal connue, induit la synthèse d'une nouvelle PLP, la PLP2a qui est capable d'assurer à elle seule l'assemblage du peptidoglycane et elle confère une résistance à toutes les  $\beta$ -lactamines).

2. Altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase : L'ADN-gyrase est une enzyme nécessaire à l'activité des quinolones. Des mutations spontanées d'un seul acide aminé de

l'ADN-gyrase engendrent de la résistance. Il en est de même pour les mutations de la topoisomérase IV (Carle, 2009).

### **III.3.3.3. Phénomène d'imperméabilité**

Contrairement aux bactéries Gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycane que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries Gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable.

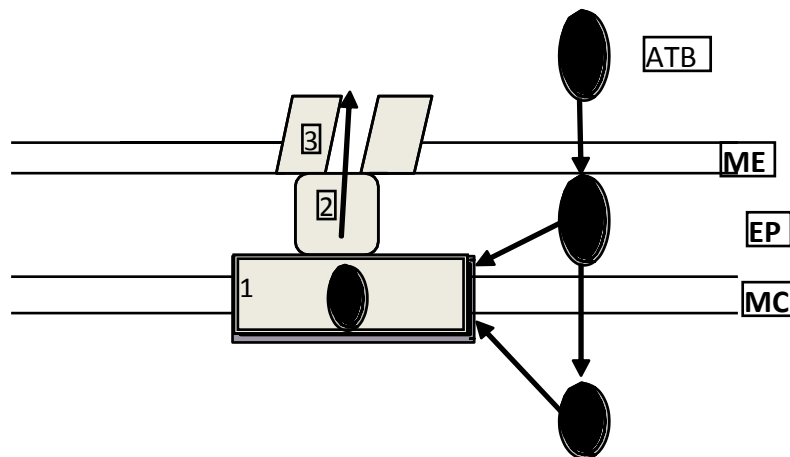
Ainsi, au sein des bactéries Gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie par diffusion passive via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique.

La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Citons comme exemple, la réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. Coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactames, aux tétracyclines et aux chloramphénicols (Muylaert et Mainil, 2012).

### **III.3.3.4. Résistance par efflux**

Le système d'efflux est un mécanisme de transport actif membranaire, universellement répandu chez les organismes vivants. Il a un rôle clé dans la physiologie bactérienne par la préservation de l'équilibre physicochimique du milieu intracellulaire, en s'opposant à l'accumulation de substances naturelles ou synthétiques toxiques; transport de substances nutritives et export de substances toxiques (Cattoir, 2009).

L'antibiotique rentre dans la bactérie, mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par des protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie (figure 8). Ce système fonctionne avec une protéine de la membrane cytoplasmique qui est le transporteur ou pompe, une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine périplasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes. C'est le cas de la résistance naturelle des Staphylocoques vis-à-vis des quinolones (Gaudy et Bruxeraud, 2005). ceci est montré en figure 8.



**Figure 8:** Structure des systèmes d'efflux actifs ; 1: pompe ; 2: protéine de diffusion ; 3: canal transmembranaire ; ATB: antibiotique ; ME: membrane externe ; EP: espace périplasmique ; MC: membrane cytoplasmique (Gaudy, 2011).

### III.3.4. Mécanismes de résistance de *S.aureus* aux antibiotiques

#### III.3.4.1. Résistance aux bêta-lactamines

##### ➤ Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines agissent sur la paroi bactérienne, plus précisément sur les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP sont des protéines à activité enzymatique (essentiellement des transpeptidases) impliquées dans la synthèse de la paroi. Elles sont situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Cette fixation covalente entre les PLP et les  $\beta$ -lactamines induit un blocage des réactions de transglycosylation et de transpeptidation consécutif à l'acylation des PLP par les  $\beta$ -lactamines, ainsi qu'une stimulation de l'activité des autolysines (enzymes impliquées dans le renouvellement de la paroi). Les souches de *S. aureus* possèdent 4 PLP : PLP1, PLP2, PLP3 (essentielles à la survie) et PLP4 (accessoires) (Chambers, 1997).

##### ➤ Mécanisme de résistances des bêta-lactamines

Deux mécanismes principaux de résistance sont décrits, la production de pénicillinase et la modification de la cible des bêta-lactamines.

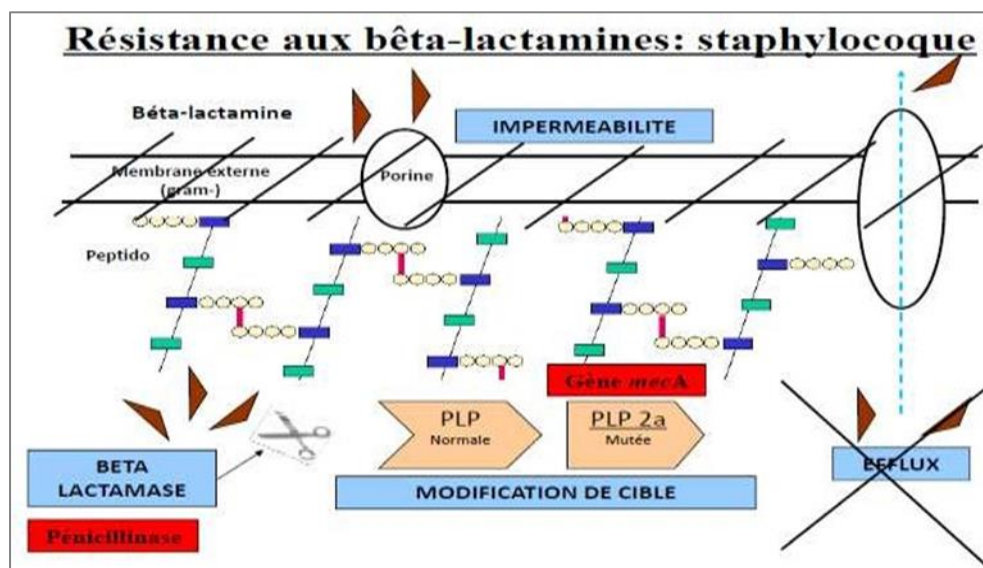
##### a) Résistance à la pénicilline par production de pénicillinase

La pénicillinase est une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame présent chez la pénicilline G et toutes les molécules dérivées. Elle est sensible à l'action des

inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) (Donnio, 2010). La pénicillinase staphylococcique est le produit d'expression du gène *blaZ*. Celui-ci est porté par un plasmide ou un transposons (Lowry, 2003).

### b) Méricillino-résistance par modification de la cible

Cette résistance est observée chez *S. aureus* et chez les staphylocoques à coagulase négative, et est due à la production d'une PLP additionnelle, la PLP2a, qui se surajoute aux PLP « normales » de *S. aureus*. En présence des bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes), les PLP sont inhibées, sauf la PLP2a. Cette protéine est codée par le gène d'expression inductible *mecA*. Ce gène est porté par un élément génétique mobile particulier, une cassette chromosomique appelée *SCCmec* insérée dans un locus spécifique. L'expression de la résistance est variable en fonction des souches. Elle peut être homogène et dans ce cas, pour la souche considérée, la totalité de la population exprime la résistance à la méricilline. Elle peut être hétérogène, et dans ce cas seule une fraction de la population bactérienne va exprimer la résistance (Leclercq et Daurel, 2008).



**Figure 9:** schéma représentatif de la résistance de *S. aureus* aux bêta-lactamines (Mainardi, 2015).

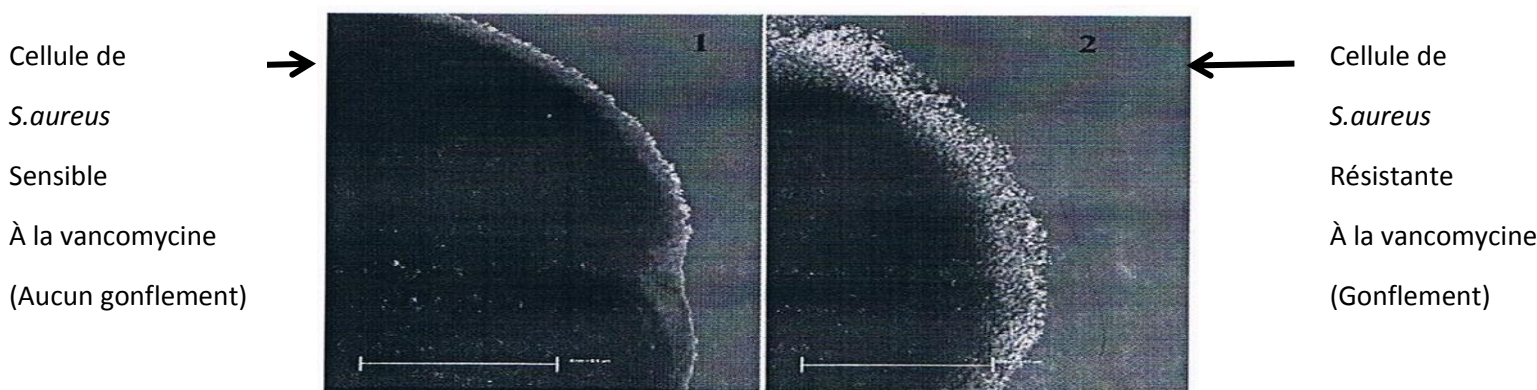
### III.3.4.2. Résistance aux glycopeptides

Les glycopeptides (la vancomycine et la teicoplanine), sont des antibiotiques exerçant un effet bactéricide lent (Tankovic *et al*, 1997). Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane, En se liant par des liaisons hydrogène aux D-Ala-D-Ala terminaux des précurseurs

pentapeptidiques avec une haute affinité bloquant ainsi l'addition des précurseurs par transglycosylation à la chaîne du peptidoglycane naissant et prévenant les étapes ultérieures de polymérisation catalysées par les D,D-transpeptidase, ceci aboutit à l'accumulation cytoplasmique de précurseurs (Leclercq, 2012).

Il existe des souches appelées *VISA* (ou *GISA*) (Vancomycin intermediate *S. aureus*), dont la réticulation du peptidoglycane est incomplète. Dans la paroi très épaisse, une forte proportion de pentapeptides L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala reste intacte, sans perte du D-Ala terminal et sans fixation de ponts pentaglycine. Le dipeptide D-Ala – D-Ala qui est la cible des glycopeptides est alors présent 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 (Donnio, 2010). Tandis que chez les VRSA (vancomycin-resistant *S. aureus*) la synthèse du pentapeptide est anormal (L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Lac). Le D-ala terminal est remplacé par une molécule de lactate. Les glycopeptides ont une très faible affinité pour ce dipeptide anormal (Donnio, 2010).

La résistance aux Glycopeptides chez *S. aureus* pourrait être liée à une diversité de mécanismes moléculaires responsables de la réorganisation de la structure de la paroi bactérienne. L'épaississement qui en résulte de ces modifications empêche la vancomycine de traverser la paroi et celle-ci reste bloquée (Joly-Guillou, 2004). Elle est associée principalement au gène *vanA* situé sur un transposon localisé sur un plasmide. Cette résistance étant le résultat d'un changement du D-alanine terminal en D-lactate prévenant ainsi la liaison de l'antibiotique (Beaudry-Ferland, 2011).



**Figure 10:** Comparaison d'une cellule de *S.aureus* sensible (1) et une autre résistante à la vancomycine (2). (Image prise par microscope électronique à transmission grossissement : x 30000) (Smith et al, 1999).

### III.3.4.3. Résistance aux macrolides, lincosamides et synergystines (MLS)

#### ➤ Mode d'action

Ces antibiotiques se fixent sur la sous-unité 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 peut 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* (Alioua, 2014).

#### ➤ Mécanisme de résistance

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) (Leclercq, 2002).

### III.3.4.4. Résistance aux fluoroquinolones

#### ➤ Mode d'action

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 (Redgrave, 2014).

#### ➤ Mécanisme de résistance

La résistance aux fluoroquinolones est médiée par des modifications de la cible (ADN gyrase et / ou topoisomérase IV) et / ou une diminution de l'accumulation intracellulaire. Les gènes (*gyrA* / *gyrB* / *parC* / *parE*) et les protéines de l'ADN topoisomérase IV présentent une grande similitude, à la fois au niveau des séquences nucléotidiques et d'acides aminés avec ceux de l'ADN gyrase. Il a été démontré qu'il existe des points chauds, appelés région déterminant la résistance aux quinolones (QRDR), pour les mutations au sein de *gyrA* et *parC* (Pidcock, 1999).

### III.3.4.5. Résistance aux rifamycines

➤ **Mode d'action**

Ces antibiotiques se fixent sur la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase ADN-dépendante codée par le gène *rpoB*. Par conséquent, la transcription est bloquée et la bactérie meurt (Floss et Yu, 2005).

➤ **Mécanisme de résistance**

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 (Zhou, 2012).

### III.3.4.6. Résistance aux tétracyclines

➤ **Mécanisme d'action**

Cet antibiotique agit au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en inhibant l'élongation peptidique. Ils ont une action bactériostatique envers le *S. aureus* (Mohammed, 2014).

➤ **Mécanisme de résistance**

Les modes de résistance aux tétracyclines qui ont été observés, soit l'élimination des tétracyclines intracellulaires par efflux ou protection du ribosome par modification de la cible (Beaudry-Ferland, 2011). Le premier est codé par les gènes *tetL* d'origine plasmidiques, le deuxième par le gène transposable *tetM* (Bismuth et Lecercq, 2000).

### III.3.4.7. Résistance aux aminosides

➤ **Mode d'action**

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides rapides et puissants (Asseray, 2002). Ils possèdent un spectre d'activité antibactérien large justifiant que certaines molécules soient réservées à l'hôpital pour combattre les infections bactériennes sévères (Courvalin, 2006). Les aminosides inhibent la synthèse protéique, suite à leur fixation sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien (Asseray, 2002).

➤ **Mécanisme de résistance**

Le mécanisme de résistance aux aminosides est dû à la production des staphylocoques d'enzymes inactivatrices. La synthèse de ces enzymes est gouvernée par des gènes plasmidiques ou transposables.

Selon Courvalin (2006) il existe trois classes d'enzymes en fonction de la réaction catalysée :

-aminoside N-acetyltransferase (AAC) : acétylation d'un groupement -NH<sub>2</sub> ;

-aminoside O-phosphotransferase (APH) : phosphorylation d'un groupement -OH ;

-aminoside nucleotidyltransferase (ANT) : nucleotidylation d'un groupement -OH.

Chaque enzyme va modifier un certain nombre d'aminosides différents, ce qui va se traduire par un phénotype de résistance spécifique de l'enzyme.

#### **III.3.4.8. Résistance aux phénicolés**

##### **➤ Mécanismes d'action des phénicolés**

Comme les macrolides et les lincosamides, les phénicolés se fixent à la sous-unité 50 S des ribosomes bactériens. Ils inhibent la synthèse des protéines en empêchant la liaison du complexe aminoacyl-ARNt à son site de fixation, et donc la réaction de transpeptidation. Le thiamphénicol est une molécule bactériostatique sur les souches de *S. aureus* (Kasten *et al*, 1999).

##### **➤ Mécanisme de résistance des phénicolés**

Les phénicolés sont sujets aux mécanismes d'efflux multiple avec le gène *norA* qui augmente la CMI. Une autre résistance a été décrite, elle est due au gène *cat* codé sur un plasmide. Ce gène code pour une chloramphénicol acetyltransferase qui neutralise l'antibiotique (Donnio, 2010).

#### **III.3.4.9. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline**

##### **➤ Emergence**

L'histoire de SARM a commencé avec le développement des antibiotiques, au début des années 1940, la pénicilline G était très active sur les staphylocoques. Cependant, dès les années 1950 des souches résistantes sont apparues, elles étaient en effet capables d'hydrolyser l'antibiotique en synthétisant une enzyme appelée pénicillinase capable de rompre le cycle  $\beta$ -lactame. Aujourd'hui, la fréquence des souches productrices de pénicillinase atteint 90% au sein des staphylocoques. Pour déjouer ce mécanisme de résistance, les laboratoires pharmaceutiques ont synthétisé dans les années 1960 de nouvelles pénicillines, capables de résister à l'action hydrolytique de la pénicillinase des staphylocoques par l'adjonction d'un radical volumineux sur le cycle  $\beta$ -lactame. Ce sont les pénicillines semi synthétiques du groupe M (méticilline, qui n'est plus commercialisable, oxacilline, cloxacilline et dicloxacilline) (Alioua, 2014).

En 1961, un hôpital en Angleterre a signalé la découverte d'une souche de *S. aureus* résistante à la méticilline. Depuis cette date, les SARM se sont diffusés de façon épidémique

dans les hôpitaux, pour devenir vers 1980 multi-résistantes aux antibiotiques et pandémiques (Alioua, 2014).

➤ **Résistance**

La résistance à la pénicilline chez les staphylocoques est causée par l'expression de la protéine liant la pénicilline PLP2a codée par le gène *mecA* localisé dans un élément génétique mobile dit cassette staphylococcique chromosomique (SCC pour «Staphylococcal Cassette Chromosome»). *SCCmec* peut être considéré comme un îlot de résistance aux antibiotiques qui transporte le complexe du gène *mecA*, codant pour la résistance aux  $\beta$ -lactamines et contient aussi des transposons et des copies de plasmides qui portent divers gènes de résistance à l'encontre d'autres antibiotiques autres que les  $\beta$ -lactamines (Alioua, 2014).

**III.4. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance**

L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques sont le résultat d'une pression sélective exercée par les agents antimicrobiens et de la transmission de micro-organismes résistants. L'exposition à un antimicrobien favorise la survie des souches bactériennes résistantes présentes dans une population. L'émergence de la propagation de la résistance aux antibiotiques est le résultat de plusieurs facteurs résumés dans le tableau suivant (Carle, 2009).

**Tableau 2:** Facteurs induisant la résistance aux antibiotiques (Carle, 2009).

Facteurs	Exemples
Emergence de la résistance	Usage abusif d'antibiotique; diagnostic non confirmé d'infection bactérienne; utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement.
Propagation des souches résistantes	Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux ; non respect des directives de lutte contre les infections ; promiscuité des patients (transfère des patients colonisés ou infectés entre les hôpitaux et milieu communautaire) ; voyage internationaux ...
Utilisation d'antibiotiques dans l'agro-alimentaire	Animaux destinés à la consommation, agriculture, Aquaculture....
Utilisation d'antibiotiques et des désinfectants	Agents antibactériens dans les produits d'entretien Ménager, dentifrice, les savons...



# Partie expérimentale

## Chapitre I : Matériels et Méthodes

### I.1. Objectif de l'étude

L'objectif de notre étude est d'isoler des souches de *S. aureus* chez le poulet de chair à partir de prélèvements nasaux afin d'étudier la prévalence de ce germe et de déterminer la résistance des isolats vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques utilisées en thérapeutique humaine et vétérinaire, et ceci dans le but de prévoir l'existence des SARM (*Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline).

### I.2. Matériels

- Verreries : tubes à essai, tubes à hémolyse, boîtes de Pétri, pipettes Pasteur, flacons.
- Outils : anses à boucle, embouts (0,1-ml), écouvillons, pince bactériologique, spatule, micropipette, cuves de spectrophotomètre, coton tiges, seringue, gants stériles.
- Etuve microbiologique (Mettler, Allemagne)
- Vortex (Heidolph, Allemagne)
- Bec Bunsen
- Autoclave (PBI International, Italie)
- Balance électronique (Denver Instrument, Etats unis)
- Spectrophotomètre (Medline, Grande Bretagne)
- Réfrigérateur (Maxipower, Algérie)
- Bain-Marie (Mettler, Allemagne)
- Glacière

### I.3. Milieux de culture et réactifs

- Bouillon Mueller-Hinton (Conda Pronadisa, Espagne) + 6,5% NaCl
- Gélose Baird-Parker (Biokar diagnostics, France)
- Tellurite de potassium (Institut Pasteur d'Alger)
- Emulsion de jaune d'œuf
- Gélose Mueller-Hinton (Biokar diagnostics, France)
- Bouillon cœur-cerveille (Biokar diagnostics, France)
- Gélose cœur-cerveille

- Gélose à ADN (Conda Pronadisa, Espagne)
- Agar bactériologique (Biokar diagnostics, France)
- Plasma de lapin (bioMérieux SA, France)
- Plasma humain
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée stérile
- HCl 2N (MERCK, Germany)
- Disques d'antibiotiques (Liofilchem, Italie)

## **I.4. Méthodes**

### **I.4.1. Durée et lieu de l'étude**

Le prélèvement des échantillons a été effectué au niveau de deux abattoirs différents situés dans la wilaya de Tizi Ouzou durant la période qui s'est écoulée entre le mois d'avril et le mois de Mai 2021. L'étude a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) à l'université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

### **I.4.2. Collecte des échantillons**

La collecte des échantillons est réalisée au niveau de l'abattoir Houamdi situé à DBK et Chernai situé à Thala Athmane. Au total, 170 prélèvements de poulet de chair ont été réalisés.

Quatre échantillonnages ont été réalisés à partir de différents élevages provenant de différentes régions de la wilaya de Tizi Ouzou, Bouira et Médéa. La période entre chaque échantillonnage est de deux à trois semaines (tableau 3).

Les échantillons ont été collectés la matinée lors de l'abattage, chaque tête est mise dans un sachet alimentaire en plastique, puis l'ensemble des échantillons de chaque élevage est mis dans un sachet en plastique tout en mentionnant l'âge, l'effectif et l'origine. Ces échantillons sont ensuite transportés au laboratoire dans une glacière empilée de pochettes de glace.

**Tableau 3:** Nature et nombre de prélèvements

Echantillonnages	Abattoirs	Nature des prélèvements	Type des échantillons	Origine des échantillons	Age des échantillons	Nombre des échantillons
<b>Premier</b>	Abattoir Houamdi situé à DBK	Prélèvement nasal	Poulet de chair	Ait Aissa	54 jours	20
				Mimoune		
				Médéa	60 jours	20
<b>Deuxième</b>	Abattoir Houamdi situé à DBK	Prélèvement nasal	Poulet de chair	Ouadhias	55 jours	20
				Tizi Rached	50 jours	15
				Ait Aissa	50 jours	15
				Mimoune		
<b>Troisième</b>	Abattoir Chernai commune Thala Athmane	Prélèvement nasal	Poulet de chair	Irdjen	49 jours	15
				Bouira	50 jours	15
				Ouaguenoun	50 jours	15
				Tanouarth	56 jours	15
<b>Quatrième</b>	Abattoir Houamdi DBK	Prélèvement nasal	Poulet de chair	Ait Oumalou		
				Tizi Ouzou	45 jours	10
				Ouaguenoun	50 jours	10

#### I.4.3. Analyse des échantillons au laboratoire

- **Écouvillonnage et enrichissement**

Sous des conditions aseptiques, nous avons réalisé un écouvillonnage de la partie nasale à l'aide d'un coton tige stérile en introduisant ce dernier à l'intérieur des narines de poulet. Ensuite, nous avons effectué des mouvements rotatifs afin de recueillir un maximum de sécrétions nasales. Le coton tige est introduit dans un tube à essai contenant le bouillon Mueller-Hinton + 6,5 % de NaCl. L'incubation est réalisée dans l'étuve à 37°C/24 h.



**Figure 11:** Ecouvillonnage de la cavité nasale du poulet de chair (photographie prise au laboratoire).

- **Isolement de *S.aureus***

Après incubation, la sélection des tubes a été faite en prenant en considération uniquement ceux qui avaient présenté un trouble microbien.

L'isolement est réalisé sur la gélose Baird-Parker (BP), qui est le milieu de choix en bactériologie car il permet une meilleure sélectivité vis-à-vis des *S.aureus*. L'ensemencement a été réalisé en prélevant aseptiquement 50 µl à partir du bouillon Mueller-Hinton présumé positif. Ce volume est ensuite déposé à la surface de la gélose Baird-Parker (BP) suivi d'un étalement à l'aide d'un râteau puis d'une incubation dans l'étuve à 37°C/24 h.

- **Purification des souches**

A partir des boîtes de Baird-Parker (BP) présentant des colonies caractéristiques (colonies rondes, lisses, bombées, noires et ayant un halo claire) de *S.aureus*, une à trois colonies sont prélevées puis ensemencées chacune par la technique des trois quadrants sur des boîtes contenant la gélose cœur-cerveau (BHI). L'incubation est réalisée à 37°C/24 h.

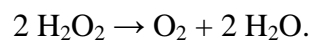
Les cultures présentant des colonies homogènes dorées ou blanches avec un contour régulier sont considérées comme étant pures et feront l'objet d'une identification biochimique.

- **Identification biochimique**

En plus des caractères morphologiques (caractères macroscopiques des colonies : taille, couleur, aspect), l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques tests biochimiques tels que la catalase, l'ADNase et la coagulase.

**a) Test de la catalase**

La catalase est une enzyme formée de quatre chaînes d'acides aminés et utilisée pour l'identification des bactéries. La catalase permet d'identifier certaines bactéries anaérobies de par son absence. Elle catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en eau avec libération d'O<sub>2</sub>:



Une goutte d'eau oxygénée est déposée sur une boîte de Pétri, puis mise en contact avec une colonie bactérienne. La souche est dite catalase (+) si des bulles de gaz (O<sub>2</sub>) apparaissent (effervescence).

**b) Test de l'ADNase**

L'ADNase est une enzyme capable d'hydrolyser l'ADN (Acide Désoxyribonucléique) en H<sub>2</sub>O et nucléotides. Ce test est utilisé principalement pour différencier le *Staphylococcus aureus* des autres staphylocoques.

A partir d'une culture pure, quelques colonies sont prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur et sont ensemencées en stries sur la gélose à ADN. La souche, *S. aureus* ATCC 25923, est utilisée comme témoin positif. Après incubation à 37°C/24h, la révélation se fait en ajoutant de l'acide chlorhydrique (HCl) à 2N. La souche est considérée ADNase (+) si une zone claire apparaît autour de la strie.

**c) Test de la coagulase**

Après avoir repiqué la souche pure dans du Bouillon BHIB et incubé à 37°C/24h, un petit volume de cette culture est déposé dans un tube à hémolyse dans lequel nous avons introduit à l'aide d'une seringue le même volume de plasma de lapin (ou humain). Les tubes sont incubés pendant 1 à 4h. La souche est dite coagulase (+) s'il y'aura formation d'un coagulum (prise en masse).

#### **d) Antibiorésistance des souches isolées**

L'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées a été réalisée conformément aux recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018) et de la CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2018), en appliquant la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur la gélose Mueller-Hinton (MH). La résistance des souches a été testée vis-à-vis de neuf molécules d'antibiotiques listées dans le tableau 4.

#### **Technique de l'antibiogramme**

##### **➤ Préparation de la suspension**

A partir d'une culture pure et jeune de 18h sur BHI, quelques colonies bien isolées sont raclées à l'aide d'une anse à boucle puis déchargées sur la paroi du tube contenant de l'eau physiologique stérile et homogénéiser à l'aide d'un vortex.

La suspension bactérienne est ajustée à une densité optique (D.O) comprise entre 0.08-0.1 lue à 625 nm.

##### **➤ Réalisation de l'antibiogramme**

L'antibiogramme est réalisé par la technique d'écouvillonnage en trempant l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne préparée puis l'essorer en le pressant sur la paroi du tube pour décharger au maximum l'inoculum. Ensuite, la gélose Mueller- Hinton estensemencée de haut en bas, en stries serrées tout en tournant la boîte de 60° jusqu'à l'ensemencement de la totalité de la surface.

Des disques d'antibiotiques sont déposés sur la surface de la gélose Mueller-Hinton. L'incubation des boîtes est réalisée à 37°C/24h.

Après la lecture des zones d'inhibition, les souches ont été classées en sensibles, intermédiaires ou résistantes selon les recommandations du CLSI (2018) et de la SFM (2018).

**Tableau 4 :** Liste des molécules d'antibiotiques testés

<b>Familles</b>	<b>Antibiotiques</b>	<b>Abréviations</b>	<b>Charge en µg</b>	<b>Marque</b>
<b>β-lactamines</b>	Pénicilline G	P	10 UI	Liofilchem, Italie
	Céfoxitine	FOX	30	Liofilchem, Italie
<b>Aminosides</b>	Gentamycine	CN	10	Liofilchem, Italie
	Néomycine	N	30	Liofilchem, Italie
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	E	15	Liofilchem, Italie
<b>Quinolones</b>	Ofloxacine	OFX	5	Liofilchem, Italie
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline	TE	30	Liofilchem, Italie
<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol	C	30	Liofilchem, Italie
<b>Sulfamides</b>	Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	SXT	25	Liofilchem, Italie

- **Conservation des souches**

Après repiquage des souches identifiées dans le bouillon BHIB et incubation à 37°C/24 h, nous les avons conservées dans des cryotubes en rajoutant un volume de cette culture bactérienne à deux volumes de glycérol. Ces tubes sont ensuite maintenus à -20°C.

## Chapitre II : Résultats et discussion

### II.1. Résultats

#### II.1.1. Prévalence de *S.aureus*

Durant cette étude, 170 échantillons de poulet de chair sont prélevés au niveau de deux abattoirs de la wilaya de Tizi-Ouzou (abattoir Houamdi situé à DBK et abattoir Chernai au niveau de Thala Athmane).

Après l'enrichissement sur le bouillon Mueller-Hinton + 6,5 NaCl, 122 prélèvements se sont révélés positifs. Après isolement sur la gélose sélective de Baird-Parker nous avons obtenus 59 colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus* (Figure 12) qui ont été soumises à des purifications sur la gélose BHI (Figure 13), puis à des tests biochimiques (Figure 14, 15 et 16). Uniquement 27 souches de *S. aureus* ont été confirmées à partir de 12 échantillons positifs, avec une prévalence totale de 7,06 % (12/170).



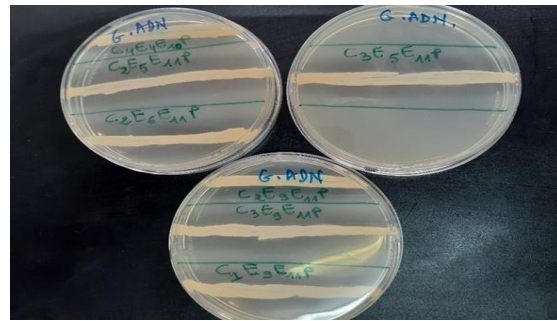
**Figure 12 :** Aspect macroscopique des colonies caractéristiques de *S.aureus* sur gélose Baird-Parker (Photographie prise au laboratoire).



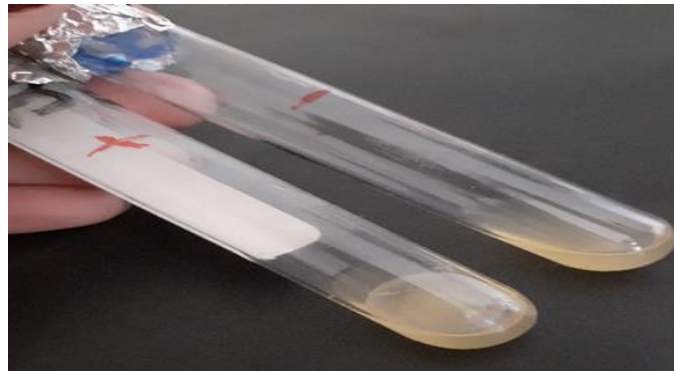
**Figure 13 :** Aspect des colonies pures de *S.aureus* sur gélose BHI (photographie prise au laboratoire).



**Figure 14** : Test de la catalase (photographie prise au laboratoire).



**Figure 15** : Test d'ADNase (photographie prise au laboratoire).



**Figure 16** : Résultats de la recherche de la coagulase (photographie prise au laboratoire).

**Tableau 5:** Prévalence de *S. aureus* et nombre de souches isolées selon la région

Echantillonnages	Origine des échantillons	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Nombre de <i>S.aureus</i> isolée	Prévalence de <i>S.aureus</i> (%)
<b>Premier</b>	Ait Aissa Mimoune	20	6	11	30
	Médéa	20	0	0	0
	Ouadhias	20	0	0	0
<b>Deuxième</b>	Tizi Rached	15	1	2	6.66
	Ait Aissa Mimoune	15	1	2	6.66
	Irdjen	15	0	0	0
	Bouira	15	0	0	0
<b>Troisième</b>	Ouaguenoune	15	0	0	0
	Tanouarth ait Oumalou	15	0	0	0
<b>Quatrième</b>	Tizi Ouzou	10	1	4	10
	Ouaguenoune	10	3	8	30
<b>Total</b>		<b>170</b>	<b>12</b>	<b>27</b>	<b>7.06</b>

### II.1.3. Antibiorésistance des souches isolées

Les résultats des antibiogrammes montrent des taux variables de résistance des souches isolées selon les molécules d'antibiotiques testées. En effet, un taux élevé de résistances à la pénicilline (85,18%) et à l'érythromycine (40,74%) ont été observés. En outre, des résistances relativement faibles ont été enregistrées pour le triméthoprim/sulfaméthoxazole (22,22%), l'ofloxacine (11,11%), la néomycine (11,11%) et la tétracycline (3.70%). Enfin, aucune résistance n'a été observée pour la gentamycine, le chloramphénicol et la céfoxitine (Tableau 6).

**Tableau 6:** Résistance des souches de *S. aureus* aux molécules d'antibiotiques testées

Antibiotiques	Poulet de chair	
	Résistance	Sensibilité
	Nombre (%)	Nombre (%)
<b>P</b>	23(85,18)	4(14,81)
<b>N</b>	3(11,11)	24(88,88)
<b>C</b>	0(0)	27(100)
<b>TE</b>	1(3,70)	19(70,37)
<b>OFX</b>	3(11,11)	24(88,88)
<b>SXT</b>	6(22,22)	20(74,07)
<b>CN</b>	0(0)	27(100)
<b>FOX</b>	0(0)	27(100)
<b>ERY</b>	11(40,74)	16(59,25)

**P** : Pénicilline G, **N** : Néomycine, **C** : Chloramphénicol, **TE** : Tétracycline, **OFX** : Ofloxacine, **SXT** : Trimethoprim/Sulfamethoxazole, **CN** : Gentamycine, **FOX** : Céfoxitine, **ERY** : Erythromycine

Douze souches (44,44%) présentent une résistance vis-à-vis une seule molécule d'antibiotique, deux souches (7,40%) sont résistantes vis-à-vis deux molécules d'antibiotiques, neuf souches (33,33%) sont résistantes vis-à-vis de plus de trois molécules d'antibiotiques. Enfin, quatre souches sont sensibles vis-à-vis toutes les molécules d'antibiotique testées. Les profils de résistance des souches sont résumés dans le tableau 7.

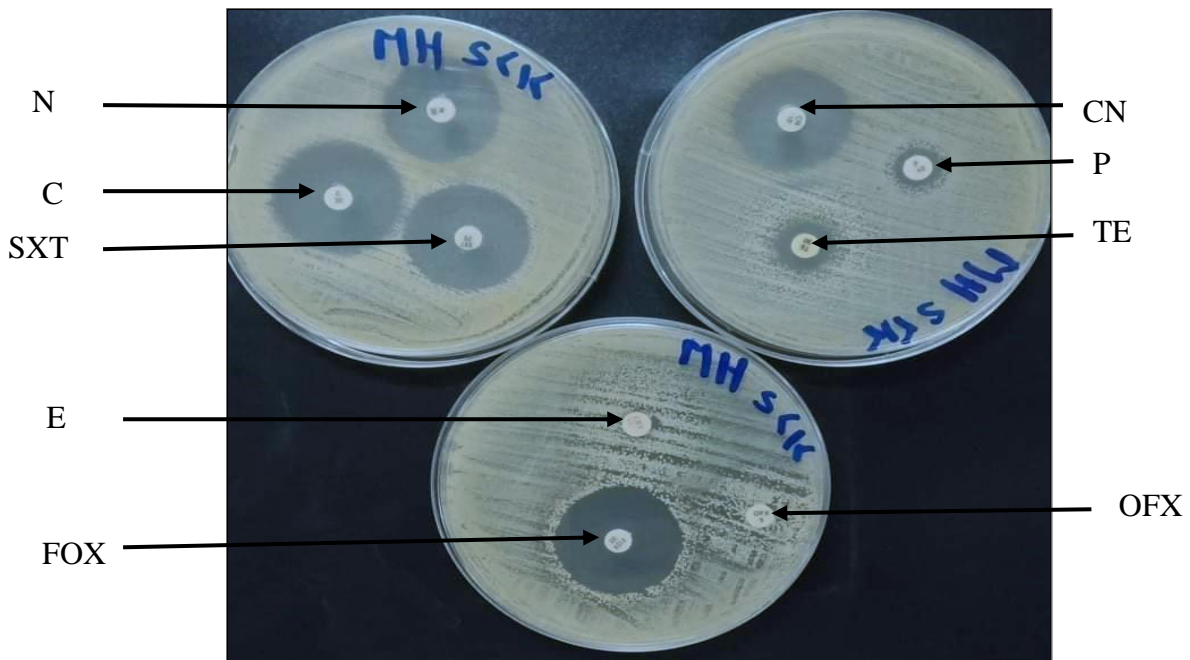
**Tableau 7:** Profil d'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées

Souche	Profil de résistance	Souche	Profil de résistance
S502	P	S548	P-OFX-ERY
S503	P	S549	P-ERY
S504	P	S550	/
S505	P	S551	/
S506	P	S552	/
S507	P	S553	P-SXT-ERY
S508	P	S554	P-N-SXT-ERY
S509	P	S555	P-N-SXT-ERY
S514	P	S556	P-SXT-ERY
S515	P-TE-OFX-ERY	S557	P-ERY
S516	P	S558	P-N-SXT-ERY
S541	P	S559	/
S542	P	S560	P-SXT-ERY
S547	P-OFX-ERY		

Dans cette étude, neuf souches (33,33%) multi-résistantes ont été isolées et quatre phénotypes de multi-résistance ont été observés. Les phénotypes de multi-résistance sont résumés dans le tableau 8.

**Tableau 8:** phénotypes de multi-résistance

Phénotypes de multi-résistance	Nombre de souches
P-TE-OFX-ERY	1
P-OFX-ERY	2
P-SXT-ERY	3
P-N-SXT-ERY	3
<b>Total</b>	<b>9</b>



**Figure 17:** profil de multi-résistance de la souche S 515 (photographie prise au laboratoire).



**Figure 18:** profil de multi-résistance de la souche S 558 (photographie prise au laboratoire).

## II.2. Discussion

Dans notre étude, la prévalence enregistrée du portage de *S.aureus* est de 7,06 %. Plusieurs études ont rapporté des taux différents de part le monde. Neela et *al* (2013) ont rapporté un taux de 1,4% (n=7 sur 503 prélèvements nasaux) en Malaisie, cette fréquence est faible comparé à celle que nous avons trouvé. En revanche, Benrabia et *al* (2020) ont annoncé un taux relativement élevé, qui est de 48,4% (n=134 sur 277) dans une étude portant sur la recherche des SARM dans la volaille en Algérie. Bakeet et Darwish (2014) ont annoncé une prévalence de l'ordre de 42.5% en Egypte.

A propos de l'antibiorésistance de nos souches, nous avons enregistré un taux de résistance très élevé vis-à-vis de la pénicilline G qui est de 85,18 %. Ce résultat concorde avec celui rapporté par Ali et *al* (2017), qui ont annoncé un taux de 93,33% à l'encontre de cette molécule, et avec celui obtenu par Bounar- Kechih et *al* (2018), qui ont enregistré une forte résistance de l'ordre de 92%.

Une résistance relativement élevée vis-à-vis de l'érythromycine a été enregistrée. Notre résultat corrobore avec celui de Bounar et *al* (2018), qui ont annoncé un taux de résistance vis-à-vis de l'érythromycine, de l'ordre de 45%. Ogundipe et *al* (2020) ont observé une faible résistance à l'encontre de cette molécule. De faibles résistances ont été enregistrées vis-à-vis les quatre antibiotiques, trimethoprim/sulfamethoxazole, néomycine, l'ofloxacine et la tétracycline. Le taux de résistance au trimethoprim/sulfamethoxazole est pratiquement identique à celui enregistré par Benrabia et *al* (2020), qui est de 26,3%. En revanche, le taux de résistance à la tétracycline (3,70%) est nettement inférieur à celui observé par Bounar- Kechih et *al* (2018). Le taux de résistance à la néomycine concorde avec celui annoncé par Nemati et *al* (2008), qui ont signalé une faible résistance de l'ordre de 17.3%. En revanche, Bounar- Kechih et *al* (2018) ont rapporté une faible résistance vis-à-vis de la même molécule. Quant à l'ofloxacine, notre résultat est plus faible que celui obtenu par Suleiman et *al* (2013), qui ont signalé une résistance de l'ordre de 57.4%. Le trimethoprim/sulfamethoxazole, la néomycine, l'ofloxacine et la tétracycline ont gardé de bonnes activités à l'encontre de nos souches isolées.

La forte résistance à la pénicilline est due probablement à la production de  $\beta$ -lactamases, enzymes inactivant la pénicilline et autres molécules appartenant à la famille des  $\beta$ -lactamines (Moroni et *al*, 2006).

L'usage des antibiotiques en production animale a trouvé son importance. En effet, en plus qu'ils sont utilisés pour traiter et prévenir contre les infections, ils sont aussi utilisés comme

facteurs de croissance, dont le but d'améliorer les performances zootechniques (Carlet et Shlemmer, 2015). Chez la volaille, la pénicilline et l'érythromycine sont les antimicrobiens largement utilisés pour le traitement des infections à staphylocoques. L'utilisation intensive d'agents antimicrobiens en élevage contribue à la sélection des souches résistantes aux antibiotiques, c'est la raison pour laquelle le taux de résistance à ces antibiotiques est élevé (Nemati et al, 2008).

Aucune résistance n'a été enregistré vis-à-vis le chloramphénicol, la gentamycine et la céfoxitine. Tandis que, Ali et al (2017) ont annoncé un taux de résistance relativement faible vis-à-vis de la gentamycine (23.33 %). Kraushaar et al (2016) ont rapporté une résistance relativement faible vis-à-vis du chloramphénicol. L'absence de résistance vis-à-vis de cette molécule pourrait s'expliquer par le fait que cette dernière est interdite en médecine vétérinaire et réservée uniquement en thérapeutique humaine.

Dans notre étude, toutes les souches isolées étaient des SARM, un résultat similaire a été observé par Neela et al (2013), qui n'a détecté aucun SARM. À l'origine, le *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) était un agent pathogène nosocomial, mais dans les années 1990, le SARM s'est propagé dans les communautés du monde entier. La détection de SARM chez la volaille dans les abattoirs peut constituer un risque pour la santé humaine, non seulement pour le consommateur mais aussi pour le professionnel (Chairat et al, 2015). La présence des SARM a été rapportée par plusieurs auteurs (Person et al, 2009 ; Bounar-Kechih et al, 2018 ; Benrabia et al, 2020).

Plusieurs études ont montré le risque associé à la présence des SARM chez les animaux d'élevage, ce qui montre que les animaux d'élevage pourraient constituer un véhicule de transmission ou un réservoir potentiel d'infections aux humains (Ross Fitzgerald, 2012). La transmission zoonotique potentielle inclut le contact direct entre l'animal et l'éleveur, mais aussi le contact de l'éleveur avec l'environnement contaminé (Locatelli et al, 2017). En effet, Wendlandt et al (2013) ont montré que des souches SARM isolées chez le poulet de chair ont pu persister dans l'élevage pour de longues périodes et les similarités entre les isolats obtenus indiquent bien la transmission de ces souches entre le poulet de chair, l'humain et l'environnement de l'élevage. En revanche, des transmissions de SARM de l'homme vers la volaille peuvent se produire. Un exemple clair, est celui de SARM ST5 qui a passé récemment de l'humain vers la volaille (Aires-de-Sousa, 2017).

Selon l’OMS, plus de la moitié des antibiotiques produits dans le monde sont destinés aux animaux. L’usage systématique de ces antibiotiques en tant que promoteurs de croissance entraîne l’apparition de bactéries multi-résistantes qui peuvent se transmettre à l’homme directement ou via la chaîne alimentaire.

Dans notre étude neuf souches (33,33%) se sont avérées multi-résistantes, avec quatre phénotypes de multi-résistance. Notre résultat ne rejoint pas celui de Vashnee et *al* (2015), qui ont annoncé un nombre plus faible de souches multi-résistantes.

## Conclusion

Le développement de la résistance aux antibiotiques constitue un problème global qui est étroitement lié au mésusage et à la surconsommation des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire. Ce phénomène peut conduire à des difficultés de prise en charge des infections humaines et animales, voir des impasses thérapeutiques, pour cela des actions de recherche, de surveillance, d'éducation sont nécessaires pour développer un usage prudent des agents antimicrobiens.

Au cours de cette étude, des souches de *S. aureus* ont été isolées à partir de poulet de chair venant de différents élevages (n=27), avec une prévalence de 7,06 %. L'étude de la résistance des isolats indique de fortes résistances vis-à-vis de la pénicilline G, et de l'érythromycine. Aucune souche SARM n'a été détectée, elles sont toutes qualifiées de SASM (100 %). En outre, neuf souches multi-résistantes ont été isolées.

Pour lutter contre l'antibiorésistance, il est donc essentiel de contrôler les réservoirs de résistance et de réduire la consommation des antibiotiques. Une étude moléculaire doit être appliquée sur les souches isolées afin de mieux les caractériser sur le plan génotypique.

# Références bibliographiques

## A

- **Aires-De-Sousa, M. 2017.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. Clin. Microb. Infect. 23, 373-80.
- **Alanis, A.J. 2005.** Resistance to antibiotics: are we in the post antibiotic era. Arch Med Res, 36, 697-705.
- **Ali, Y., Islam, M.A., Muzahid, N.H., Sikder, M.O.F., Amzad Hossain, M.A., Marzan, L.W. 2017.** Characterization, prevalence and antibiogram study of *Staphylococcus aureus* in poultry. Asian Pac J Trop Biomed. 7 (3). 253–256.
- **Alioua, M.A. 2014.** Les Staphylocoques: sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Mécilline. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar–Annaba.
- **Ananthanarayan, P. 2006.** Textbook of Microbiology. Edition Seventh, India. P-665.
- **Andrement, A., Corpet, D., Courvalin, P. 1997.** La résistance des bactéries aux antibiotiques. Pour la science, 232, 66-73.
- **Annemarie, Kuipers., Daphne, AC Stapels., Lleroy, T.Weerwind., Ya-Ping, Ko., Maartje, Ruyken., Jean C, Lee., Kok PM van Kessel, et Suzan HM Rooijackers. 2016.** La capsule polysaccharidique de *Staphylococcus aureus* et le bouclier de fibrinogène dépendant de l'Efb agissent de concert pour protéger contre la phagocytose. Microbiologie (lecture).162 (7). 1185-1194.
- **Archambaud, M. 2009.** Les antibiotiques, les principales familles. Laboratoire Bactériologie-Hygiène. CHU Rangueil Toulouse.
- **Asseray, N., Caillon, J., Roux, N., Jacqueline, C., Bismuth, R., Kergueris, M.F. 2002.** Different aminoglycoside-resistant phenotypes in a rabbit *Staphylococcus aureus* endocarditis infection model. Antimicrob Agents Chemother. 46.1591–3.
- **Avril, J.L., Dabe, M.H., Denis, F, Monteil, H. 2003.** Bactériologie clinique. 3<sup>ème</sup> édition. Ellipses, Paris. 28. 8-28.

## B

- **Barzic, A.T., Ioan, S. 2015.** Antimicrobial drugs from basic concepts to complex therapeutic mechanism of polymer systems. Edition Concepts Compounds and the Alternatives of Antibacterials.

- **Beaudry-Ferland, M. 2011.** Etude sur les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez le porc à l'abattoir au Québec, Canada. Mémoire de Maitrise de science. Département de pathologie et microbiologie. Université de Montréal.
- **Benrabia, I., Hamdi, T.M., Shehata, A.A., Neubauer, H., Wareth, G. 2020.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Poultry Species in Algeria: Long-Term Study on Prevalence and Antimicrobial Resistance. *Vet Sci.* 7(2). 54.
- **Bismuth, R., Leclercq, R. 2000.** *Staphylococcus aureus* et antibiotiques. Précis de bactériologie clinique. ESKA, Paris.
- **Boisset, S., Vandenesch, F. 2010.** Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines. In. *Staphylococcus aureus*. Le Loir, Y., Gautier, M. Tec & Doc, Lavoisier. France. p 244-268.
- **Bouhar-kéchih, S., Taha Hamdi, M., Aggad, H., Meguenni, N., Cantekin, Z. 2018.** Carriage Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Poultry and Cattle in Northern Algeria. *Veterinary Medicine International*, ID 4636121, p5.
- **Bukowski, M., Wladyka, B., Dubin, G. 2010.** Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins*, 2 (5). 1148-65.

## C

- **Carle, S. 2009.** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*. Vol 42, Supplément 2.
- **Cattoir, V. 2009.** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie*, 10 (52), 607-616.
- **Carlet, J., and Shlemmer, B. 2015.** Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France: nécessité d'une mobilisation déterminée et durable.
- **Caruso, M., Latorre, L., Santagada, G., Fraccalvieri, R., Miccolupo, A., Sottili, R., Palazzo, L., Parisi, A. 2015.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in sheep and goat bulk tank milk from Southern Italy. *Small Ruminant*. 135, 26-31.
- **Chairat, S., Gharsa, H., Lozano, C., Gómez-Sanz, E., Gómez, P., Zarazaga, M., Boudabous, A., Torres, C., and Ben Slama, K. 2015.** Characterization of *Staphylococcus aureus* from Liste des références raw meat samples in Tunisia: detection of clonal lineage ST398 from the African continent. *Foodborne Pathog. Dis.* 12, 686–692.

- **Chambers, H.F. 1997.** Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*;10. 781–91
- **Chavakis, T., Wiechmann, K., Preissner, K.T., Herrmann, M. 2005.** *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium : the role of bacterial "secretable expanded repertoire adhesive molecules" (SERAM) in disturbing host defense systems. *Thromb Haemost* 94 (2). 278-285.
- **Collomb, A. 2011.** Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* de deux lignées de souris. Thèse de doctorat. Université Paul-Bâtier de Toulouse. France.
- **Corigan, R.M., Miajlovic, H., Foster, T.J. 2009.** BMC Microbiology Article number: 22, Surface proteins That promote adherence of *Staphylococcus aureus* human desquamated nasal epithelial cells.
- **Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. 2006.** AntibioGramme. 2<sup>ème</sup> édition. Paris: ESKA.
- **Couture, B. 1990.** Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15-32.

## D

- **Daurela, C., Leclercq, R. 2008.** L'antibiogramme de *staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*, 89 36, 815-836.
- **Dinges, M.M., Orwin, P.M., Schlievert, P.M., 2000.** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 13(1). 16-34.
- **Donnio, P.Y. 2010.** Sensibilité de la bactérie aux agents bactériostatiques ou bactéricides. In. *Staphylococcus aureus*. Le Loir, Y., Gautier, M. Tec & Doc, Lavoisier. France. p 112-133.
- **Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Boisset, S., Reverdy, MÉ., Tristan, A., Vandenesch, F. 2010.** Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. *Med Sci*. 26 (11). 943 – 949.
- **Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, S., Schkeufer, KH., Stackebrandt, E. 2006.** The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme éd. ; Springer, New-York. Vol 4, Chap.1.2.1. The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*.

## E

- **EL Kouri, D., Pottier, M.A., Tre wick, D., Le Gallon, F., Baron, D. et Potel, G. 1998.** Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. Encyclopedie Médecine (Elsevier, Paris), Maladies Infectieuses. 8. 7-8.

## F

- **Fanny, V., Maher, S., Gilles, P .2008.** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Vol 38 - N° 407. P.61-69.
- **Fauchere, J.L., Avril, J.L. 2002.** Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. 213-217.
- **Faure, S. 2010.** Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamines BLA CTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impacte d'une antibiothérapie. Thèse de doctorat, université de Rennes 1.
- **Federighi, M. 2005.** Bactériologies alimentaire, compendium d'hygiène des aliments. 2em édition, Economica, Paris. p 25-50.
- **Ferron, A. 1984.** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12ème édition. Crouan et Roques, Paris. 87-94.
- **Floss, H.G., Yu, T.W. 2005.** « Rifamycins-Mode of Action, Resistance, and Biosynthesis», Chemical Review, 105 (2), 621-632.
- **Foster, T.J. 2005.** Immune evasion by staphylococci. Nat Rev Microbiol 3 (12) :948-958.
- **Foster, T.J., Hook, M. 1998.** Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol 6 (12). 484-488.

## G

- **Gaudy, C., Buxeraudj. 2005.** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Elsevier, Paris.
- **Gavin, K., Paterson., Ewan, M., Harrison., Mark, A., Holmes. 2014.** The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vol.22. p-42.
- **Genestier, A.L., Michallet, M.C., Prevost, G., Bellot, G., Challabreysse, L., Peyrol, S., Thivolet, F., Etienne, J., Lina, G., Vallette, F.M., Vandenesch, F.,**

**Genestier, L., 2005.** *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces bax-independent apoptosis of human neutrophils. *J Clin Invest* 115 (11). 3117-3127.

- **Gillet, Y., Issartel, B., Vanhems, P., Fournet, J.C., Lina, G., Bes, M., Vandenesch, F., Piemont, Y., Brousse, N., Floret, D., Etienne, J., 2002.** Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for panton-valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 359 (9308). 753-759.
- **Gordon, L., Cloeckart, A., Doublet, B., Schwarz, S., Agnès Bouju-Albert, A., Ganière, J. P., Le Bris, H., Le Fleche-Mateos, A., Giraud, E. 2008.** Complete sequence of the *floR*-carrying multiresistance plasmid pAB5S9 from freshwater *Aeromonas bestiarum*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62 65–71.
- **Gordon, R.J., Lowy, F.D. 2008.** Pathogenesis of Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases*. Vol 46.P.350-359.
- **Gravet, A., Colin, D.A., Keller, D., Girardot, R., Monteil, H., Prevost, G., 1998.** Characterization of a novel structural member, LukE-LukD, of the bi-component staphylococcal leucotoxin family *FEBS Lett* 436 (2). 202-208.
- **Guillot, J.F. 1989.** Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Elsevier, 20, 3-16.
- **Guiraud, J.P., Rosec, J.P. 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR, Paris. p 168-178.
- **Gustafson, J.E., Muthaiyan, A., Dupre, J.M., Ricke, S.C. 2015.** *Staphylococcus aureus* and understanding the factors that affect enterotoxin production in foods: à review. *Food Control*, 1-14.

## H

- **Hama, H. 2006.** Recherche des bactéries associées aux mammites subcliniques dans le lait de chèvre en Mauritanie et au Togo et détermination de leur antibiorésistance. Thèse de doctorat. Faculté des sciences et technique. Université de Dakar.
- **Harvey, J., Gilmour, A. 2000.** *Staphylococcus aureus*. In : *Encyclopedia of food Microbiology* p. 2066-2071. London : Academic press.
- **Haveri, M., Hovinen, M., Roslöf, A., Pyörälä, S. 2008.** Types moléculaires et profils génétiques de souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir d'infections

intramammaires bovines et de sites extramammaires. J Clin Microbiol ; 46 (11). 3728-35.

- **Hennekine, J.A., De Buyser, M.L., Dragacci, S .2012.** *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation, FEMS Microbiology Reviews, Volume 36, Issue 4, 815–836.
- **Hirsh, D.C., Biberstein, E.L. 2004.** *Staphylococcus* in veterinary microbiology. 2<sup>ème</sup> edition Oxford, Blackwell publishing; 153-158.

## J

- **Janzon, L., Arvidson, S. 1989.** Identification and nucleotide sequence of the delta-lysin gene, hld, adjacent to the accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. Mol Gen Genet 219 (3). 480-485.
- **Joly, B. 1989.** Données générales sur les antibiotiques, in « Biotechnologie des Antibiotiques ». Biotechnologie, Masson, Paris.
- **Joly-Guillou, M.L. 2004.** Le point sur les Staphylocoques dorés de moindre sensibilité aux glycopeptides en réanimation. Réanimation, 13; 185–189.
- **Julie, B. 2017.** Rôles coopératifs du peptidoglycane et des acides teichoïques dans le remodelage de la paroi et la division cellulaire de *Streptococcus pneumoniae*. Sciences agricoles. Université Grenoble Alpes.

## K

- **Kasten, M.J. 1999.** Clindamycin, metronidazole, and chloramphenicol. Mayo Clin Proc ; 74. 825–33.
- **Kloos, W.E., Zimmerman, R.J., Smith, R.F.1976.** Preliminary studies on the characterization and Distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. Appl Environ Microbiol. 31, 53-49.
- **Kluytmans, J., van Belkum, A., Verbrugh, H. 1997.** Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol. Rev. 10. 505-520.
- **Kraushaar, B., Ballhausen, B., Leeser, D., Tenhagen, B.A., Käsbohrer, A., Fetsch, A. 2016.** Antimicrobial resistances and virulence markers in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from broiler and turkey: A molecular view from farm to fork. Veterinary Microbiology. 200. 25-32.

## L

- **Leclercq, R. 2002.** Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis.* 34. 482–92.
- **Leclercq, R., Daurel, C. 2008.** Infection à pneumocoque et à *Staphylococcus aureus*. L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires.* N°407. 82-83.
- **Leclercq, R. 2012.** In *Antibiogramme*. Courvalin P et Leclercq R. 3<sup>ème</sup> édition. Page 319.
- **Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. 2003.** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 31;2(1). 63-76.
- **Le loir, Y., Gautier, M. 2010.** *Staphylococcus aureus*. Tec & Doc, EMinter, Lavoisier. France. P 252.
- **Le Minor, L., Veron, M. 1990.** *Bactériologie Médicale« Staphylococcus et Micrococcus»* J. Fleurette 2<sup>ème</sup> édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 3. 773- 794.
- **Locatelli, C., Cremonesi, P., Caprioli, A., Carfora, V., Ianzano, A., Barberio, A., Morandi, S., Casula, A., Castiglioni, B., Bronzo, V. and Moroni P. 2017.** Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cattle herds, related swine farms, and humans in contact with herd. *J. Dairy Sci.* 100. 1–12.
- **Lowry, F. D. 2003.** Antimicrobial Resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation*, 111, 1265-1273
- **Lozniewski, A., Rabaud, C. 2010.** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseil pour la prévention du risque sanitaire-infections associées aux soins. *CCLIN.* 5(12). 958-65.

## M

- **Macias, E.S., Pereira, F.A., Rietkerk, W., Safai, B. 2011.** « Superantigens in Dermatology », *J Am Acad Dermatol*, 64 (3), 455-472.
- **Madigan, M., Matinko, J. 2007.** *Biologie des microorganismes*. De Boeck 11<sup>ème</sup> éd., Pearson éducation, Paris. M.

- **Mainardi, J.L. 2015.** Mécanisme d'action et de résistance aux antibiotiques : session interactive autour de l'antibiogramme». Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou et Faculté de Médecine Paris René DESCARTES.
- **Mattsson, E., Heiko, H., Lars, B., Arne, E .2002.** Peptidoglycan from *Staphylococcus aureus* induces tissue factor expression and procoagulant activity in human monocytes. Infect Immun. 70(6). 3033-9.
- **Menzies, B.E. 2003.** The role of fibronectin binding proteins in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infections. Current Opinion Infectious Diseases, 16 (3), 225-229.
- **Miles, G., Jayasinghe, L., Bayley, H. 2006.** Assembly of the bi-component leukocidin pore examined by truncation mutagenesis. J Biol Chem 281 (4). 2205-2214.
- **Mohammed, A.A. 2014.** Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de doctorat; p 69.
- **Mohammad, F.K. 2017.** Bref historique de *Staphylococcus aureus* : un accent sur la résistance aux antibiotiques. EC Microbiology. Vol 5 Num2 .p-36-39.
- **Mollby, R. 1983.** Isolation and properties of membrane demmaging toxins. In "Staphylococci and staphylococcal infections", CSF Easmon and C.Adlam (ed), Academic Press, London. 2. 619-669.
- **Morandi, S., Brasca, M., Lodi, R., Brusetti, L., Andrighetto, C., Lombardi, A. 2010.** Research in Veterinary Science : Biochemical profiles, restriction fragment length polymorphism (RFLP), random amplified polymorphic DNA (RAPD) and multilocus variable number tandem repeat analysis (MLVA) for typing *Staphylococcus aureus* isolated from dairy products. 88(3). 427-35.
- **Moroni, P., Pisoni, G., Antonni, M., Villa R., Boettcher, P., Carli, S. 2006.** Short communication : Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. Journal of Dairy Science, 89. 2973-2976.
- **Muyiwa, A.A., Kumar, A., Ateba, C.N. 2015.** Genetic characterization of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* from milk in the North-West Province, South Africa. Saudi Journal of Biological Sciences. 25(7).1348-1355.

- **Muylaert, A., Mainil, J.G. 2012.** Résistance bactérienne aux antibiotiques : les mécanismes et leur contagiosité. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156, 109-123.
- **Myles, I.A., Datta, S.K. 2012.** *Staphylococcus aureus*: an introduction. *Semin Immunopathol.* 34 (2). 181-4.

## N

- **Neela, V., Ghaznavi-Rad, E., Ghasemzadeh- Moghaddam, H., Nor Shamsudin, M., Belkum, A., Karunanidhi, A. 2013.** Frequency of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the noses of Malaysian chicken farmers, and their chicken. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University*, 14. 226-231.
- **Nemati, M., Hermans, K., Lipinska, U., Denis, O., Deplano, A., Struelens, M. 2008.** Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrob Agents Chemother*, 52 (10). 3817-3819.
- **Neuhaus, F.C., James., B (2003).** « A continuum of anionic charge : structures and functions of D-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria. » In : *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67.4, p. 686–723.

## O

- **Ogundipe, F.O., Ojo, O.E., Febler, A.T., Hanke, D., Awoyomi, O.J., Ojo, D.A., Akintokun, A.K., Schwarz, S., Maurischat, S. 2020.** Methicillin resistant *staphylococcus aureus* antimicrobial resistance and virulence from human, chicken and environmental samples at live bird markets in three Nigerian cities. *Antibiotics.* 9(9). 588.

## P

- **Pancholi, V. 2002.** « Staphylococcal Extracellular/ Surface Enzymatic Activity », in « *Staphylococcus aureus* Infection and Disease », Kluwer Academic Publishers, New York.
- **Pascale, L. 2014.** Antibiotiques : modes d'action, mécanismes de la résistance, pharmacien, Paris.

- **Persoons, D., Van Hoorebeke, S., Hermans, K., Butaye, P., De Kruif, A., Haesebrouck, F., and Dewulf, J. 2009.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry. *Emerg. Infect.*
- **Piddock, L.J.V. 1999.** « Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance : An Update 1994- 1998 ». *Drugs*, 58, 11-18.
- **Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D., Bacq-Calberg, C.M., Dusart, J. 2002.** *Microbiologie*, 5<sup>ème</sup> édition, De Boeck.
- **Prevost, G. 2004.** Toxins in *staphylococcus aureus* pathogenesis .proft (Ed), *Microbial toxins : molecular and cellular biology*, Horizon bioscience, 243-284.
- **Prevost, G., Cribier, B., Couppie, P., Petiau, P., Supersac, G., Finck, B.V., Monteil, H., Piemont, Y. 1995.** Panton-valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distincts genetic loci and have different biological activities. *Infect immun* 63 (10). 4121-4129.
- **Putman, M., van Veen, H.W., Konings, W.N. 2000.** Molecular properties of bacterial multidrug transporters. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 672–693.

## R

- **Redgrave, L.S., Sutton, S.B., Webber, M.A., Piddock, L.J.2014.** Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol.* 22(8). 43845.
- **Ross Fitzgerald, J. 2012.** Livestock-associated *Staphylococcus aureus* : origin, evolution and public health threat. *Trends Microbiol*, 20(4), 192-198.
- **Ruppitsch, W., Indra, A., Stoger, A., Mayer, B., Stadlbauer, S., Wewalka, G., Allerberger, F. 2006.**Classifying spa types in complexes improves interpretation of typing results for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 44 (7). 2442-2448.

## S

- **Sharif, S., Singh, M., Kim, SJ et Schaefer, J.2009.** Structure tertiaire du peptidoglycane de *Staphylococcus aureus* à partir de la diffusion de spin du carbone 13. *Journal de l'American Chemical Society*, 131 (20), 7023–7030.

- **Singleton, P. 2005.** Bactériologie pour la médecine, la Biologie et les biotechnologies, 6ème éd., Dunod, Paris.
- **Smeltzer, H.N., Hart ME MS., Lee, C.Y. 2009.** Base moléculaire de la pathogénicité, in *Staphylococci in Human Disease*, 2nd Edn, eds Crossley KB, Jefferson K., Archer GL, Fowler VG (Singapour: Wiley-Blackwell;), 65–108.
- **Smith, A.J., Jackson, M.S., Bagg, J. 2001.** The ecology of *staphylococcus* species in the oral cavity. *J Med Microbiol* ; 50, p940-946.
- **Smith, T. L., Pearson, M. L., Wilcox, K.R., Cruz, C., Lancaster, M.V. 1999.** Emergence of vancomycine Resistance in *Staphylococcus aureus*. For glycopeptides-Intermediate *Staphylococcus aureus*. Volume 340 N°7, *New Engl. J. Med.* 1999; 340 (7). 493-501.
- **Soares, M.J., Tokumaru-Miyazaki, N.H., Noletto, A.L., Figuiereado, A.M. 1997.** Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* clones and detection of brazilian epidemic MRSA clone (III : B : A) among isolates from food handlers .*J Med Microbiol* ; 46. 214-221.
- **Song, L., Hobaugh, M.R., Shustak, C., cheley, S., Bayley, H., Gouaux, J.E. 1996.** Structure of staphylococcal alpha-hemolysin, a heptameric transmembrane pore. *Science* 274 (5294). 1859-1866.
- **Subhankari Prasad Chakraborty., Panchanan Pramanik., Somenath Roy .2012.** A review on- emergence of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and role of chitosan nanoparticle in drug delivery. *International Journal of Life science and Pharma.* Vol 2 issue 1. p-97.
- **Suleiman, A., Zaria, L.T., Grema, H.A., Ahmadu, P. 2013.** Antimicrobial resistant coagulase positive *Staphylococcus aureus* from chickens in Maiduguri, Nigeria. *Suleiman. Sokoto Journal of Veterinary Sciences.* 11(1). 51-55.

## T

- **Tally, F.P. 1993.** « Les Staphylocoques : Abscesses et Autres Maladies », in « Microbiologies et Pathologies Infectieuses », DeBoeck, Paris.

- **Tankovic, J., Aubry-Damon, H., Leclercq, R. 1997.** Résistance aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. Méd Mal Infect. 27, Spécial. 207-16.
- **Tenover, F.C. 2006.** Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. The American Journal of Medicine, vol 119, 3-10.
- **Tomasz, A., Oliveira, D.C., Lencastre, H. 2002.** Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet Infect Dis; 2. 180-9.

## V

- **Vashnee, G., Evelyn, M., Kudakwashe, M., Geoffrey, F., Lazarus, K. 2015.** Prevalence and risk factors contributing to antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from poultry meat products in South Africa.
- **Verdier, I., Lina, G., Gillet, Y., Vandenesch, F. 2000.** cours de bactériologie : *Staphylococcus* centre national de référence des staphylocoques INSERM E 0230, Faculté de médecine .Laennec. Lyon, Service de pédiatrie, hôpital Edouard Herriot, Lyon.
- **Vincenot, F., Saleh, M., Prevost, G. 2008.** « Les Facteurs de Virulence de *Staphylococcus aureus* », Revue Francophone des Laboratoires, 407, 61-69.

## W

- **Wadström, T.1983.** Biological effects of cell demmaging toxins. In "staphylococci and staphylococcal in infections" CSF Easmon and C. Adlam (ed). Academic Press, London. 2. 671-704.
- **Wendlandt, S., Kadlec, K., Fessler, A.T., Mevius, D., Van Essen-Zandbergen, A., Hengeveld, P.D., Bosch, T., Schouls, L., Schwarz, S., Van Duijkeren, E. 2013.** Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates on broiler farms. Vet. Microbiol, 27, 167(3-4) 632-627

## Y

- **Le Loire, Y., Gautier, M. 2010.** *Staphylococcus aureus*. Editions TEC & DOC, Eminter, Lavoisier, France. P 4-7.
- **Yamasaki, O., Yamaguchi, T., Sugai, M., Chapuis-Cellier, C., Arnaud, F., Vandenesch, F., Etienne, J., Lina, G. 2005.** Clinical manifestation of staphylococcal scalded-skin syndrome depends on serotypes of exfoliative toxins. *J Clin Microbiol* 43 (4). 1890-1893.
- **Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D., Ouar Koriche, M.N. 2001.** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n°91.

## Z

- **Zhou, W., Shan, W., Ma, X., Chang, W., Zhou, X., Lu, H., et Dai, Y. 2012.** «Molecular Characterization of Rifampicin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates in a Chinese Teaching Hospital from Anhui, China », *BMC Microbiology*, 12 (240), 1-5.

# Annexes

**Annexes 01** : Milieux de culture utilisés et leur composition

### ❖ **Gélose de Baird-Parker**

Peptone pancréatique de caséine.....	10 g
Extrait de levure.....	1 g
Extrait de viande.....	5 g
Pyruvate de sodium.....	10 g
Li Cl.....	5 g
Glycine.....	12 g
Gélose.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

ph = 6,8. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes.

#### • **Préparation de l'émulsion de jaune d'œuf**

- Utiliser des œufs frais de poule dont la coquille est intacte.
- Nettoyer les œufs avec une brosse et un détergent liquide, puis rincer à l'eau courante.
- Désinfecter l'œuf en le plongeant dans une solution d'éthanol à 70% pendant 30s, puis les laisser sécher à l'air libre ou réaliser un flambage.
- Aseptiquement, casser chaque œuf et séparer le blanc du jaune par transferts répétés de demi-coquille à l'autre.
- Recueillir les jaunes d'œufs dans un récipient stérile et compléter avec quatre fois leur volume d'eau distillée stérile. Homogénéiser vigoureusement.
- Chauffer le mélange à 47°C pendant 2h.
- Entreposer à 3°C ± 2°C pendant 18 à 24h, le temps nécessaire pour la formation d'un précipité.
- Recueillir stérilement dans un flacon le surnageant constituant l'émulsion (Durée de conservation est au maximum 72h à 3°C ± 2°C).

#### • **Composition du milieu complet**

Milieu de base (Baird- Parker).....	100ml
Solution de tellurite de potassium.....	1ml
Émulsion de jaune d'œuf.....	5ml

### ❖ **Gélose BHI (Brain Heart Infusion)**

Composition en g/l

Peptone pancréatique de gélatine.....	10
Chlorure de sodium.....	5
Phosphate disodique.....	2.5
Glucose.....	2

PH du milieu prêt à l'emploi 7.4 +/- 0.2 à 25°C

**Préparation :** mettre en solution 37g de milieu BHI déshydraté dans 1l d'eau distillée. Agiter lentement jusqu'à dissolution complète, répartir le milieu dans des flacons puis stériliser à l'autoclave pendant 15 minute à 120°C.

Pour l'obtention du milieu BHI on ajoute 15g d'agar bactériologique dans 1l de bouillon BHIB lors de sa préparation.

### ❖ **Gélose à ADN**

Composition en g/l

Peptone de viande.....	20
Acide désoxyribonucléique.....	0.2
Chlorure de sodium.....	0.5
Agar.....	18

PH du milieu prêt à l'emploi 7.3 +/- 0.2 à 25°C.

**Préparation :** dissoudre 45g de poudre dans 1l d'eau distillée puis stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

### ❖ **Milieu Mueller-Hinton**

Composition en g/l

Amidon.....	1.5
Infusion de bœuf.....	2.0
Agar bactériologique.....	17.0

Peptone de caséine acide.....17.5

PH du milieu prêt à l'emploi 7.4 +/- 0.2 à 25°C.

**Préparation :** mettre en suspension 38g de milieu déshydraté dans 1l d'eau distillée. Bien agiter, faire bouillir pendant 1 minute puis stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C. Laisser refroidir jusqu'à atteindre 40-45°C.

**Annexes 02 :** Résultats des tests biochimiques sur l'ensemble des colonies caractéristiques

	<b>DNase</b>	<b>Coagulase</b>	<b>Code</b>
<b>C2E7E1P</b>	(+)	(+)	S503
<b>C3E7E1P</b>	(+)	(+)	S504
<b>C2E20E1P</b>	(+)	(-)	/
<b>C1E13E1P</b>	(+)	(+)	S502
<b>C1E17E3P</b>	(-)	NT	/
<b>C1E20E1P</b>	(+)	(+)	S509
<b>C2E14E1P</b>	(+)	(+)	S508
<b>C2E17E1P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E11E1P</b>	(+)	(+)	S505
<b>C3E17E1P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E13E1P</b>	(+)	(+)	S507
<b>C1E7E1P</b>	(+)	(+)	S506
<b>C1E17E1P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E12E1P</b>	(+)	(+)	S515
<b>C3E13E1P</b>	(+)	(+)	S516
<b>C1E12E1P</b>	(-)	NT	/
<b>C1E16E3P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E17E3P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E16E3P</b>	(+)	(-)	/
<b>C1E14E1P</b>	(+)	(+)	S514
<b>C1E11E1P</b>	(-)	NT	/
<b>C3E11E1P</b>	(+)	(-)	/
<b>C1E18E1P</b>	(-)	NT	/

**Suite de l'annexe 02**

<b>C4E9E5P</b>	(-)	NT	/
<b>C1E15E6P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E11E4P</b>	(-)	NT	/
<b>C1E2E4P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E15E6P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E9E5P</b>	(+)	(+)	S542
<b>C3E9E5P</b>	(+)	(+)	S541
<b>C1E9E5P</b>	(-)	NT	/
<b>C3E1E4P</b>	(+)	(-)	/
<b>C1E1E4P</b>	(+)	(+)	S547
<b>C2E1E4P</b>	(+)	(+)	S548
<b>C3E6E11P</b>	(+)	(+)	S549
<b>C3E8E8P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E4E10P</b>	(+)	(+)	S550
<b>C4E6E11P</b>	(+)	(+)	S558
<b>C4E9E11P</b>	(+)	(-)	/
<b>C4E9E11P</b>	(+)	(-)	/
<b>C1E6E11P</b>	(+)	(+)	S560
<b>C3E4E10P</b>	(+)	(+)	S559
<b>C2E8E8P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E7E11P</b>	(+)	(-)	/
<b>C1E8E8P</b>	(+)	(-)	/
<b>C3E7E11P</b>	(+)	(-)	/
<b>C1E4E10P</b>	(+)	(+)	S551
<b>C3E5E11P</b>	(+)	(+)	S557
<b>C4E4E10P</b>	(+)	(-)	/
<b>C2E5E11P</b>	(+)	(+)	S552
<b>C2E6E11P</b>	(+)	(+)	S554
<b>C2E9E11P</b>	(+)	(+)	S553
<b>C3E9E11P</b>	(+)	(+)	S555
<b>C1E9E11P</b>	(+)	(+)	S556

(+) : test positif ; (-) : test négatif ; **NT** : non testé ; **C** : colonie ; **E** : Echantillon ; **E** : Elevage ; **P** : Poulet ; **E1** : Ait Aissa Mimoune ; **E3** : Ouadhias ; **E4** : Tizi Rached ; **E5** : Ait Aissa Mimoune ; **E6** : Irdjen ; **E8** : Ouaguenoun ; **E10** : Tizi Ouzou ; **E11** : Ouaguenoun

**Annexes 03** : Valeurs des diamètres de zone d'inhibition selon le CLSI et la CASFM.

Famille	Antibiotique	Diamètre critique			Références
		Sensible	Intermédiaire	Résistant	
<b>β-lactamines</b>	Pénicilline G	≥ 29	-	< 28	CLSI 2018
	Céfoxitine	≥ 22	-	≤ 21	CLSI 2018
<b>Aminoglycosides</b>	Gentamycine	≥ 15	13-14	≤ 12	CLSI 2018
	Néomycine	≥ 18	-	< 18	CASFM 2018
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	≥ 23	14-22	≤ 13	CLSI 2018
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline	≥ 19	15-18	≤ 14	CLSI 2018
<b>Quinolones</b>	Ofloxacine	≥ 18	15-17	≤ 14	CLSI 2018
<b>Phénicols</b>	Chloramphénicol	≥ 18	13-17	≤ 12	CLSI 2018
<b>Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique</b>	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	≥ 16	11-15	≤ 10	CLSI 2018

**Annexe 04:** Résultats détaillés de l'antibiogramme pour chaque souche de *S. aureus* isolée

prélèvements	Souches	P	N	C	TE	OFX	SXT	CN	FOX	ERY
Premier	C1E13E1P-S502	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C2E7E1P-S503	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C3E7E1P-S504	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C2E11E1P-S505	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C1E7E1P-S506	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C2E13E1P-S507	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C2E14E1P-S508	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C1E2OE1P-S509	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C1E14E1P-S514	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C2E12E1P-S515	R	S	S	R	R	S	S	S	R
	C3E13E1P-S516	R	S	S	S	S	S	S	S	S
Deuxième	C3E9E5P-S541	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C2E9E5P-S542	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C2E1E4P-S547	R	S	S	S	R	S	S	S	R
	C1E1E4P-S548	R	S	S	S	R	S	S	S	R
Troisième	C3E6E11P-S549	R	S	S	I	S	I	S	S	R
	C2E4E10P-S550	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C1E4E10P-S551	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C4E4E10P-S552	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C2E6E11P-S553	R	S	S	I	S	R	S	S	R
	C2E5E11P-S554	R	R	S	I	S	R	S	S	R
	C3E9E11P-S555	R	R	S	I	S	R	S	S	R
	C1E9E11P-S556	R	S	S	I	S	R	S	S	R
	C3E5E11P-S557	R	S	S	I	S	S	S	S	R
	C4E6E11P-S558	R	R	S	S	S	R	S	S	R
	C3E4E10P-S559	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C1E6E11P-S560	R	S	S	I	S	R	S	S	R	

**Annexe 05** : Valeurs des diamètres d'inhibition des souches de *S. aureus* isolées

<b>Prélèvement</b>	<b>Souches</b>	<b>P</b>	<b>N</b>	<b>C</b>	<b>TE</b>	<b>OFX</b>	<b>SXT</b>	<b>CN</b>	<b>FOX</b>	<b>ERY</b>
<b>Premier</b>	<b>C1E13E1P-S502</b>	6	27	29	30	28	34	24	25	30
	<b>C2E7E1P-S503</b>	6	26	26	30	28	34	24	27	28
	<b>C3E7E1P-S504</b>	6	25	28	29	28	33	25	28	31
	<b>C2E11E1P-S505</b>	12	19	27	28	28	23	21	28	28
	<b>C1E7E1P-S506</b>	13	28	27	28	28	24	21	34	27
	<b>C2E13E1P-S507</b>	18	21	27	33	29	26	22	27	29
	<b>C2E14E1P-S508</b>	17	20	28	26	29	22	21	28	27
	<b>C1E20E1P-S509</b>	18	20	28	27	29	21	22	28	26
	<b>C1E14E1P-S514</b>	20	26	30	25	24	30	18	35	27
	<b>C2E12E1P-S515</b>	10	26	28	13	6	28	26	28	6
	<b>C3E13E1P-S516</b>	12	25	28	24	23	29	23	27	28
<b>Deuxième</b>	<b>C3E9E5P-S541</b>	20	19	25	28	29	26	20	27	27
	<b>C2E9E5P-S542</b>	19	18	26	28	27	27	21	25	28
	<b>C2E1E4P-S547</b>	20	26	28	30	9	29	27	38	6
	<b>C1E1E4P-S548</b>	22	26	33	34	8	30	28	39	6
	<b>C3E6E11P-S549</b>	13	20	27	15	21	15	25	29	9
<b>Troisième</b>	<b>C2E4E10P-S550</b>	38	22	27	27	28	29	24	29	30
	<b>C1E4E10P-S551</b>	42	23	29	28	29	29	20	28	34
	<b>C4E4E10P-S552</b>	40	20	28	28	27	26	20	29	30
	<b>C2E6E11P-S553</b>	13	18	30	17	21	6	16	27	6
	<b>C2E5E11P-S554</b>	13	16	32	17	21	6	16	26	8
	<b>C3E9E11P-S555</b>	13	17	26	15	21	6	17	25	9
	<b>C1E9E11P-S556</b>	12	18	25	15	23	6	19	24	12
	<b>C3E5E11P-S557</b>	13	18	30	17	22	15	22	27	6
	<b>C4E6E11P-S558</b>	13	15	30	19	20	6	18	28	8
	<b>C3E4E10P-S559</b>	32	20	24	25	27	25	20	26	30
<b>C1E6E11P-S560</b>	15	19	30	18	22	6	18	26	8	