

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

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Portage nasal de *Staphylococcus aureus* chez les caprins et résistance des isolats aux antibiotiques

Présenté par :

- YEFSAH Dehbia
- TAMAIRT Nada

Soutenu le 13 /07/2021 devant le jury :

- Président : Mr AMROUCHE T., Professeur à l'UMMTO
- Encadrant : Mr TITOUCHE Y., MCA à l'UMMTO
- Examinatrice : Mlle ASMANI K., MCA à l'UMMTO

Promotion : 2020/2021

Remerciements

On remercie avant tous, Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes les longues années d'études afin qu'on puisse arriver là.

Nous tenons à témoigner toute notre reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

Tout d'abord, ce travail n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr TITOUCHE Y, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils. On ne vous remercie jamais assez.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions durant nos années d'étude.

Aux membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous voudrions exprimer notre reconnaissance envers les amis et camarades qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de notre démarche.

Nos parents, nos frères et sœurs pour leur soutien constant et leurs encouragements.

Dédicace

Je dédie ce travail ;

A toi maman, à qui j'ai envie d'exprimer toute ma gratitude, toi qui m'a épauler et aider dans les pires moments. Merci d'avoir toujours cru en moi.

A ton âme papa, toi qui m'a appris la persévérance et la patience, aujourd'hui je le dit avec fierté cela n'est que le fruit de ton éducation, ta confiance et ton amour.

A vous, mon cher frère et mes chères sœurs, merci pour votre soutien et votre bienveillance.

A toi ma sœur Ferroudja et le père de ma binôme qui nous ont accompagnés durant les prélèvements, un grand merci pour vous.

A ma famille, grands et petits.

A mon binôme et mon amie Nada, et à tous mes amis qui ont fait de ma vie d'étudiante un énorme plaisir. Ainsi que toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près pour réaliser ce travail.

A mon promoteur Mr TITOUCHE, qui a été à la hauteur et qui excellait dans l'exercice de son métier et nous soutenait scientifiquement, pratiquement et moralement. Merci d'être un bel exemple pour nous, mes respects.

Dehbia

Dédicace

Au nom d'Allah, le plus puissant et le plus grand merci lui revient de m'avoir aidé tout au long de mes années d'études.

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

A mon très cher père, de tous les pères tu as toujours été le meilleur, tu n'as pas cessé de me soutenir et de m'épauler durant toutes mes années d'études notamment lors de la réalisation des prélèvements de mon mémoire, merci papa.

À la plus merveilleuse des mamans et mon enseignante, qui m'as toujours soutenus et m'as bénie par ses prières, merci d'être plus qu'une mère pour moi, ma confidente, mon amie, ma sœur, ma boussole quand je perds le nord, merci maman.

Aux personnes les plus chers à mon cœur, mes frères Walid et Rayane, Je vous aime et je vous souhaite un avenir plein d'essor et de réussite.

A mon binôme et amie Dehbia.

Nada

Résumé

Staphylococcus aureus est un habitant naturel de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud, qui constituent ses principaux réservoirs. L'objectif de notre étude, est de déterminer la prévalence de *Staphylococcus aureus* en portage nasal chez les caprins, et d'étudier le profil de résistance des souches isolées afin de prévoir l'existence des SARM. Pour cela, 174 prélèvements ont été réalisés à partir de neuf élevages laitiers et soumis à la recherche et l'identification de *S. aureus*, dont 168 prélèvements nasaux et 6 échantillons du lait. Sur l'ensemble des échantillons analysés, 32 (18.39%) étaient contaminés par le *S. aureus*, dont 31 (18.45%) prélèvements nasaux et un prélèvement du lait (16.66%). La résistance des souches isolées vis-à-vis les antibiotiques a révélé une résistance relativement élevée, qui est de l'ordre de 49,12%. En revanche, de faibles résistances vis-à-vis les autres molécules ont été observées, deux souches SARM ont été isolées, soit une prévalence de 3.51%.

Les résultats de cette étude révèlent, le risque sanitaire et zoonotique associé à la présence des SARM dans la muqueuse du nasopharynx des caprins. L'élaboration d'un programme de prévention, basé sur l'application de bonnes pratiques d'hygiène et sur le dépistage continu du portage nasal, est le moyen efficace pour contrôler la diffusion des SARM à travers la chaîne de production.

Mots clés : *S. aureus*, portage nasal, résistances aux antibiotiques, SARM.

Abstract

Staphylococcus aureus is a natural inhabitant of the skin and mucous membranes of humans and warm-blooded animals, which are its main reservoirs. The objective of our study is to determine the prevalence of *Staphylococcus aureus* in nasal carriage in goats, and to determine the resistance profile of the isolates in order to predict the presence of MRSA. For this purpose, 174 samples were taken from nine goat farms, and submitted for the detection and identification of *S. aureus*. These samples included 168 nasal samples and 6 milk samples. Out of 174 collected samples, 32 (18.39%) were contaminated by *S. aureus*, including 31 (18.45%) nasal samples and one milk sample (16.66%). 57 strains of *S. aureus* were isolated with a prevalence of 18.45%. The susceptibility of strains was revealed a high resistance against penicillin G, with a rate of 49.12%. However, low resistances were observed for the other antibiotic molecules.

The results of this study reveal health and zoonotic hazards associated with the presence of MRSA in the mucosa healthy carriers of goats. The development of a prevention program, based on the application of good hygienic practices and continuous screening of nasal carriage, is the most effective way to control the spread of MRSA through the production chain.

Key words: *S. aureus*, nasal carriage, antibiotic resistance, MRSA.

Résumé

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Aperçu général sur le *Staphylococcus aureus*

I.1. Historique	4
I.2. Position taxonomique et classification	5
I.3. Habitat	7
I.4. Epidémiologie.....	8
I.5. Caractères bactériologiques	9
I.5.1. Morphologie.....	9
I.5.2 Caractères cultureux.....	9
I.5.3 Caractères biochimiques	9
I.6. Pouvoir pathogène et mode de transmission	11

Chapitre II : Facteurs de virulence staphylococciques

II.1. Composants de la paroi.....	13
II.1.1. Peptidoglycane.....	13
II.1.2. Acide téichoïque	13
II.1.3. Capsule	13
II.2. Protéines de surface	13
II.2.1 Adhésines ancrées dans la paroi (MSCRAMMs).....	13
II.2.2. Adhésines sécrétées (SERAMs)	14
II.2.3. La protéine A	14
II.3. Substances élaborées par le <i>Staphylococcus aureus</i>	15
II.3.1. Toxines	15

II.3.1. Les hémolysines	15
II.3.1.2. Leucotoxines de Panton Valentine (PLV)	16
II.3.1.3. Exofoliatine (ou épidermolysine)	17
II.3.1.4. Entérotoxines Staphylococciques	18
II.3.2. Toxines pyogeniques (superantigène)	19
II.3.2. Enzymes	20
II.3.2.1. Coagulas libre	20
II.3.2.2. Fibronolysine ou Staphylokinase.....	20
II.3.2.3. Désoxyribonucléase thermostable	21
II.3.2.4. Protéases	21
II.3.2.5. Catalase.....	21
II.3.2.6. Lipases	22
II.3.2.7. Hyaluronidase	22
II.3.2.8. Lysozyme.....	22

Chapitre III : La résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques.

III.1. Définition de l'antibiotique	23
III.2. Résistance aux antibiotiques	23
III.3. Supports génétiques de la résistance	23
III.3.1. Résistance naturelle	23
III.3.2. Résistance acquise	24
III.4. Modes de résistances des bactéries aux antibiotiques	24
III.4.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	24
III.4.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique.....	25
III.4.3. Pompes à efflux	25
III.4.4. Réduction de la perméabilité cellulaire	25
III.5. Mécanismes de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> vis à vis de certains Antibiotiques	26

III.5.1. Résistance aux aux β -lactamines	26
III.5.2. Résistance aux Glycopeptides	27
III.5.3. Résistance aux aminosides	29
III.5.4. Résistance aux tétracyclines	30
III.5.5. Résistance aux sulfamides	30
III.5.6. Résistance aux rifamycines.....	30
III.5.7. Résistance à l'acide fusidique.....	31
III.5.8. Résistance aux fluoroquinolones.....	31
III.5.9. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS).....	31

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Objectifs de l'étude.....	34
I.2. Matériel.....	34
I.2.1. Matériels de laboratoire.....	34
I.2.2. Matériels de prélèvement	34
I.2.3. Milieux de culture et réactifs.....	34
I.2.4. Matériel biologique	35
I.3. Méthodes.....	35
I.3.1. Durée et lieu de l'étude	35
I.3.2. Types et natures des prélèvements	35
I.4. Protocole expérimental	36
I.4.1. Collecte des prélèvements.....	36
I.4.2 Analyse des échantillons.....	37
I.4.3. Identification biochimique de <i>S. aureus</i>	38
I.4.3.1 Mise en évidence de la catalase	38
I.4.3.2. Mise en évidence de l'ADNase.....	38
I.4.3.3. Mise en évidence de la coagulase	39
I.4.3.4. La résistance des souches isolées aux antibiotiques	39
I.4.3.5. Conservation des souches identifiées.....	41

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Résultats.....	42
II.1.1. Prévalence de <i>S. aureus</i>	42
II.1.1.2 La résistance des <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	43
II.1.1.3. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)	44
II.1.4. Profils de multi-résistances des souches de <i>S. aureus</i> isolées	45
II.2. Discussion.....	47
Conclusion.....	50
Références	51
Annexe	66

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ADAM10	Adisintegrin and metalloproteinase domain- containing protein 10
ARN	Acide ribonucléique
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique
ATCC	American Type Culture Collection
Bap	Biofilm associated proteins
BHIB	Bouillon cœur-cervelle
BP	Baird Parker
CASFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration minimale inhibitrice
Cna	Collagen binding protein
CPA	Cellules présentatrice d'antigène
CTS	Centre de transfusion sanguine
DHPS	Dihydroptéroate synthase
Eap	Extracellular adherence protein
Efb	Extracellular fibrinogen binding protein
Emp	Extracellular matrix binding protein
Fbp	Protéines liant la fibronectine
Fcγ	Fragment constant des immunoglobulines de classe G
IgG	Immunoglobulines de classe G
IgM	Immunoglobulines de classe M
LukF-PV	Fast eluted Panton Valentine

Suite de la liste des abréviations

LukS-PV	Slow eluted Panton Valentine
MDR	Multiple-drug-resistance
MH	Mueller Hinton
MLS	Macrolides, Lincosamides, Streptogramines
MSCRAMM	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
ORL	Oto-rhino-laryngologie
PABA	L'acide para-nitrobenzoïque
PLV	Leucocidine de Panton-Valentine
PLP	Protéines liant les pénicillines
PLP2a	Protéine liant les pénicillines 2a
PM	Poids moléculaire
QRDR	Quinolone resistance determinant region
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méticilline
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensibles à la méticilline
SCC_{mec}	Cassette chromosomique staphylococcique <i>mec</i>
SCN	Staphylocoques à coagulase négatif
SCP	Staphylocoques à coagulase positive
SE	Staphylococcal enterotoxin
SEL	Staphylococcal enterotoxin-like toxin
SERAMs	Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules
TCR	Récepteur des lymphocytes T
TIA	Toxi infection alimentaire
TSST	Toxic Shock Syndrome Toxin

Suite de la liste des abréviations

TSYEA	Tryptone Soja Yeast Extract Agar
VISA	<i>S. aureus</i> à résistance intermédiaire vis-à-vis de la vancomycine
VRE	<i>Enterococcus faecalis</i> résistant à la vancomycine
VRSA	<i>S. aureus</i> résistant à la vancomycine

Listes des figures

Figure 1	Observation de <i>S. aureus</i> sous microscope électronique à balayage au GX34000	9
Figure 2	Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> .	12
Figure 3	Mécanisme d'action de la protéine A de <i>S. aureus</i> .	15
Figure 4	Structure en 3 dimensions des exotoxines de <i>S.aureus</i> .	17
Figure 5	Mécanisme d'action de l'entérotoxine Staphylococcique (à gauche fonctionnement normal, à droite fonctionnement avec superantigène).	20
Figure 6	Émergence d'une résistance acquise aux antimicrobiens.	24
Figure 7	Mécanisme de résistance lié au mode d'action de l'antibiotique.	26
Figure 8	Résistance aux Bêta-lactamines chez les <i>Staphylocoques</i> .	27
Figure 9	Mode d'action de la vancomycine et mécanisme de résistance de <i>S. aureus</i> à la vancomycine.	29
Figure 10	Prélèvement nasal chez le caprin.	37
Figure 11	Souche pure de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
Figure 12	Souche de <i>Staphylococcus aureus</i> à catalase positive	39
Figure 13	Souche de <i>Staphylococcus aureus</i> à ADNase positive	39
Figure 14	Souche de staphylococcus aureus à coagulase positive	40
Figure 15	Aspect des colonies caractéristiques du genre <i>Staphylococcus</i> sur Baird Parker	43
Figure 16	Profil de résistance d'une souche de <i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méticilline (SARM).	45
Figure 17	Souche de <i>S. aureus</i> SASM multi-résistante	46

Liste des tableaux

Tableau 1	Les espèces constituant le genre <i>Staphylococcus</i>	7
Tableau 2	Caractères biochimiques de quelques espèces de staphylocoques	10
Tableau 3	Caractéristiques des entérotoxines staphylococcique	19
Tableau 4	Types et natures des prélèvements	36
Tableau 5	Liste des molécules d'antibiotiques testés sur les souches isolées	41
Tableau 6	Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i> selon le type de prélèvement.	43
Tableau 7	Taux de résistance aux antibiotiques.	44
Tableau 8	Informations concernant les souches SARM isolées.	44
Tableau 9	Phénotypes de multi- résistance	45

Introduction

Les staphylocoques, membres de notre écosystème cutané, ensemble avec les streptocoques et les pneumocoques qui font partie d'un groupe d'agents pathogènes à Gram positif opportunistes et envahissants, connus sous le nom de cocci pyogènes, responsables d'une variété d'infections humaines (Lowy, 1998).

Staphylococcus aureus, est à la fois un commensal de l'homme et une cause fréquente d'infections cliniques importantes. Bien qu'il soit présent dans l'eau, la poussière et l'air, il colonise principalement la muqueuse du nasopharynx et de la peau des humains et des animaux (Songer et Post, 2005). Il est associé à de nombreuses maladies, allant des problèmes cutanés moins graves à des infections très sérieuses comme la bactériémie ou la pneumonie (Marcela *et al*, 2017). *S. aureus* s'agit notamment, d'un pathogène majeur et une cause fréquente d'infections intramammaires (IIM) chez les chèvres, les moutons et les bovins (Bergonier *et al*, 2003 ; Contreras *et al*, 2003 ; White, 2007 ; Smith et Sherman, 2009 ; Peton et Le Loir, 2014 ; Grace et Fetsch, 2018).

La pathogénicité de *S. aureus* est associée à plusieurs facteurs de virulence, incluant des toxines (entérotoxines, exfoliatines, etc), des protéines de surface (protéine A) et des enzymes (coagulase, catalase, etc) (Peacock *et al*, 2002 ; Fournier *et al*, 2008). Il a la capacité d'acquérir une grande diversité de gènes de résistance aux antimicrobiens et de virulence. En outre, ce micro-organisme peut également acquérir des éléments génétiques mobiles, qui contiennent des gènes pouvant faciliter son adaptation aux différents hôtes (Lindsay, 2014).

L'évolution de la résistance aux antibiotiques dans les souches de *Staphylococcus aureus* est une grande préoccupation pour la médecine humaine et vétérinaire (Antri *et al*, 2011 ; Cengiz *et al*, 2015 ; Wang *et al*, 2015). Depuis quelques années, elle s'est imposée comme une bactérie multi-résistante aux antibiotiques (BMR), en particulier à la méticilline et à la vancomycine, causant des infections nosocomiales ou communautaires (Boucher et Corey, 2015). L'émergence de *S. aureus* multirésistant pose des défis thérapeutiques, aux professionnels de la santé, vétérinaires et aux producteurs de bovins laitiers (Hiramatsu *et al*, 2014).

Depuis les années 1990, le SARM s'est répandu en dehors de l'environnement hospitalier et est apparu dans les populations communautaires sans que l'on puisse identifier les facteurs de risque associés aux soins de santé (Kayaba *et al*, 1997 ; Goraket *et al*, 1999). Outre son

importance en tant que pathogène hospitalier et communautaire, le SARM a également été considéré comme un problème émergent dans le domaine vétérinaire.

En effet, le portage nasal du SARM joue un rôle important dans l'épidémiologie et la pathogénèse des infections (Mulligan *et al*, 1993 ; Kluytmans *et al*, 1997). *S. aureus* peut coloniser une gamme d'animaux, incluant les animaux domestiques (porc, vaches, volaille, etc), les animaux de compagnie (chien, chat, etc) et les animaux sauvages. L'émergence des souches SARM associées aux élevages (LA-SARM) est une question pertinente du point de vue de la santé humaine et de la santé animale (Locatelli *et al*, 2016).

Des transmissions zoonotiques des souches d'élevages (LA-SARM) aux humains, avec des infections graves, ont été rapportées. Néanmoins, il a été démontré que les personnes vivantes et travaillant en contact étroit avec des animaux des élevages sont particulièrement les plus exposées à la colonisation par des SARM, ce qui pourrait contribuer à la diffusion des souches SARM dans la chaîne alimentaire.

Ainsi, l'objectif de notre étude, est de déterminer la prévalence de *S. aureus* en portage nasal chez les caprins, et d'étudier le profil de résistance des souches isolées afin de prévoir l'existence des SARM.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Aperçue général sur le *Staphylococcus aureus*

I.1. Historique

Les staphylocoques ont été découverts dans les années 1870 au cours du processus de recherche microscopique d'échantillons de pus. Ces bactéries sphériques étaient à l'origine nommées "micrococci", du mot grec kokkos pour grain. Ainsi, en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans un pus d'origine humain (Fasquelle, 1974).

Plus tard, en 1883 Alexander Ogston, chirurgien écossais disciple de Lister fut le premier à identifier formellement les micrococci comme la cause des abcès suppurés. La poursuite de ses travaux aboutit à la description des staphylocoques (du grec « staphyle » pour grappe de raisin), par opposition aux streptocoques (coques en chaîne) précédemment décrits par Billroth en 1874.

En 1884, en Allemagne Anton J. Rosenbach, chirurgien allemand donne la première description du germe *Staphylococcus* après avoir obtenu des cultures pures de ces bactéries, il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes en fonction de la couleur des colonies obtenues : *S. aureus* dorées et *S.albus* blanches (ce dernier est connu sous le nom *S.epidermidis*).

En 1885, Zopf a classé les staphylocoques et les microcoques dans le genre *Micrococcus*. En 1895, Flugge *et al* séparent ces deux genres bactériens et classent les cocci anaérobies facultatifs dans le genre *Staphylococcus* et les cocci aérobie dans le genre *Micrococcus* tout en les regroupant au sein de la famille des *Micrococcaceae*, plus récemment, les données de phylogénie moléculaire associées à des analyses chimiques de ces deux genres ont conduit à la création de la famille des *Staphylococcaceae* à laquelle appartient *S. aureus* (Pellerin *et al*, 2010).

La pénicilline (Fleming, 1929) a été utilisée pour la première fois en 1941 pour traiter un patient atteint d'une septicémie à staphylocoque. En 1947, les premières souches de staphylocoque résistantes à la pénicilline ont été identifiées (Barber, 1947). L'arrivée de la méticilline dans les années 60 a mis fin à cette épidémie. Cependant, la résistance à ce nouvel antibiotique a été décrite dès 1961 au Royaume-Uni (Barber, 1961). Les SARM (*Staphylococcus aureus* Résistant à la Méticilline) sont alors devenus l'une des premières causes d'infections nosocomiales. Depuis 2002, de nombreux cas de résistance à la

vancomycine ont été reportés entre autres aux Etats-Unis (Chang *et al*, 2003), ces multi-résistances font de *S. aureus* un enjeu majeur en santé publique (Pellerin *et al* 2010).

I.2. Position taxonomique et classification

Selon la classification de Garrity *et al* (2002), Le phylum Firmicutes est constitué de quatre classes : Clostridia, Mollicutes, Bacilli, Togobacteria.

La classe des *Bacilli* est constituée de deux ordres : Bacillales et Lactobacillales, dont chacun est divisé en quatre familles ; *Staphylococcaceae* constitue la 4^{ème} famille des Bacillales, celle-ci comprend un seul genre : *Staphylococcus* (GC% 30-39%).

Le genre *Staphylococcus* est proche des genres *Listeria* et *Bacillus* et occupe une place très importante en pathologie humaine et animale.

Phylum XIII: Firmicutes

- **Classe I** : Clostridia
- **Classe II** : Mollicutes
- **Classe III** : Bacilli
 - **Ordre I** : Bacillales
 - **Famille I** : *Bacilliaceae*
Genre : *Bacillus*
 - **Famille II** : *Planococcaceae*
Genre : *Planococcus*
 - **Famille III** : *Listeriaceae*
Genre : *Listeria*
 - **Famille VI** : *Staphylococcaceae*
Genre : *Staphylococcus*
 - **Ordre II** : Lactobacillales
 - **Famille I** : *Lactobacillaceae*
Genre : *Lctobacillus*
Genre : *Pediococcus*
 - **Famille II** : *Enterococcaceae*
Genre : *Enterococcus*
 - **Famille III** : *Leuconostocaceae*
Genre : *Leuconstoc*
 - **Famille IV** : *Streptococcaceae*
Genre : *Streptococcus*

Genre : *Lactococcus*

- **Classe IV :** Togobacteria

La classification du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs qui reposent sur l'analyse des séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S. Récemment, le genre *Staphylococcus* était classé dans la famille des *Micrococcaceae* à cause de certaines similitudes phénotypiques avec le genre *Micrococcus*, mais avec l'avènement de la biologie moléculaire et les techniques de séquençage, l'analyse de la composition en (G+C) % du génome des deux genres (30-39% pour *Staphylococcus* et 63-73% pour *Micrococcus*) et la comparaison des séquences de l'ARNr 16S ont confirmé la nécessité de séparer ces deux genres en deux familles différentes, ce qui s'est réalisé dans la deuxième édition du Bergy's Manual of Systematic Bacteriology (Prescott *et al*, 2002).

Selon Schleifer et Bell (2009), le genre *Staphylococcus* est classé comme suit :

Domaine Bacteria
Embranchement..... Eubacteria
Phylum Firmicutes
Classe Bacilli
Ordre..... Bacillales
Famille..... *Staphylococcaceae*
Genre *Staphylococcus*

On reconnaît actuellement 45 espèces et sous espèces de staphylocoques (tableau1), que l'on peut identifier grâce à leurs différents caractères phénotypiques (réactions biochimiques, structure de la paroi) et génotypiques (polymorphisme de restriction, ribotypage et autres), ce dernier étant le plus souvent réservé aux études épidémiologiques.

Parmi les espèces retrouvées chez l'homme, trois espèces occupant une place privilégiée *S.aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*.

Le genre *Staphylococcus* est séparé en deux groupes sur la base de la présence ou l'absence de la coagulase (Le Loir et Gautier, 2010).

Tableau 1 : Les espèces constituant le genre *Staphylococcus* (Garrity *et al*, 2002)

<i>S. arlettae</i>	<i>S. intermedius</i> *
<i>S. aureus</i> subspecies <i>aureus</i> *	<i>S. kloosii</i>
<i>S. aureus</i> subspecies <i>anerobius</i>	<i>S. lentus</i>
<i>S. auricularis</i> *	<i>S. lugdunensis</i> *
<i>S. capitis</i> subspecies <i>capitis</i> *	<i>S. lutrae</i>
<i>S. capitis</i> subspecies <i>urelyticus</i>	<i>S. muscae</i>
<i>S. caprae</i> *	<i>S. pasteurii</i> *
<i>S. carnosus</i> subspecies <i>carnosus</i>	<i>S. piscifermentans</i>
<i>S. carnosus</i> subspecies <i>utilis</i>	<i>S. pulvereri</i>
<i>S. chromogenes</i>	<i>S. saccharolyticus</i> *
<i>S. cohnii</i> subspecies <i>cohnii</i> *	<i>S. saprophyticus</i> subspecies <i>saprophyticus</i> *
<i>S. cohnii</i> subspecies <i>urealyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i> subspecies <i>bovis</i>
<i>S. condimenti</i>	<i>S. schleiferi</i> .subspecies <i>schleiferi</i> *
<i>S. delphini</i>	<i>S. schleiferi</i> subspecies <i>coagulans</i>
<i>S. epidermidis</i> *	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>sciuri</i>
<i>S. equorum</i>	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>carnaticus</i>
<i>S. felis</i>	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>rodentium</i>
<i>S. fleurettii</i>	<i>S. simulans</i> *
<i>S. gallinarum</i>	<i>S. succinus</i>
<i>S. haemolyticus</i> *	<i>S. vitulinus</i>
<i>S. hominis</i> subspecies <i>hominis</i> *	<i>S. xylosus</i> *
<i>S. hominis</i> subspecies <i>novobiosepticus</i>	<i>S. warneri</i> *
<i>S. hyicus</i> subspecies <i>hyicus</i>	

*espèces retrouvées chez l'homme.

I.3. Habitat

Les staphylocoques sont des pathogènes humains, fréquents, polyvalents et importants. Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, tels que la dessiccation (ils survivent plusieurs mois dans des produits pathologiques desséchés), aux variations de température (ils résistent 2 h à 55° C,

voir 1 h à 60° C), au choc osmotique (salinité de l'eau) et résistent encore mieux en milieux albumineux (O'Brien *et al*, 1999).

Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières (l'air), l'eau et dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) (Breche *et al*, 1988).

Ces caractères ubiquitaires et saprophytiques expliquent que ces germes soient aussi des commensaux occasionnels ou permanents de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux qui semblent constituer le principal réservoir de ces germes (Eyquem *et al*, 1998).

Les staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des «porteurs asymptomatiques» (Fauchere et Avril, 2002).

I.4. Epidémiologie

S. aureus est responsable d'une grande variété d'infections humaines, mais est également un germe commensal de l'homme. Il colonise préférentiellement les fosses nasales, mais peut aussi coloniser d'autres sites cutanés humides tels que les aisselles et le périnée (Wertheim *et al*, 2005).

Environ 25% de la population sont porteurs permanents et 60% de la population restante peuvent devenir porteurs transitoires. La colonisation par *S. aureus* est un facteur de risque de développer une infection (Akoua-Koffi *et al*, 2004).

La transmission de *S. aureus* est essentiellement manu-portée et le réservoir nasal en contaminant sans cesse les mains assure la pérennité de la transmission. Ainsi, *S. aureus* est responsable d'infections aussi bien communautaires que nosocomiales.

La diversité des facteurs de virulence de *S. aureus* ainsi que sa grande capacité à résister aux antibiotiques et notamment à la méticilline expliquent sa forte implication en pathologie humaine (Albertini *et al*, 2002).

I.5. Caractères bactériologiques

I.5.1. Morphologie

S. aureus est de forme sphérique (coque) et se regroupe généralement en amas (figure1), souvent qualifiés de grappes de raisin d'un point de vue microscopique, cette bactérie se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies, justifiant le nom vernaculaire de «staphylocoque doré». Ces cocci mesurent de

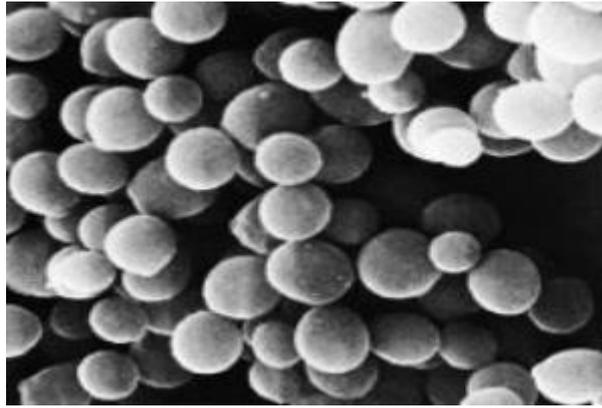


Figure1 : Observation de *S.aureus* sous microscope électronique à balayage au GX34000 (Vincenot *et al*, 2008)

I.5.2. Caractères cultureux

Ils sont aéro-anaérobies facultatifs, capables de se multiplier en milieu ordinaire entre 10 et 42 °C, avec un optimum thermique de 37 °C et à un pH compris entre 7,4 et 7,6 ; *Staphylococcus aureus* possède également la capacité de se multiplier sur des milieux sélectifs hyper salés (Flandrois, 1997). Les colonies peuvent atteindre une taille de 2 à 3 mm, elles sont rondes, lisses et opaques. *S. aureus* se distingue de la majorité des staphylocoques par la production d'une coagulase, d'un pigment doré et par son caractère bêta-hémolytique sur gélose au sang.

I.5.3. Caractères biochimiques

S. aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Ces bactéries possèdent une activité catalase, coagulase, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase. Elles sont hémolytiques, ont la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose, et le mannitol. Le diagnostic permettant de distinguer *S. aureus* des autres espèces est basé sur des tests réalisés sur des colonies tels que l'identification du facteur agglomérant, de la coagulase, des hémolysines et de l'ADNase thermostable ou de la thermonuclease (Behme, 1996 ; Brawn, 2005 ; Nandy *et al*, 2013).

Le tableau ci-dessous présente certains caractères biochimiques de *S. aureus* et d'autres espèces :

Tableau 02 : Caractères biochimiques de quelques espèces de staphylocoques (adapté par Schleifer et Bell, 2009).

Test	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.delphin i</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.intermedius</i>
Coagulase	+	-	+	-	+
Phosphatase alcaline	+	+	+	-	+
Arginine dihydrolase	+r	+	+	D	D
Fibrinolysine	+	D	-	ND	-
β-Glucosidase	+	D	ND	-	D
β-Galactosidase	-	-	ND	-	D
ADNase	+	-	+	-	+
Hémolysine	+	-	+	-	D
Oxydase	-	-	ND	-	-
Uréase	+r	+	+	+	+
Nitrate réductase	+	+	+	D	+
Thermonucléase	+	-	-	-	+
Production d'acétoïne	+	+	-	D	-
Fructose	+	+	+	+	+
Galactose	+	D	ND	D	+
Lactose	+	D	+	D	D
Mannitol	+	-	+	-	D
Sucrose	+	+	+	+r	+
Tréhalose	+	-	-	D	+
Xylose	-	-	-	-	-

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

I.6. Pouvoir pathogène et mode de transmission

Son réservoir naturel est l'homme, *Staphylococcus aureus* est très fréquent à l'état commensal et pathogène. En effet, très rapidement après la naissance, il colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveaux nés. Il est également très présent au niveau des fosses nasales et des mains, mais il peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées : furoncles, panaris, abcès, impétigo et de certaines infections ORL telles que angines, otites, sinusites.... En milieu hospitalier, il est impliqué dans les infections nosocomiales, pouvant être grave (Flandrois, 2000).

Staphylococcus aureus peut être aussi responsable d'intoxications alimentaire. Il se transmet par les mains ou par voie oro-pharyngée, peut ainsi diffuser son mode épidémique dans les maternités, les écoles, les crèches. Pouvant survivre dans le milieu extérieur, il peut être retrouvé sur la literie, dans le matériel médical à l'hôpital, ce qui amplifie les phénomènes de transmission (Flandrois, 2000).

Chapitre II : Facteurs de virulence staphylococciques

Staphylococcus aureus est un pathogène bactérien humain et animal impliqué dans de multiples processus pathologiques. Il est la cause d'une variété de maladies dont la gravité varie, de légères infections cutanées à des maladies plus graves, comme pneumonie, endocardite, ostéomyélite, septicémie, ou syndrome de choc toxique, entre autres (Lowy, 1998).

Les infections à *S.aureus* sont dans la majorité des cas causées par les souches commensales du patient suite à l'expression d'un ensemble de facteurs qui lui procure son pouvoir pathogène et sa virulence (Plata *et al*, 2009). Ces derniers sont soit associés à la paroi de la bactérie (adhésines telles que la protéine A, etc...) soit secrétés dans l'environnement (toxines, enzymes, etc...) (figure2) (Brun et Bes, 2000).

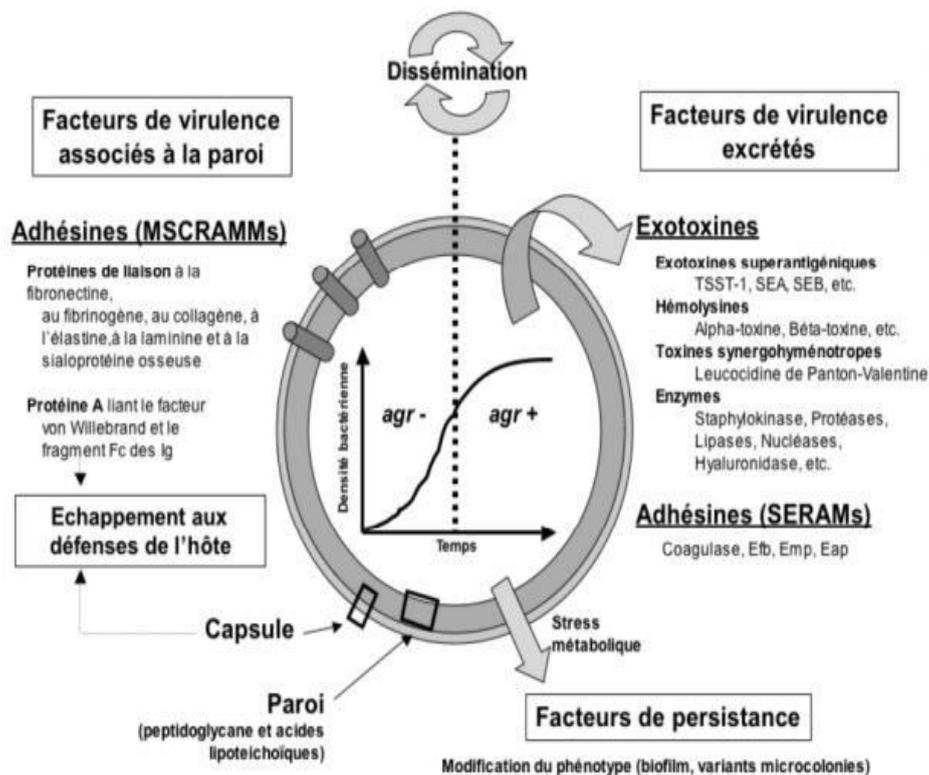


Figure 2 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Gordon et Lowy, 2008)

II.1. Composants de la paroi

II.1.1. Peptidoglycane

La paroi cellulaire de *S. aureus* est composée d'une couche épaisse de peptidoglycane, qui contribue à la virulence de la bactérie (Lowy, 1998). Le peptidoglycane de *S. aureus* possède une structure particulière, c'est l'une des rares parois possédant un pontage de pentaglycines reliant la L-Lysine en position 3 et la D-Alanine en position 4 (Prescott *et al*, 2002).

Chez *S. aureus*, le relargage de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infection locale provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines qui, en grande quantité, provoquent des lésions tissulaires (Chaby, 2010).

II.1.2. Acide téichoïque

L'acide teichoïque est un polymère linéaire du ribitol phosphate (Baggett *et al*, 2004). Il est situé à la surface externe de la couche du peptidoglycane et donc facilement accessible aux anticorps (Leclerc *et al*, 1995). Il est responsable de la résistance aux lysosomes et aux peptides antimicrobiens ainsi que de l'évasion de la réponse immunitaire de l'hôte (Biljana *et al*, 2015).

Ils contribuent à la colonisation nasale en se liant aux cellules épithéliales (Bhunia, 2008) ils sont aussi impliqués dans l'activation du complément (Tally, 1993).

II.1.3. Capsule

La production de la capsule chez *Staphylococcus aureus* a été décrite en 1931 par Gilbert (O'Riordan et Lee, 2004).

La capsule améliore la virulence en conférant à la bactérie une meilleure résistance face au système immunitaire de l'hôte, notamment en interférant avec la phagocytose (Nilsson *et al*, 1997 ; O'Riordan *et al*, 2004), et en empêchant les anticorps d'accéder aux épitopes de surface (Cunnion *et al*, 2003). Elle facilite aussi l'adhérence de *S. aureus* aux cellules épithéliales, endothéliales et aux monocytes (Soell *et al*, 1995).

II.2. Protéines de surface

II.2.1. Adhésines ancrées dans la paroi (MSCRAMMs)

S. aureus peut exprimer à sa surface des protéines favorisant l'attachement à certaines molécules de l'hôte telles que la fibronectine, la laminine et le collagène qui forment la matrice extracellulaire des surfaces épithéliales et endothéliales (Clarke *et al*, 2009). Ces protéines bactériennes sont nommées « Microbial Surface Components Recognizing Adhesive

Matrix Molecules » ou MSCRAMM (Foster *et al*, 2013). La plupart d'entre elles jouent un rôle dans la colonisation des tissus (Boisset et Vandenesch, 2010).

Les MSCRAMM incluent, les Bap (Biofilm associated proteins), responsables de la formation du biofilm bactérien et la colonisation des glandes mammaires, les protéines liant la fibronectine (Fbp) de type A et B (Bhunia, 2008), les CIFA et CIFB, qui sont des protéines de liaison au fibrinogène ou Clumping factors, jouant un rôle dans l'arthrite staphylococcique par l'agrégation des plaquettes sanguines, Les Cna (Collagen binding protein), des protéines liant le collagène nécessaires pour l'adhérence de *S. aureus* aux tissus collagineux et cartilagineux (Bhunia, 2008 ; Plata *et al*, 2009 ; Boisset et Vandenesch, 2010).

II.2.2. Adhésines sécrétées (SERAMs)

C'est une protéine d'adhérence extracellulaire (EPA) qui est presque omniprésente chez les souches de *S. aureus*, et semble jouer un rôle de déterminant de la virulence dans des infections chroniques à *S. aureus* (Lee *et al*, 2002). Ce groupe inclue, les Eap (Extracellular adherence protein), les Emp (Extracellular matrix binding protein), ainsi que les Efb (Extracellular fibrinogen binding protein) (Smeltzer, 2009).

Ces protéines se fixent par des liaisons non covalentes aux protéines de la matrice extracellulaire, puis elles sont reconnues par des récepteurs spécifiques présents à la surface de la bactérie (Boisset et Vandenesch, 2010).

En plus de leur fonction d'adhésion, 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.2.3. La protéine A

La protéine A est une exoprotéine associée à la paroi cellulaire (Callegan *et al*, 1994). Cette protéine a la capacité de fixer le fragment constant Fc γ des immunoglobulines de classe G (ou IgG) ainsi que la région VH3 du site de fixation de l'antigène (fragment Fab) des immunoglobulines de classe M (IgM) (figure3) (Graille *et al*, 2000)

En plus de son aptitude à réagir avec les IgG, la protéine A possède plusieurs propriétés biologiques et semble intervenir dans le pouvoir pathogène ; elle interfère avec le système immunitaire ; active le complément par la voie classique et déclenche la réaction de phagocytose (Schlievert *et al*, 2010).

La protéine A est aussi capable de se lier au facteur de Von Willebrand, une protéine essentielle de l'hémostase, ainsi qu'aux plaquettes sanguines. La fixation sur ces dernières favoriserait la colonisation des endothéliums par *S. aureus* et aurait un rôle important dans la pathogénie des endocardites dues à *S. aureus* chez l'homme (Gomez *et al*, 2006)

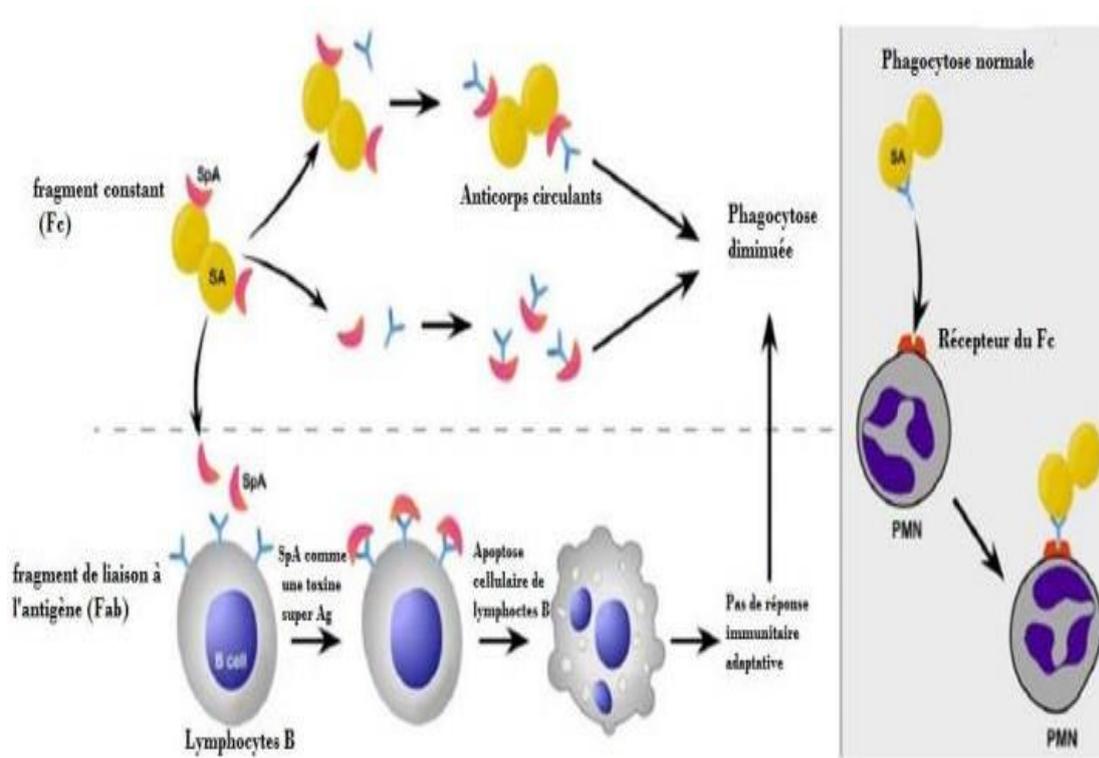


Figure 3 : Mécanisme d'action de la protéine A de *S. aureus* (Kobayashi *et al*, 2013).

II.3. Substances élaborées par le *Staphylococcus aureus*

II.3.1. Toxines

II.3.1.1. Hémolysines

Quatre hémolysines différentes ont été identifiées, elles diffèrent par leur mécanisme d'action et leur spécificité d'action sur les hématies (humaines et animales) (Kloos et Lamb, 1981)

➤ Alpha hémolysine

C'est une toxine de 31 kDa qui est sécrétée à la fin de la phase exponentielle de croissance par 80 à 90 % des souches de *S. aureus* (Valeva *et al*, 2006).

Cette α -toxine a la capacité de former des pores dans les membranes cellulaires de l'hôte. Pour ce faire, elle se lie tout d'abord à son récepteur à la surface de la cellule cible, la molécule ADAM10 (Wilke *et al*, 2010). Puis, elle s'insère dans la membrane plasmique où elle s'oligomérisse sous forme d'heptamères cylindriques (Song *et al*, 1996 ; Gounaux *et al*, 1998). Les canaux amphipatiques ainsi formés induisent une entrée de diverses molécules de faible poids moléculaire et notamment d'ions calcium, second messenger important impliqué dans de nombreuses voies de signalisation cellulaires chez les mammifères. Majoritairement, ce phénomène conduit à la lyse cellulaire (Bhakdi *et al*, 1991).

➤ **Bêta-hémolysine**

Il s'agit d'une protéine de 26 à 38 kDa, produite majoritairement par des souches animales (Le Minor et Veron, 1982 ; Boisset et Vandenesch, 2010). C'est une phospholipase de type C, thermolabile (Dinges *et al*, 2010). Elle cible les membranes riches en lipides. Elle provoque une lyse des érythrocytes et des cellules mononuclées, et également une importante réponse inflammatoire responsable de la pathogénicité de la souche (Dubas, 2008).

➤ **Gamma-hémolysine**

C'est une toxine produite par 50 % des souches de *S. aureus*, deux facteurs I et II agissant en synergie de PM de 29kDa et 26kDa (figure4), respectivement. La α -hémolysine a pour effet d'hémolyser les érythrocytes de lapin, de mouton et celles de l'homme, ce qui provoque une rupture lysosomiale. Elle est antigénique chez l'homme (Le Minor et Veron, 1982).

➤ **Delta-hémolysine**

Constituée d'un peptide de 26 acides aminés de PM de 103kDa, elle forme une hélice alpha avec un domaine hydrophobe d'un côté et un domaine hydrophile à son opposé (figure4).

Elle est synthétisée par 97% des souches de *S. aureus* en phase stationnaire de croissance (Dubas, 2008).

Elle agit comme un détergent sur la membrane cytoplasmique sans spécificité et inhibe la respiration mitochondriale et la phosphorylation. Elle est également capable d'activer l'adénylcyclase provoquant la production de c-AMP (Le minor et Veron, 1982 ; Biljana, 2015).

II.3.1.2. Leucotoxines de Pantone Valentine (PLV)

Elle est constituée de deux protéines différentes (figure4), une protéine LukS-PV de classe S (Slow eluted) de 31 à 32 kDa, et une autre LukF-PV de classe F (Fasteluted) (Vincenot *et al*, 2008)

Ces deux composants ne sont pas associés mais agissant en synergie, ils sont sécrétés séparément puis s'assemblent en octamère à la surface des cellules cibles, ce qui provoquera la formation d'un pore au niveau de la membrane cellulaire. Cette exotoxine induit la lyse de plusieurs types cellulaires comme les polynucléaires, les neutrophiles, les monocytes et les macrophages (Genestier *et al*, 2005).

Les gènes de la PLV sont portés par un phage et n'est retrouvé que dans un nombre restreint de souches de *S.aureus* en France (2 à 5%) alors qu'en Afrique 30 % des souches produisent cette toxine (Batard *et al*, 2007).

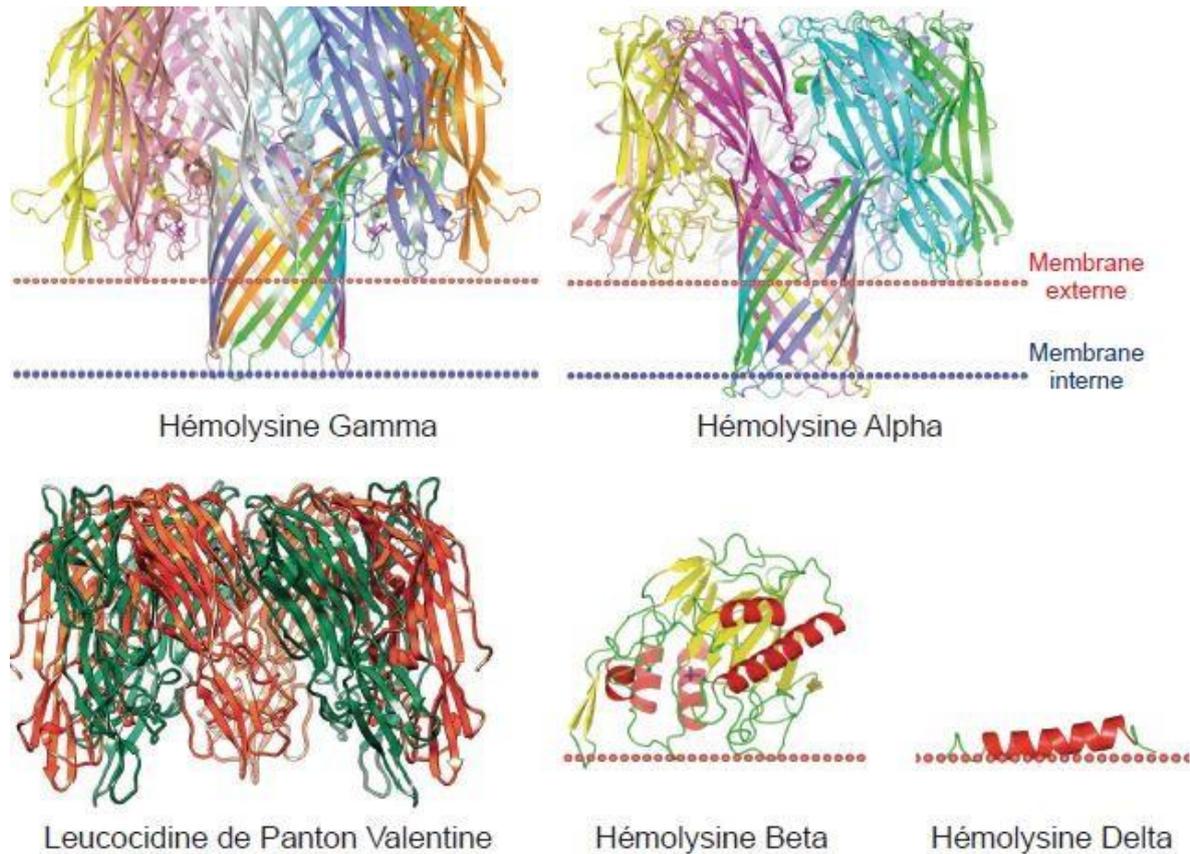


Figure 4 : structure en 3 dimensions des exotoxines de *S.aureus* (Aman *et al*, 2010)

II.3.1.3. Exfoliatine (ou épidermolysine)

On dénombre 4 exfoliatines, ETA, ETB, ETC et ETD (Boisset et Vandenesch, 2010), les exfoliatines A et B respectivement codées par les gènes *eta* et *etb* sont les mieux caractérisées et les plus souvent retrouvées lors d'infection humaine.

Ce sont des protéases actives, clivant spécifiquement les liaisons du glutamate (Vincenot *et al*, 2008). Leur action est spécifique à la peau, elles entraînent des lésions histologiques caractérisées par un décollement intra-épidermique (Le Minor et Veron, 1982).

II.3.1.4. Entérotoxines Staphylococciques

Les entérotoxines staphylococciques sont des exotoxines gastro-intestinales puissantes synthétisées par *S. aureus* tout au long de la phase exponentielle de la croissance ou durant la transition de cette phase à la phase stationnaire. Elles sont actives en faible quantité (Argudin *et al*, 2010).

En 2004, le comité international de nomenclature des superantigènes staphylococciques a proposé une nouvelle nomenclature pour les entérotoxines de *S. aureus*. Elle stipule que si la toxine possède une activité émétique prouvée, elle est désignée par le préfixe SE (staphylococcal enterotoxin). Si l'activité émétique est absente ou n'est pas prouvée, elle est désignée par SEI (staphylococcal enterotoxin-like toxin) (Boisset et Vandenesch, 2010).

Jusqu'à 2013, vingt-trois entérotoxines (SE et SEI) ont été décrites (Hu et Nakane, 2013). Le tableau ci-dessous résume les principales caractéristiques des entérotoxines de *S. aureus*. Cinq d'entre elles sont les plus impliquées dans les TIA (SEA, SEB, SEC, SED, SEE). Ces SE agissent directement sur l'épithélium intestinal et sur le nerf vague provoquant une stimulation du centre émétique et du transit intestinal (Le Loir et Gautier, 2010).

L'intoxication alimentaire staphylococcique est caractérisée par une courte période d'incubation (2 à 6h) après l'ingestion de toxine préformée, suivie de nausée, de vomissements, de douleurs abdominales et de diarrhée. Les vomissements commencent habituellement en premiers, avec la diarrhée qui suit peu de temps après (Balaban et Rasooly, 2000).

Tableau 3 : Caractéristiques des entérotoxines staphylococciques (Henekine *et al*, 2010).

Toxines	PM(Da)	Localisation génétique	Activité superantigénique	Actévitité émétique
SEA	27,1	Prophage	+	+
SEB	28,336	Chromosome, plasmide, ilot de pathogénicité	+	+
SEC1-2-3	27,500	Plasmide	+	+
SED	26,36	Plasmide (pIB485)	+	+
SEE	26,425	Prophage	+	+
SEG	27,043	Chromosome	+	+
SEH	25,21	Transposon	+	+
SEI	24,928	Chromosome	+	+
SEIJ	28,565	Plasmide (pIB485)	+	Nd
SEK	25,539	Ilot de pathogénicité	+	Nd
SEIL	24,593	Ilot de pathogénicité	+	-
SEIM	24,842	Chromosome	+	nd
SEIN	26,067	Chromosome	+	nd
SEIO	26,777	Chromosome	+	nd
SEIP	26,608	Prophage(Sa3n)	+	nd
SEIQ	25 ,076	Ilot de pathogénicité	+	-
SER	27 ,49	Plasmide(PIB485)	+	+
SES	26,217	Plasmide(PIB485)	+	+
SET	22,614	Plasmide(PIB485)	+	+
SEIU	27,192	Chromosome	+	nd
SEIU2	26,672	Chromosome	+	nd
SEIV	24,997	Chromosome	+	nd

Nd : non déterminé

II.3.1.5. Toxines pyogéniques (superantigène)

Ce groupe de toxines a la capacité d'interagir à la fois avec le récepteur spécifique des lymphocytes T (TCR) et les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II des cellules présentant l'antigène CPA (figure5) (Velasco *et al*, 2005). Cette activation polyclonale entraîne la libération de cytokines pro-inflammatoires qui jouent probablement un rôle important dans le déclenchement du syndrome de choc toxique (Nauciel et Vilde, 2005).

S. aureus produit trois types de superantigènes : les entérotoxines (dont l'entérotoxine staphylococcique A), la toxine 1 du choc toxique (TSST-1) et les toxines exfoliatives. Les pathologies les mieux connues comme étant associées à ces molécules superantigéniques sont le choc toxique et les dermites exfoliatives (Merlet, 2010).

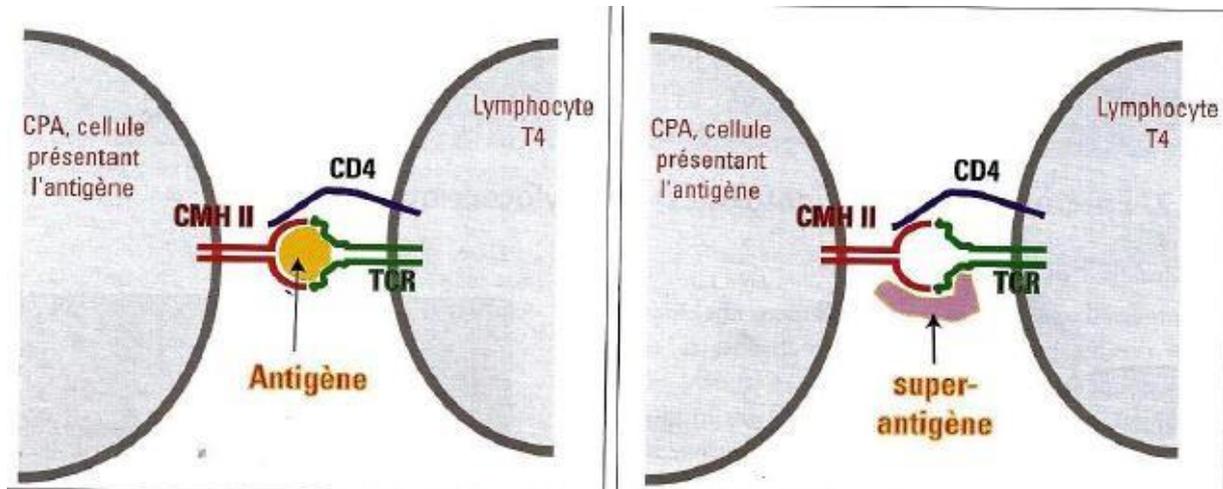


Figure 5 : Mécanisme d'action de l'entérotoxine Staphylococcique (à gauche fonctionnement normal, à droite fonctionnement avec superantigène) (Leyral et Vierling, 2007).

II.3.2. Les Enzymes

S. aureus possède de nombreuses enzymes impliquées dans sa virulence, ayant une activité protéase, hyaluronidase, collagénase, lipase, ou nucléase.

II.3.2.1. Coagulas libre

La coagulase est une enzyme exo-cellulaire, thermostable, d'un poids moléculaire qui varie selon les souches, de 5 à 40 kDa, codée par le gène chromosomique *coa*.

Le domaine N-terminal de la coagulase s'associe à la prothrombine pour former la staphylothrombine responsable de la polymérisation du fibrinogène en fibrine, aboutissant à la formation de thrombus (Boden et Flock, 1989 ; Panizzi *et al*, 2006)

Le thrombus formé, contribue probablement à empêcher la phagocytose (Tally, 1993 ; Pancholi, 2002).

II.3.2.2. Fibronolysine ou Staphylokinase

La staphylokinase, protéine de 136 acides aminés, possède deux grandes propriétés ; sur le plan immunitaire, elle est capable de se lier aux α -défensines, peptides bactéricides sécrétés par les polynucléaires neutrophiles et d'inhiber leurs propriétés antimicrobiennes, contribuant à la lutte staphylococcique contre l'immunité innée (Bokarewa *et al*, 2006).

Sur le plan hémostatique, elle réalise un complexe avec le plasminogène, donnant naissance à la plasmine active, enzyme protéolytique à large spectre, responsable de la fragmentation des thrombus riches en bactéries et induit la formation de foyers septiques secondaires (Dubas, 2008).

La plasmine activée par la staphylokinase est une puissante sérine protéase capable de cliver et d'inactiver l'immunoglobuline G et la fraction C3b humain qui vont se fixer à la paroi bactérienne, inhibant de ce fait, la phagocytose (Foster, 2005).

II.3.2.3. Désoxyribonucléase thermostable

C'est une enzyme thermostable responsable de l'hydrolyse de l'ADN de cellule de l'hôte. La thermonucléase est produite par toutes les souches de *S. aureus* (Bosgraud, 2003). L'activité enzymatique est mise en évidence sur milieu à base d'ADN avec du bleu de Toluidine (halo rosé) (Avril *et al*, 2000).

II.3.2.4. Protéases

La majorité des souches de *S. aureus* sont productrices de protéases, sous forme de pro-enzymes inactives, nécessitant un clivage pour qu'elles soient actives. On distingue trois catégories de protéases, les sérine-protéases, les cystéines-protéases et les métallo-protéases (Boisset et Vandenesch, 2010).

Les sérines protéases attaquent les chaînes lourdes des immunoglobulines G, cette activité peut affaiblir les défenses de l'hôte en bloquant les anticorps et cause l'invasion et la destruction des tissus (Vincenot *et al*, 2008). Les cystéines-protéases ne sont pas bien caractérisées biochimiquement, mais il est connu qu'elles possèdent une forte activité sur l'élastine (Pancholi, 2002).

Les métalloprotéases possèdent plusieurs rôles dans la pathogénicité de *S. aureus*. Elles détruisent les inhibiteurs de protéases, participant ainsi à la formation du thrombus, et en modifiant les protéines bactériennes de surface, elles contribueraient au détachement bactérien à partir des biofilms ou des foyers septiques (Vincenot *et al*, 2008).

II.3.2.5. Catalase

C'est une enzyme permettant la transformation du H₂O₂ en H₂O et O₂. Par cette enzyme, *S. aureus* inhibe probablement l'activité destructrice des polynucléaires neutrophiles et cela par la dégradation des radicaux libres d'oxygène, produits par ces globules blancs. Par conséquent, 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.32.6. Lipases

Elle permet la persistance des souches dans les sécrétions lipidiques cutanées. Elle interfère avec la pinocytose des polynucléaires neutrophiles et intervient dans la formation des biofilms bactériens (Dubas, 2008).

II.3.2.7. Hyaluronidase

C'est une enzyme thermostable de 92 kDa, elle exerce son activité à pH acide par l'hydrolyse de l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif (Le Minor et Veron ,1982), favorisant ainsi la diffusion de *S. aureus* dans ce dernier (Tally, 1993).

II.3.2.8. Lysozyme

S. aureus produit le lysozyme qui est capable de lyser la paroi de la cellule bactérienne (Le Minor et Veron ,1982).

Chapitre III : La résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

III.1. Définition de l'antibiotique

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle ou synthétique, possédant la propriété de tuer (bactéricide) ou de limiter la croissance (bactériostatique) des bactéries. Une grande majorité de ces molécules a été découverte dans les années 1940 jusqu'aux années 1960, l'âge d'or de la découverte des antibiotiques (Couderc, 2015).

III.2. Résistance aux antibiotiques

Après la découverte de la pénicilline, on croyait posséder enfin un médicament contre la plupart des infections bactériennes : la méningite, la fièvre typhoïde, la syphilis ou autres fléaux semblent définitivement vaincus. Pourtant, dès 1945, Fleming prévoit les risques potentiels liés à l'utilisation des antibiotiques. Il craint que leur utilisation à grande échelle sélectionne des bactéries résistantes. Dans son laboratoire, il observe que des bactéries, sensibles à la pénicilline en début d'expérience, parviennent à se multiplier en présence de concentrations croissantes de l'antibiotique. Selon lui, les bactéries sensibles ont été détruites, et les bactéries résistantes se sont multipliées sans limitation (Andremont *et al*, 1997).

Une année après l'utilisation de ce médicament (pénicilline), un nombre significatif des souches bactériennes sont devenues résistantes. Seulement quelques années après, plus de 50% des souches n'étaient plus sensibles à ce nouveau médicament (Alanis, 2005).

III.3. Supports génétiques de la résistance

Il existe deux types de résistance des bactéries pour les antibiotiques : la résistance naturelle et la résistance acquise.

III.3.1. Résistance naturelle

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. Elle est naturelle et 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. Résistance acquise

La résistance acquise est une propriété de la souche (figure6). Cette dernière correspond à la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce (Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001). Elle peut s'acquérir soit par mutation chromosomique qui est un phénomène spontané et rare et n'explique pas toutes les résistances rencontrées en clinique, soit par acquisition de matériel génétique exogène (Prescott, 2000). La résistance acquise par transfert de matériel génétique représente 80 à 90 % des résistances acquises rencontrées chez les bactéries isolées en clinique (Faye, 2005).

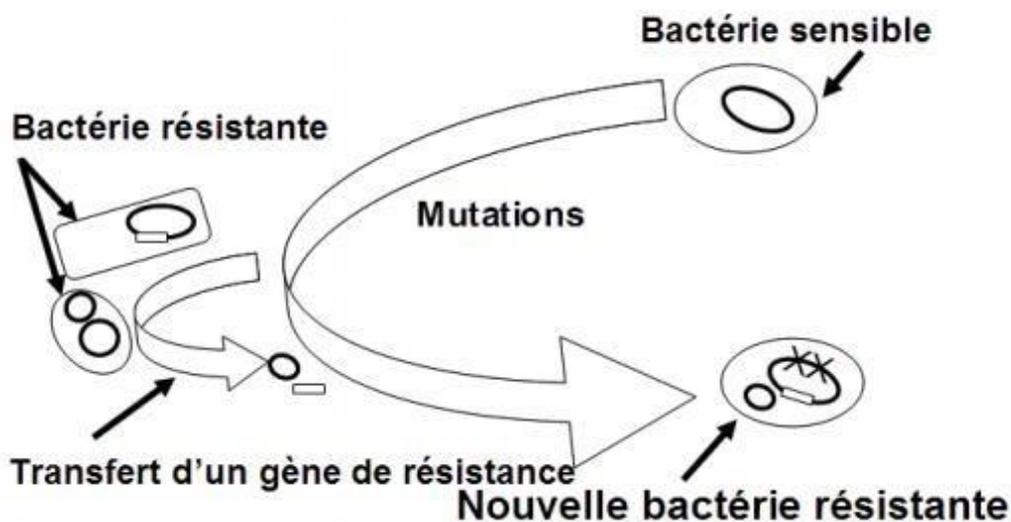


Figure 6 : Émergence d'une résistance acquise aux antimicrobiens (Carle, 2009).

III.4. Modes de résistances des bactéries aux antibiotiques

III.4.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactamines, des aminoglycosides et des phénicolés. Ce type de résistance a été décrit pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. 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.

Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

III.4.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

C'est un mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, et particulièrement important pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie (baisse de l'affinité). Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

III.4.3. Pompes à efflux

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie.

L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne. Il est également possible qu'une résistance par efflux apparaisse à cause de l'exposition à un antibiotique d'une autre classe. Ainsi, on sait que la ciprofloxacine peut favoriser l'émergence d'une résistance à la céphalosporine par la voie de ce mécanisme. Parmi les bactéries d'importance clinique munies d'une pompe à efflux comme mécanisme de résistance, on trouve l'*E. coli* et le *Shigella*. Le *S. aureus* peut également comporter une pompe à efflux lui permettant d'acquérir une résistance aux macrolides (Mandell *et al*, 2009 ; Yamashita *et al*, 2009).

III.4.4. Réduction de la perméabilité cellulaire

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires : une membrane cytoplasmique sépare leur cytoplasme du milieu extérieur. Les bactéries à Gram négatif sont également munies d'une enveloppe additionnelle, la membrane externe, qui sert de barrière et protège les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) du milieu externe. Les nutriments et les antibiotiques doivent traverser cette enveloppe pour pénétrer dans la bactérie. Le passage se fait par diffusion passive à travers les canaux que forment les protéines canaliculaires nommées porines (Knothe *et al*, 1983 ; Pitout *et al*, 2004).

La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à Gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action, ainsi que, les mutations des porines joueraient un rôle important dans l'émergence d'une résistance, particulièrement à la suite d'une réduction du calibre des canaux ou du nombre de porine (Knothe *et al*, 1983 ; Pitout *et al*, 2004).

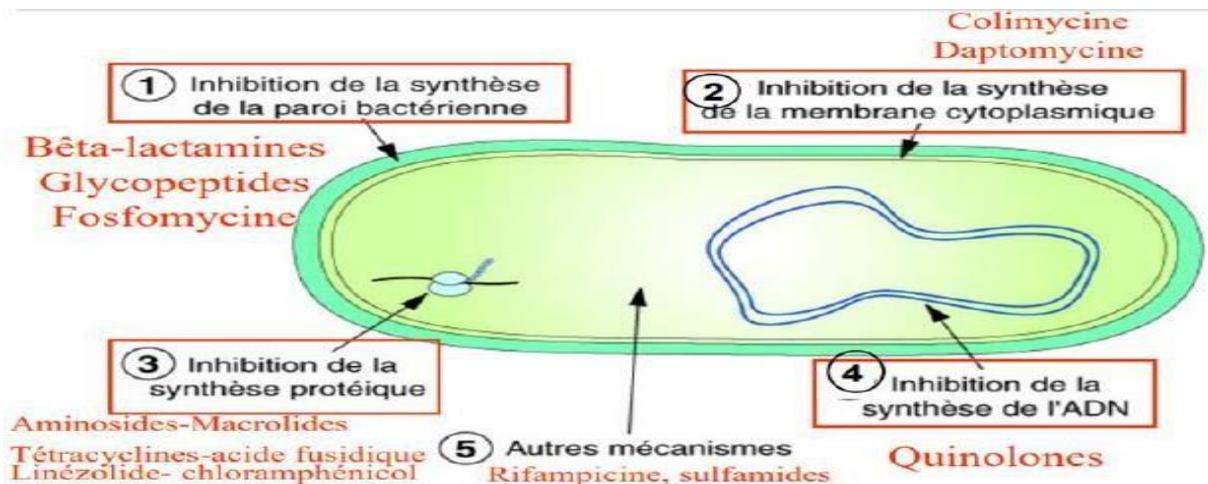


Figure 7 : Mécanisme de résistance lié au mode d'action de l'antibiotique (Mainardi, 2015)

III.5. Mécanismes de résistance de *Staphylococcus aureus* vis à vis de certains antibiotiques

III.5.1. Résistance aux β -lactamines

➤ Résistance aux pénicillines par production de pénicillinases

La résistance de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline par production de pénicillinases (figure 8) est une résistance transférable qui concerne actuellement environs 90% des isolats retrouvés en médecine humaine (Le loir et Gautier, 2010).

La pénicillinase plasmidique de *Staphylococcus aureus* constitue historiquement le premier mécanisme de résistance à un antibiotique identifié, c'est une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle β -lactame présent chez la pénicilline G et toutes les molécules dérivées mais elle reste sensible à l'action des inhibiteurs des β -lactamases : acide clavulanique, sulbactam, tazobactam (Donnio, 2010).

La pénicillinase staphylococcique n'exerce qu'une faible activité hydrolytique sur les céphalosporines ; elle est le produit d'expression du gène *blaZ* qui est porté par un plasmide ou un transposon (Lowry, 2003).

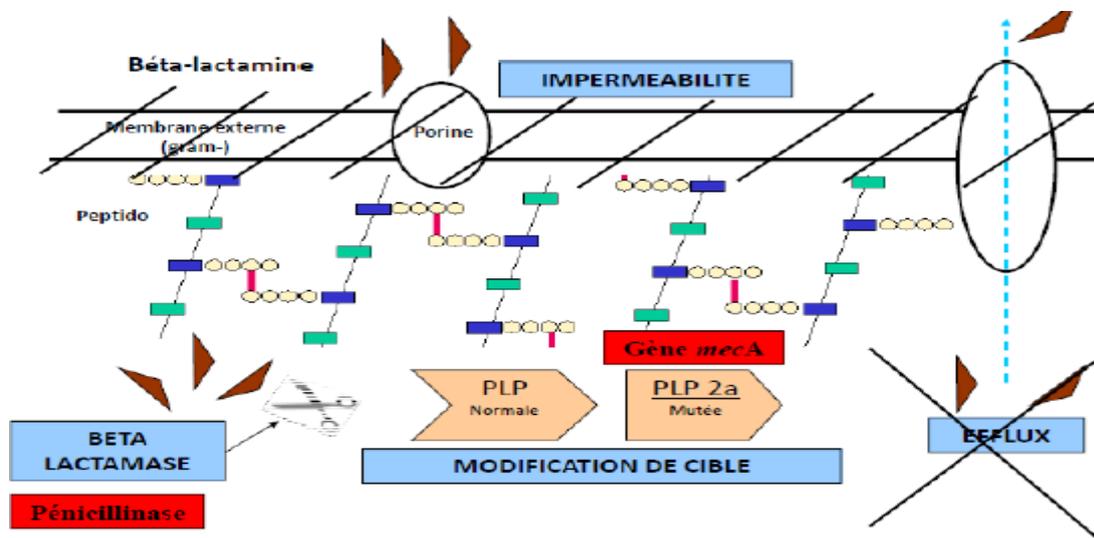


Figure 8 : Résistance aux Bêta-lactamines chez les *Staphylocoques* (Mainardi, 2015).

➤ Résistance à la méticilline par production de PLP modifiées

Il s'agit d'une résistance acquise par modification de la PLP, cible principale de nombreuses β -lactamines: les souches résistantes expriment une PLP modifiée, la PLP2a, pour laquelle ces antibiotiques ont très peu d'affinité (Tomasz *et al*, 1991).

La PLP2a est codée par le gène *mecA* qui est porté par un fragment d'ADN additionnel présent chez les SARM et absent chez les souches sensibles, appartenant à la famille des cassettes chromosomiques staphylococciques *mec* (*SCCmec*) (Ito *et al*, 2003).

III.5.2. Résistance aux Glycopeptides

Les glycopeptides, teicoplanine et vancomycine, sont utilisés comme alternative aux β -lactamines dans le traitement des infections à staphylocoques dorés méticillino-résistants ou en cas d'intolérance chez les patients (Tankovic *et al*, 1997). Ces antibiotiques ont un effet bactéricide s'exerçant lentement, ils agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne au cours de l'élongation, à un stade plus précoce que les β -lactamines, ils ont pour site d'action le dimère D-Ala- D-Ala terminal du pentapeptide porté par la brique de peptidoglycane, empêchant ainsi la transpeptidation et la réticulation de la paroi (Courvalin, 2006).

Deux types de résistances à la vancomycine ont été rapportés dans la littérature (figure 9) ; la première est due à des mutations génétiques causant une baisse dans la production de PLP, additionnée à la production de couches supplémentaires de peptidoglycane. Ce mécanisme conduit à l'augmentation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à 4-8 $\mu\text{g/ml}$, d'où le nom de *S. aureus* à résistance intermédiaire vis-à-vis de la vancomycine (VISA) (Hiramatsu, 2001 ; Srinivasan *et al*, 2002).

Le second type de résistance vient de l'acquisition par *S. aureus* du transposon Tn 1546 par conjugaison avec *Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine (VRE) (Gardete et Tomasz, 2014). Ce transposon contient neuf gènes responsables de la synthèse d'un précurseur du peptidoglycane modifié, où le D-Ala-D-Ala est substitué par un D-Alanyl-D-Lactate (D-Ala-D-Lac) qui a une très faible affinité vis-à-vis de la vancomycine (Boneca et Chosis, 2003), les souches résultantes sont dénommées : *S. aureus* résistant à la vancomycine (VRSA) (Lowy, 2003).

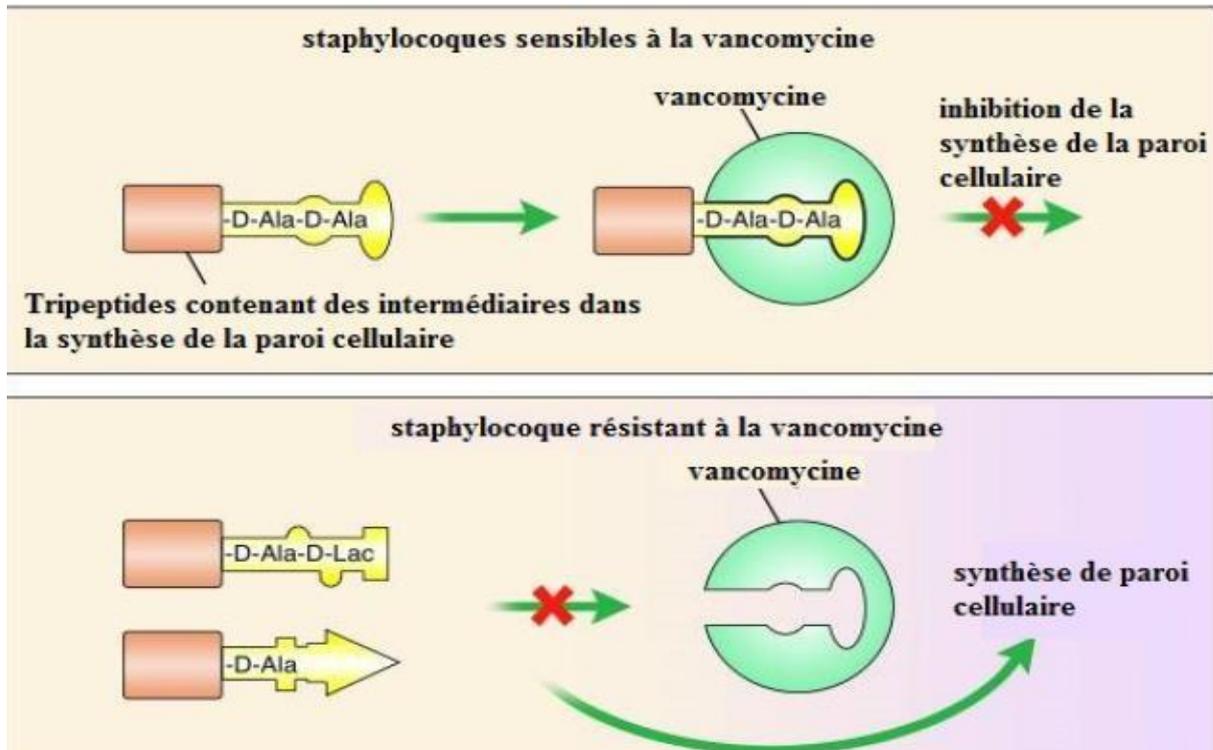


Figure 9 : Mode d'action de la vancomycine et mécanisme de résistance de *S. aureus* à la vancomycine (Lowy, 2003).

III.5.3. Résistance aux aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides utilisés en thérapeutique pour l'accélération de la vitesse de bactéricidie qu'ils apportent aux β -lactamines et aux glycopeptides (Tanakovic *et al*, 1997).

La résistance aux aminosides est rarement due à des mutations affectant les cibles ribosomales des antibiotiques, cette dernière est majoritairement liée à l'acquisition des gènes plasmidiques codants des enzymes inactivatrices de ces antibiotiques (Galimand *et al*, 2003), ces enzymes appartiennent à trois classes, acétyltransférases (AAC), nucléotidyltransférases (ANT) et phosphotransférases (APH) codées par des gènes acquis plasmidiques ou transposables (Tankovic *et al*, 1997).

Chaque enzyme est dénommée en fonction de la molécule qu'elle modifie et reconnaît un certain nombre d'aminosides qu'elle modifie, une fois modifié, l'affinité de l'antibiotique vis-à-vis de sa cible diminue considérablement (Strahilevitz et Hooper, 2009).

III.5.4. Résistance aux tétracyclines

Les tétracyclines sont des molécules qui agissent en se fixant sur la sous-unité ribosomale 30S, ce qui empêche l'ARNt-aminoacyl de s'y associer et inhibe la synthèse protéique (Speer *et al*, 1992).

Deux mécanismes de résistance ont été rapportés chez *S. aureus*. Le premier consiste à protéger le ribosome via des protéines codées par des gènes plasmidiques ou se trouvant dans des transposons (Roberts et Schwarz, 2009). Les protéines codées par les gènes (principalement *tetM* et *tetO*) se fixent sur le ribosome, induisant l'augmentation de la constante de dissociation du complexe ribosome-tétracycline. Cela a pour effet de relarguer la molécule de l'antibiotique et de rendre le ribosome fonctionnel (Schnappinger et Hillen, 1996 ; Connell *et al*, 2003).

Le deuxième mécanisme consiste à faire sortir l'antibiotique de la cellule par un efflux actif. Ce dernier est réalisé par des protéines membranaires ATP-dépendantes (Speer *et al*, 1992). Cet efflux réduit la concentration de l'antibiotique dans le cytoplasme, protégeant ainsi les ribosomes (Chopra et Roberts, 2001).

III.5.5. Résistance aux sulfamides

Les sulfamides est une famille d'antibiotique qui agit sur la dihydroptéroate synthase (DHPS), une enzyme indispensable à la formation du précurseur de certains acides aminés et de bases azotées.

Ces antibiotiques présentent une homologie de structure avec l'acide para-nitrobenzoïque (PABA), qui est le substrat naturel de la DHPS. De ce fait, les sulfamides affectent le fonctionnement de cette dernière par compétition avec son substrat (Sköld, 2000).

III.5.6. Résistance aux rifamycines

Ces antibiotiques se lient à la sous unité β de l'ARN polymérase ADN dépendante et inhibent l'initiation de la transcription (Yala et Merad, 2001).

La résistance à la rifamycine est la conséquence de mutations sur le gène *rpoB* codant la sous unité β de l'ARN polymérase ADN dépendante, la fréquence de mutation peut atteindre 10^7 pour les cocci à Gram positif et les mutants sont sélectionnés in vitro en une étape, ceci impose l'utilisation de la rifamycine en association avec d'autres antibiotiques afin de prévenir l'émergence des mutants résistants (Schmitz *et al*, 2000).

III.5.7. Résistance à l'acide fusidique

C'est un inhibiteur des synthèses protéiques, la résistance à cet antibiotique peut être due à une mutation chromosomique au niveau du gène *fusA* codant le facteur EF-G, diminuant l'affinité du facteur pour l'antibiotique, ou à une résistance plasmidique due le plus souvent au déterminant *fusB* entraînant probablement un défaut de pénétration dans la cellule bactérienne (O'Neil *et al*, 2007).

III.5.8. Résistance aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones inhibent la croissance bactérienne par arrêt de la réplication de l'ADN. Ces molécules ont une action ciblée sur les topo-isomérases. Les topoisomérases regroupent les topo-isomérases de classe II, les gyrases, constituées de deux sous-unités GyrA et GyrB (codées par les gènes *gyrA* et *gyrB*) et impliquées dans le relâchement de l'ADN, et par les topoisomérases de classe IV (composées de deux sous-unités codées par les gènes *griA* et *griB*) qui entraînent un désenchevêtrement de l'ADN à la fin de la réplication (Mainardi *et al*, 1996).

Le mécanisme de résistance aux fluoroquinolones le plus fréquent est la survenue de mutations au niveau du gène *parC* codant la sous-unité C de la topoisomérase IV, cible d'action de ces antibiotiques. Les mutations en cause surviennent essentiellement et de façon cumulative dans la zone du gène codant la région QRDR (quinolone resistance determinant region) (Lowy, 2003).

Un deuxième mécanisme de résistance chez *S. aureus*, probablement de moindre importance sur le plan thérapeutique car induisant des niveaux de résistance plus bas, consiste en l'expression de pompes à efflux multiple (MDR) (Demarco *et al*, 2007).

III.5.9. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

Les MLS inhibent la synthèse protéique en se fixant au ribosome bactérien. Trois grands types de mécanismes sont responsables de la résistance acquise à cette famille d'antibiotiques soit par modification de la cible, modification enzymatique ou bien par l'efflux (Leclercq, 2002).

-Modification de la cible : Chez *S. aureus*, le mécanisme repose sur l'action d'une enzyme (methylase) réalisant la méthylation d'une adénine de la sous unité 23S de l'ARN ribosomique. Ces methylases sont codées par les gènes *erm* dont il existe au moins 20

variantes. Le support des gènes *erm* peut être chromosomique ou plasmidique (Quincampoix et Mainardi, 2001).

-L'efflux actif médié par des pompes efflux comprennent une protéine membranaire codée par le gène chromosomique *norA* (Quincampoix et Mainardi, 2001 ; Woodford, 2005).

Résistance par production des enzymes inactivatrice, qui modifient l'antibiotique lui-même et peuvent appartenir à la classe des hydrolases, des acétyltransférases ou des phosphotransférases (Quincampoix et Mainardi, 2001).

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de notre étude est l'isolement des souches de *Staphylococcus aureus* à partir du mucus nasal des caprins, et à partir du lait cru produit au sein de ces élevages laitiers. Le second objectif est la détermination du profil de résistance des souches isolées vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques utilisées en médecine vétérinaire ainsi qu'en médecine humaine, et ceci dans le but de prévoir la présence de souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM).

I.2. Matériel

I.2.1. Matériels de laboratoire

- Etuve microbiologique (Memmert, Germany)
- Bec Bunsen
- Balance électronique (Denver instrument, USA)
- Spectrophotomètre (Medline, United Kingdom)
- Réfrigérateur (Essalem Electronics, Algérie)
- Vortex (Heidolph, Germany)
- Bain-Marie (Memmert, Germany)
- Autoclave (pbi international, Milano)
- Verrerie et outils : bécher, boîtes de Pétri, tubes à essai, tubes à hémolyse, pipettes Pasteur, écouvillons, anse à boucle, micropipette, embouts, spatule, cuves de spectrophotomètre, flacons en verre, lame, pince, gants chirurgicaux, seringues, papier aluminium, papier film.

I.2.2. Matériels de prélèvement

- Glacière
- Tubes ECBU stériles
- Gants chirurgicaux.
- Ecouvillons

I.2.3. Milieux de culture et réactifs

- Bouillon Mueller-Hinton + 6,5 % de NaCl (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose Baird Parker (Biolife, Italie)

- Tellurite de potassium (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- Emulsion de jaune d'œuf
- Gélose Mueller-Hinton (Conda Pronadisa, Espagne)
- Bouillon coeur-cerveille (Biokar, France)
- Gélose à ADN (Conda Pronadisa, Espagne)
- Milieu TSYEA (Conda Pronadisa, Espagne)
- Plasma de lapin (bioMérieux SA, France)
- Plasma humain (CTS, TiziOuzou)
- HCL 2N (MERCK, Germany)
- Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Cosmania, Algérie)
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée stérile
- Glycérol
- Disques d'antibiotiques (Liofilchem, Italy)

I.2.4. Matériel biologique

- Souche de référence (*S. aureus* ATCC25923)

I.3. Méthodes

I.3.1. Durée et lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée entre la période allant du mois d'Avril au mois de Juin 2021(2mois) au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Les trois échantillonnages ont été effectués au sein de trois élevages laitiers de la région d'Azeffoun (Wilaya de Tizi Ouzou).

I.3.2. Types et natures des prélèvements

Au cours de notre étude, 174 prélèvements ont été réalisés et soumis à la recherche et l'identification de *S. aureus*. Ces prélèvements ont été réalisés à travers neuf troupeaux laitiers de taille moyenne, situés dans la région d'Azeffoun (Tizi Ouzou). Ils comprennent 168

prélèvements nasaux chez des caprins laitiers et non laitiers et enfin 06 échantillons du lait cru de mélange.

Tableau 04 : Types et natures des prélèvements

Nombres d'échantillonnages	Troupeaux	Localisation	Nombre de caprin	Nombre de caprin écouvillonnés	Nombre d'échantillons de lait
1	1	Ait yelloul	30	20	1
	2	Tazaghart	50	20	1
	3	Ihnouchene	35	20	1
2	4	Ighil Mhned	25	20	0
	5	Iouedj dal	35	20	2
	6	Agni n Rihan	28	20	1
3	7	Tifezouine	30	22	0
	8	Tifezouine	20	10	0
	9	Ihamziouen	25	16	0
Nombres total de Prélèvements				168	6

I.4. Protocol expérimental

I.4.1. Collecte des prélèvements

➤ prélèvements nasaux

Suite à l'orientation d'un vétérinaire vers certains éleveurs à qui nous avons expliqué l'intérêt de notre étude, le prélèvement s'est effectué comme suite (figure10) :

Après le nettoyage des mains et le port des gants chirurgicaux, un prélèvement nasal est effectué sur les deux narines de chaque animal. Ce prélèvement est réalisé en introduisant un écouvillon délicatement dans chaque narine, suivi de mouvements rotatoires. Ainsi, l'écouvillon obtenu est mis dans un tube à essai contenant le bouillon Mueller Hinton+ 6,5% de Nacl.

➤ Prélèvement des échantillons du lait

Un échantillon du lait de mélange est prélevé de chaque élevage. Le prélèvement est réalisé dans un flacon stérile.



Figure 10 : Prélèvement nasal chez le caprin.

I.4.2. Analyse des échantillons

La recherche de *S. aureus* dans les différents prélèvements a été effectuée en deux étapes :

➤ L'enrichissement

L'enrichissement a été effectué sur le bouillon Mueller Hinton + 6,5% du NaCl pour les prélèvements nasaux ainsi que les échantillons du lait, l'enrichissement est suivi d'une incubation des tubes à 37°C/24h.

➤ L'isolement de *S. aureus*

Après avoir effectué un tri des tubes présentant un trouble microbien, l'isolement se fait sur la gélose Baird Parker (BP) additionnée de l'émulsion de jaune d'œufs et de tellurite de potassium.

L'isolement est réalisé par ensemencement en surface de 0.1ml de bouillon MH positif, suivi d'un étalement à l'aide d'un râteau stérile. Les boîtes ainsi obtenues sont incubées à 37°C pendant 24h.

Après incubation, les boîtes sont considérées positives si elles présentent des colonies caractéristiques de *S. aureus* (colonies rondes à bords réguliers, lisses, bombées, d'un diamètre de 1 à 3mm, noires et ayant un halo clair).

➤ Purification des souches

Deux à trois colonies caractéristiques ont été choisies, puis ensemencées sur la gélose BHI ou TSYEA (figure11). La purification est réalisée après des repiquages successifs, ainsi, les colonies pures obtenues ont fait l'objet d'une identification biochimique.



Figure11 : Souche pure de *Staphylococcus aureus*.

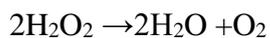
I.4.3. Identification biochimique de *S. aureus*

Trois tests biochimiques ont été réalisés pour identifier *S. aureus* parmi les souches suspectées, il s'agit de la mise en évidence de la catalase, la coagulase et de l'ADNase.

Une souche doit présenter un résultat positif à tous ces tests pour confirmer son appartenance à l'espèce *S. aureus*.

I.4.3.1. Mise en évidence de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , produit toxique du métabolisme aérobie. Elle est présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives y compris *S. aureus*.



Une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est déposée au fond d'une boîte de Pétri vide (figure12) à laquelle on rajoute deux à trois colonies provenant d'une culture pure sur gélose BHI, les colonies bactériennes sont ensuite mélangées à l'aide d'une pipette Pasteur de manière à ce que la goutte rentre en contact avec la colonie, le test est présumé positif lorsqu'il y'a dégagement de bulles de gaz (effervescence).



Figure 12 : Souche de *Staphylococcus aureus* catalase positive

I.4.3.2. Mise en évidence de l'ADNase

Certaines bactéries ont la capacité d'hydrolyser l'ADN grâce à une enzyme, l'ADNase. Pour la recherche de cette enzyme, une boîte de Pétri contenant la gélose à ADN est divisée en trois compartiments dans lesquels on ensemence en strie centrale deux à trois colonies des souches à tester (figure 13).

Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h, la révélation de ce test se fait par l'ajout d'acide chlorhydrique (HCl) à 2N, la souche est considérée comme étant positive s'il y a une apparition d'une zone claire autour des stries provenant de la libération des polynucléotides après l'hydrolyse de l'ADN du milieu.

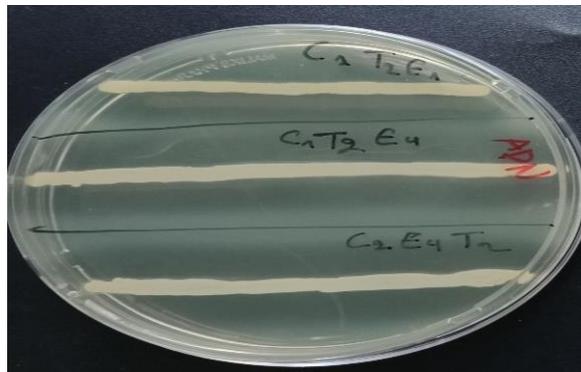


Figure13 : Souche de *Staphylococcus aureus* ADNase positive

I.4.3.3. Mise en évidence de la coagulase

La coagulase est une protéine extracellulaire, permettant la différenciation des staphylocoques à coagulase positive (SCP) des staphylocoques à coagulase négative (SCN). Cette enzyme joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de *S. aureus*.

Un inoculum issu d'une culture jeune est repiqué sur BHIB et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Ensuite, un volume de cet inoculum bactérien est introduit dans un tube à hémolyse contenant le même volume de plasma de lapin ou à défaut du plasma humain.

L'incubation est faite à 37°C de 1h à 4h, un test positif se traduit par la formation d'un coagulum (figure 14).



Figure 14 : Souche de *Staphylococcus aureus* coagulase positive

I.4.3.4. La résistance des souches isolées aux antibiotiques

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Les souches de *S. aureus* isolées durant notre étude ont été testées vis-à-vis de neuf molécules d'antibiotiques listés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Liste des molécules d'antibiotiques testés sur les souches isolées.

Familles	Antibiotiques	Abréviations	Charge (UI)	Marque
β-lactamines	Pénicilline	P	10	Liofilchem, Italie
	Céfoxime	FOX	30	Liofilchem, Italie
Aminoglycosides	Gentamycine	CN	10	Liofilchem, Italie
	Néomycine	N	30	Liofilchem, Italie
Macrolides	Erythromycine	ERY	15	Liofilchem, Italie
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30	Liofilchem, Italie
Quinolones	Ofloxacin	OFX	5	Liofilchem, Italie
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30	Liofilchem, Italie
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	SXT	25	Liofilchem, Italie

➤ **Technique de l'antibiogramme**

Les souches à étudier sont repiquées sur le milieu BHI afin d'avoir des cultures jeunes. Une suspension bactérienne d'une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 est préparée à partir de cette culture jeune. L'antibiogramme est réalisé par la technique d'écouvillonnage, en appliquant des stries serrées sur toute la surface de la gélose Mueller Hinton. Ensuite, des

disques d'antibiotiques sont appliqués à l'aide d'une pince stérile. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures. Après la lecture des zones d'inhibition, les souches sont classées en : souches sensibles, souches intermédiaires et souches résistantes, selon les recommandations du CLSI (2018) et de CASFM (2019).

I.4.3.5. Conservation des souches identifiées

Les souches isolées ont fait l'objet d'une conservation, ces dernières sont repiquées sur le bouillon BHIB, puis incubée à 37°C/24h. La conservation s'effectue en versant un volume de la suspension bactérienne et deux volumes de glycérol dans un cryotube, qui sera maintenu dans un congélateur à une température de -20°C.

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1.1. Prévalence de *S. aureus*

Au cours de notre étude, 174 prélèvements ont été effectués à travers neuf élevages de caprins de taille moyenne, situés dans la région d’Azeffoun (Tizi Ouzou). Sur ce nombre total des prélèvements, 107 colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été isolées sur la gélose sélective Baird-Parker. Les colonies caractéristiques ont été soumises en premier lieu à une purification sur la gélose BHI (figure 11), puis à des tests biochimiques (figures 12, 13 et 14) dans le but de confirmer l’espèce *S. aureus*. Au total, 57 souches de *S. aureus* ont été confirmées et réparties comme suit : 56 souches isolées de la cavité nasale des caprins, et uniquement une seule souche à partir du lait cru produit au sein de ces élevages.



Figure 15 : Aspect des colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus* sur Baird Parker

Sur un total de 168 prélèvements nasaux, seulement 31 caprins se sont révélées porteurs de *S. aureus*, ce qui fait une prévalence de 18.39%, uniquement, un seul échantillon du lait est positif (tableau 6).

Tableau 6 : Fréquence d’isolement de *S. aureus* selon le type de prélèvement.

Type de Prélèvements	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Nombre de souches isolées	Fréquence d’isolement (%)
Ecouvillonnage nasal	168	31	55	18.45%
Lait cru	6	1	2	16.66%
Total	174	32	57	18.39%

II.1.2. La résistance des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Cette étude a révélé l'existence de plusieurs souches résistantes, en effet, le taux de résistance le plus élevé a été observé vis-à-vis de la pénicilline (49,12%).

En revanche, les souches ont exprimées de faibles taux de résistances vis-à-vis le reste des molécules testées, les résultats de l'antibiogramme sont présentés dans le tableau suivant

Tableau 7 : Taux de résistance des souches de *S. aureus* isolées (n=57) aux antibiotiques.

Antibiotiques	Taux de résistance (%)	Taux de sensibilité (%)
P	28 (49,12)	29 (50,87)
N	6 (10,52)	51 (89,47)
C	2 (3,5)	55 (96,49)
OFX	1 (1,75)	56 (98,24)
SXT	2 (3,5)	55 (96,49)
TE	3 (5,26)	44 (77,19)
FOX	2 (3,5)	54 (96,49)
E	5 (8,77)	52 (91,22)
CN	2 (3,5)	52 (94,73)

II.1.1.3. Prévalence de *Staphylococcus aureus* résistant à la métilcilline (SARM)

Au cours de notre étude, deux souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la métilcilline (SARM) ont été isolées à partir des prélèvements nasaux, soit une fréquence de 3.5%, les deux souches SARM isolées, en plus de leurs résistances aux β -lactamines, résistent vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques (tableau 3).

Tableau 8 : Informations concernant les souches SARM isolées.

La souche	Origine de la souche	Numéro du troupeau	Région	Profil de résistance aux antibiotiques
S522	Portage nasal	3	Ihnouchen	P/FOX/E/CN/C
S530	Portage nasal	3	Ihnouchen	P/C/TE/FOX/E

P : Pénicilline, **C :** Chloramphénicol, **FOX :** Céfoxitine, **E :** Erythromycine, **CN :** Gentamycine, **TE :** Tétracycline.

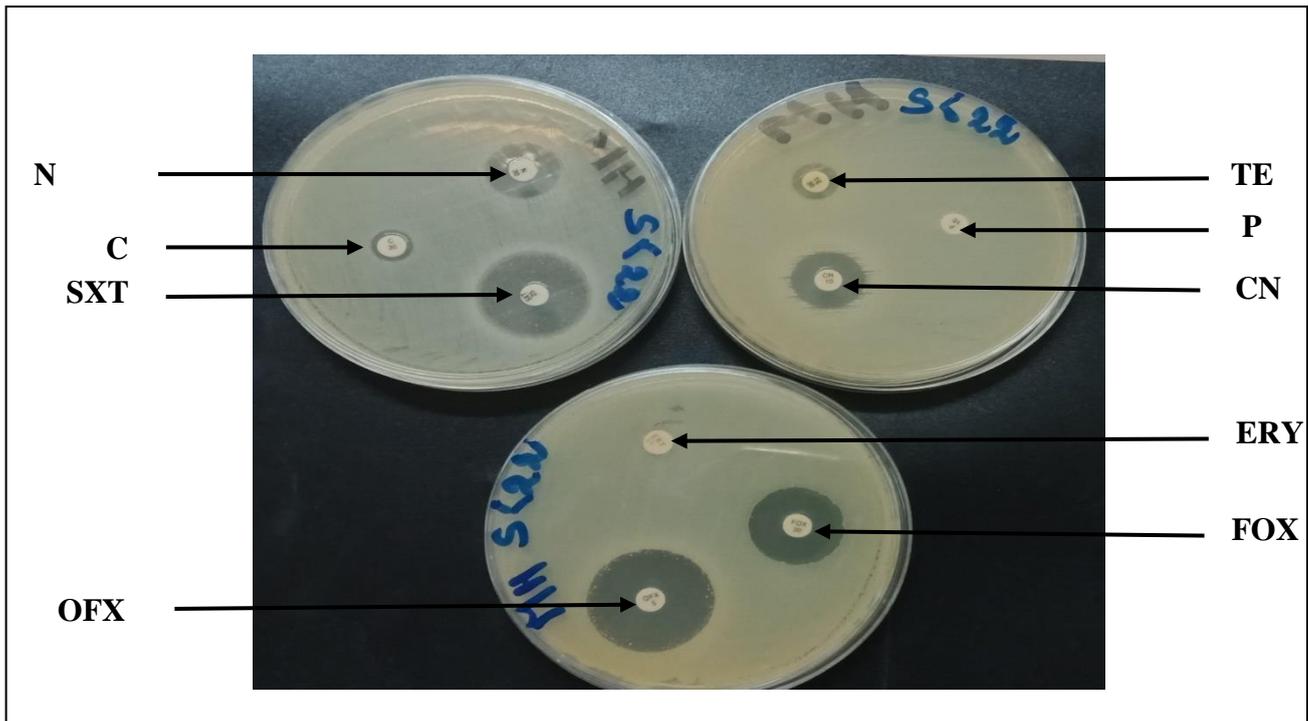


Figure 16 : Profil de résistance d'une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (SARM) (Photo personnelle prise au laboratoire).

II.1.4. Profils de multi-résistances des souches de *S. aureus* isolées

Au cours de notre étude nous avons obtenus cinq souches multi résistantes sur un total de 57 souches isolées, et cinq profils de multirésistances ont été observés (tableau 9)

Tableau 9 : Phénotypes de multi- résistances.

Phénotype de multi résistances	Nombre de souches
P/SXT/E	1
P/N/SXT/E	1
P/N/C/TE/FOX/E/CN	1
P/C/TE/FOX/E	1
P/OFX/E	1

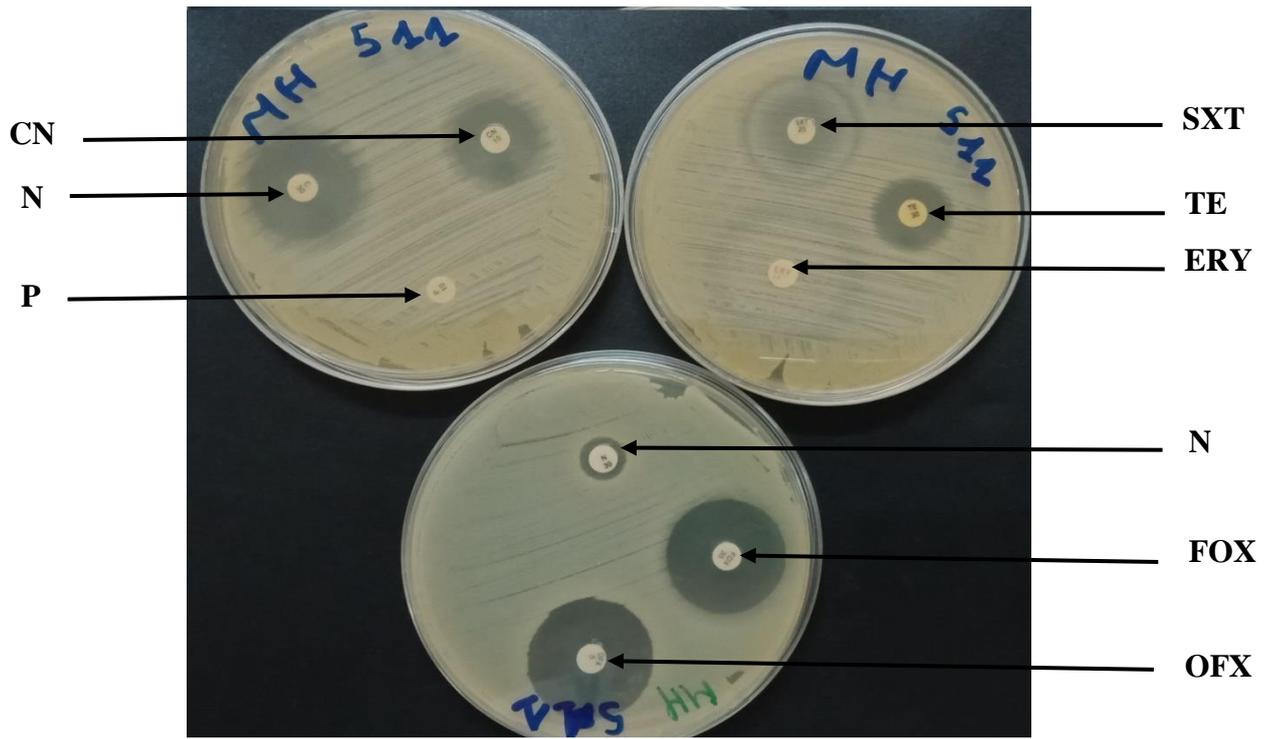


Figure 17 : Souche de *S. aureus* SASM multi-résistante.

II.2. Discussion

Staphylococcus aureus est un pathogène opportuniste chez les ruminants laitiers, où il est présent dans le portage sain et peut être un agent étiologique principal de la mammite (Seyffert *et al*, 2012). Il est également important de considérer que cet organisme a la capacité de développer une résistance contre presque tous les agents antimicrobiens (Zhang *et al* 2018). À cet égard, l'émergence du *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) dans l'industrie laitière constituent le principal problème de santé publique dans le monde entier (Papadopoulos *et al* 2018).

Au cours de notre étude, le taux du portage nasal de *S. aureus* chez les caprins est de 18.45% sur un total de 168 prélèvements. Ce taux est supérieur à ceux annoncés par certains auteurs.

Dans une étude visant l'étude de la prévalence et la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées d'animaux d'élevages à Bejaïa, Aissani et Ait Idir (2018), ont annoncé un faible taux d'isolement de *S. aureus* qui est de 8.3% chez les caprins. Presque la même fréquence d'isolement a été enregistrée en Tunisie par Daaloul-Jedidi *et al* (2016), qui était de 12.4%, ainsi qu'en Arabie saoudite qui était de 13.7% (Eldeeb *et al* 2018). En revanche, une fréquence légèrement élevée a été rapportée par Gharsa *et al* (2015), qui était de l'ordre de 19.2% ainsi que celle rapportée par Rahimi *et al* (2015) en Iran, qui était de l'ordre de 25%.

D'autres auteurs ont observé des fréquences plus élevées. Elles sont de l'ordre de 43.24 % (Zhou *et al*, 2017), 46.2 % (Anderson *et al*, 2018) et 64% (Eriksson *et al*, 2013).

Les divergences dans la fréquence d'isolement de *S. aureus* à partir des prélèvements nasaux dans les différentes zones géographiques pourraient s'expliquer par des différences dans les méthodes d'isolement, les conditions géographiques, les pratiques d'élevage et la densité des troupeaux (DastmalchiSaei *et al*, 2019), ainsi qu'à des comportements d'auto-soins tels que le léchage du nez chez les chèvres du troupeau et/ou à des modes de gestion (Daaloul-Jedidi *et al*, 2016).

Les staphylocoques sont des pathogènes importants pour les chèvres laitières. En effet, ils causent des mammites cliniques et subcliniques, qui sont considérées comme de sources potentielles de contamination du lait (Pugh et Baird, 2012 ; Hennekinne, 2018).

Dans la présente étude, la prévalence de *Staphylococcus aureus* dans le lait de chèvre est de 16,6%. Nos résultats sont en accord avec ceux rapporté par Bochev *et al* (2008) qui ont

obtenu un taux de 19,8%, et avec ceux de Muehlherr *et al* (2003), qui ont rapporté un taux de 31,7%.

De fortes incidences de *S. aureus* dans le lait caprin ont été rapportées par plusieurs auteurs, qui sont de l'ordre de 81,1%, 68,8% et 81,8% (Jolanta *et al*, 2004 ; Cupakova *et al*, 2012 ; Rola *et al*, 2015).

En revanche, certains auteurs ont observé de faibles prévalences de *S. aureus* dans le lait de chèvre (Mork *et al*, 2009 ; Andersen *et al*, 2019). Ces taux très élevés de contamination par *S. aureus* peuvent être expliqués par la contamination microbienne du lait cru à la ferme, qui est due principalement aux mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite et à la santé de l'animal, étant donné que *S. aureus* est la cause principale des mammites cliniques et sub-cliniques (Jamali *et al*, 2015).

Notre résultat ne corrobore pas avec celui de DastmalchiSaei *et al* (2019) qui ont montré un taux élevé de résistance à la pénicilline, qui est de l'ordre de 90%.

Il est intéressant de noter, que la majorité des souches isolées au cours de notre étude se sont révélées sensibles à la plupart des molécules d'antibiotiques, nos résultats rejoignent ceux de Zhou *et al* (2017), qui ont signalé de fortes sensibilités des souches testées et des taux de résistances souvent inférieur à 20%. De faibles résistances vis-à-vis de la tétracycline et la gentamicine ont été aussi observées par Porrero *et al* (2012), en Espagne, en revanche, Dastmalchi Saei *et al* (2019) ont montré un taux de résistance de 30% pour l'érythromycine.

La sensibilité relativement élevée des souches de *S.aureus* isolées dans notre étude est probablement liée à l'utilisation limitée d'antibiotiques dans les élevages de caprins (Wang *et al*, 2011), et que dans notre étude, toutes les fermes visitées préconisent des pâturages dans les hautes terres sans aucune pression de sélection de résistance aux antibiotiques (Daaloul-Jedidi *et al*, 2016).

L'émergence de bactéries résistantes aux antimicrobiens, en particulier le SARM, constitue une préoccupation de grande ampleur pour la santé humaine et la santé animale. En effet, plusieurs études ont montré la capacité des SARM à coloniser et à causer des infections chez les animaux de compagnie et chez les animaux de rente (Petinaki *et al*, 2012).

Durant notre étude, deux souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ont été isolées dans les prélèvements nasaux des caprins sur un total de 57 souches, ce qui donne une prévalence de 3.5%. Des taux similaires ont été rapportés par Mai-Siyama *et al* (2014), avec un pourcentage de 3,4%. Une fréquence d'isolement identique a été rapportée par Sidis et

Derguini (2017) à Bejaïa, en revanche, aucune souche SARM n'a été isolée dans l'étude menée par Aquino *et al* (2012).

Contrairement à la présence élevée de SARM chez d'autres animaux comme les porcs et les chevaux, sa prévalence chez les ruminants était très faible (Alves *et al*, 2009).

Nos résultats rejoignent ceux de Spanu *et al* (2010), qui ont rapporté une faible prévalence des SARM chez les ruminants, y compris le caprin. Bien que, la prévalence du SARM était faible chez les ovins et les caprins, le risque de sa transmission à d'autres populations est fort possible (Carfora *et al*, 2016), et ils pourraient ainsi constituer 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). Benito *et al* (2015) ont isolé un SARM portant le gène *mecC* dans une lésion de la peau d'un éleveur, ce dernier travaille dans un atelier de production de fromage au lait cru et en contact direct avec les animaux. Il est possible que le contact avec les animaux ou avec le lait cru puisse être à l'origine de cette souche. Le même constat a été rapporté par Carfora *et al* (2016) et Locatelli *et al* (2017), qui ont mis en évidence le transfert des SARM de bovins et des ovins vers des éleveurs.

Plusieurs études ont identifié des hautes colonisations des SARM (CC398) chez des humains en contact avec les animaux, incluant les propriétaires des élevages, les ouvriers, les vétérinaires praticiens et les travailleurs impliqués dans la chaîne d'abattage (Aires-de-Sousa *et al*, 2017). Pour cela, l'adoption de mesures d'hygiène, telles que l'utilisation des équipements de protection personnelles (masques et gants) peut être cruciale (Locatelli *et al*, 2017).

Conclusion

Staphylococcus aureus est largement disséminé comme colonisateur naturel des narines antérieures des animaux sauvages et domestiques et des humains.

Durant notre étude, 174 prélèvements incluant des écouvillonnages nasaux chez des caprins et des échantillons du lait cru ont été collectés à travers neuf élevages laitiers de la région d'Azeffoun (Tizi-Ouzou) et soumis à la recherche de *Staphylococcus aureus*.

Les résultats obtenus montrent des taux d'isolement variable de *S. aureus*. En effet, La prévalence de ce dernier dans les échantillons des prélèvements nasaux et ceux du lait cru, est de 18,45% et 16,66% respectivement. Au total 57 isolats de *S.aureus* ont été confirmés, comprenant 55 souches SASM et 2 souches SARM.

L'étude de la résistance des isolats aux antibiotiques montre de faibles résistances vis-à-vis de la plupart des molécules d'antibiotiques, à l'exception de la pénicilline qui a montré une résistance relativement élevée de l'ordre de 49,12%.

Malgré que la prévalence des SARM était faible, mais reste non négligeable car leur présence chez les caprins pourra constituer une menace pour la santé publique, via la transmission de ces souches aux humains.

D'autres études complémentaires peuvent être envisagées, tel que l'étude du portage nasal de *S. aureus* chez les personnes en contact étroit avec les animaux, dans le but de mettre en évidence des zoonoses, ainsi que la caractérisation des souches isolées sur le plan génotypique et l'étude de leur lien génétique.

Références

- **Aires-De-Sousa. M, 2017.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. Clin. Microb. Infect. 23, 373-80.
- **Aissani. D et Ait idir. T, 2018.** Prévalence et résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées d'animaux de la ferme Bejaïa. Mémoire de master en biologie. Université de Béjaïa. P 23.
- **Akoua-Koffi. C, Guessennd. N, Gbonon. V, Faye-Ketté. H and Dosso. M, 2004.** La méthicillino-résistance de *Staphylococcus aureus* isolés à Abidjan (1998-2001) : un nouveau problème en milieu hospitalier Med Mal Infect 34 :132-136.
- **Alanis. A.J, 2005.** Resistance to antibiotics: are we in the post antibiotic era. Elsevier, Archives of medical research, 36, 697-705.
- **Albertini. M. T, Benoit. C, Berardi. L, Berrouane. Y, Boisivon. A and Cahen. P et al, 2002.** Surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Enterobacteriaceae* producing extended sepctrum betalactamase (ESBLE) in Northern France: a five-year multicentre incidence study. J Hosp Infect. 52 (2): 107-713.
- **Alekshun. M.N, Levy. S.B, 2007.** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. Cell, 128, 1037-1050.
- **Alves. P. D, McCulloch. J. A, Even. S, Le Maréchal. C., Thierry. A, Grosset. N, Azevedo. V, Rosa. C.A, Vautor. E and Le Loir. Y, 2009.** Molecular characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from small and large ruminants reveals a host rather than tissue specificity. Vet. Microbiol. 137, 190-195.
- **Aman. M. J, Karauzum. H, Bowden. M. G and Nguyen. T. L, 2010.** Structural model of the pre-pore ring-like structure of Panton-Valentine leukocidin: providing dimensionality to biophysical and mutational data. J. BioMol. Struct. Dyn. 28: 1-12.
- **Andrement. A, Corpet. D et Courvalin. P, 1997.** La résistance des bactéries aux antibiotiques. Pour la science, 232, 66-73.
- **Antri. K, Rouzic. N, Boubekri I, Dauwalder. O, Beloufa. A et al, 2011.** High prevalence of community and hospital acquired infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing PantonValentine leukocidin gene in Algiers. Path Biol, 58 : 15-20.

- **Aquino. V, Maluta. R. P. and Ávila. F. A, 2012.** Prevalence of methicillin-resistant staphylococci on a farm: staff can harbour MRSA when animals do not. *Zoonoses Public Health* 59, 1–3.
- **Argudín. M. A, Mendoza M. CetRodicio M. R, 2010.** Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2, 1751-1773.
- **Avril. J. L, Dabernat. H, Denis. F and Monteil. H, 2003.** Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ellipses, Paris. 8-28
- **Avril. J.L, Dabernat. H, Denis. F. et Monteil. H, 2000.** Les cocci à Gram positif, In Bactériologie Clinique, Ellipses, Paris.
- **Baggett. H.C, Hennessy. T.W, Rudolph. K, 2004.** Community-onset methicillin-resistant. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 24 (6): 397-402.
- **Balaban. N et Rasooly. A, 2000.** Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, 61, 1-10.
- **Batard. É, El Kouri. D, Potel. G, 2007.** Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC - Maladies infectieuses. 1-8
- **Behme. R. J, Shuttleworth. R, McNabb. A, Colby. W. D, 1996.** Identification of staphylococci with a self-educating system using fatty acid biochemical tests. *J Clin Microbiol*, 34: 3075-3084.
- **Benito. D, Gómez. P, Aspiroz. C, Zarazaga. M, Lozano. C, Torres. C, 2016.** Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Humans Related to a Livestock Farm in Spain, With Detection of MRSA-CC130 Carrying *mecC* Gene: A Zoonotic Case?. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 34(5), 280-285.
- **Bergonier. D, de Crémoux. R, Rupp. R, Lagriffoul. G, Berthelot. X 2003.** Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34, 689-716.
- **Bes. M, Brun. Y, 2002.** *Staphylococcus* : actualités taxonomiques et identification. *Rev Francoph Lab.* 343:23–30.
- **Bhakdi. S, Trantum-Jensen. J, 1991.** Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Review*; 55: 733-751.
- **Bhunja. A. K, 2008.** Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis, Springer, New York.
- **Biljana. M. S, Dinic. M, Orlovic. Jet Babic. T, 2015.** *Staphylococcus aureus*: immunopathogenesis and human immunity. *Acta facultatis Medicae Naissensis*, 32(4), 243-257.

- **Bochev. I, Russenova. N, 2005.** Resistance of *Staphylococcus spp.* strains isolated from goats with subclinical mastitis. BJVM 8, 109–118.
- **Boden. M. K and Flock. J. I, 1989.** Fibrinogen-binding protein/clumping factor from *Staphylococcus aureus*. Infect. Immun. 57: 2358-2363.
- **Boisset. S et Vandenesch. F, 2010.** Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines, in *Staphylococcus aureus*. TEC et DOC, Paris. France.
- **Bokarewa. M. I, Jin. T, Tarkowski. A, 2006.** *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase. International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 38 (4), 504-509.
- **Boneca. I. G et Chiosis. G, 2003.** Vancomycin Resistance: Occurrence, Mechanisms and Strategies to combat it, Expert Opin. Ther. Targets, 7 (3), 311-328.
- **Bosgiraud. C, 2003.** Microbiologie général et santé, association des enseignants de microbiologie et d'immunologie des facultés de pharmacie, édition ESKA. p277-292, p412-404.
- **Boucher. H.W, Corey. G.R, 2008.** Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Clin. Infect. Dis. 46, 344–349.
- **Breche. P, Gaillard. J and Simonet. M 1988.** Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie“ Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 267-277.
- **Brown. D. F. J, 2005.** Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Antimicrob Chemother, 56:1000-1018.
- **Brun. Y et Bes. M, 2000.** Précis de bactériologie clinique. Freney, J., Renaud, F., Hansen, W. et Bollet, C. Edition ESKA, Paris, p. 783-830.
- **Callegan. M. C, Lee. S. F, Hill. J. M et O'Callaghan. R. J, 1994.** Corneal Virulence of *Staphylococcus aureus*: Roles of Alpha-Toxin and Protein A in Pathogenesis infection and immunity, vol.62 p. 2478-2482.
- **Carfora. V, Giacinti. G, Sagrafoli. D, Marri. N, Giangolini. G, Alba. P, Feltrin. F, Sorbara. L, Amoroso. R, Caprioli. A, Amatiste. S, Battisti. A, 2016.** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et susceptible à la méticilline chez les ovins laitiers et les humains en contact : une étude intra-exploitation. Journal de la science laitière. Vol 99, num 6 , p 4251-4258.

- **Cengiz. S, Dinc. G and Cengiz. M, 2015.** Evaluation of antimicrobial resistance in *Staphylococcus spp.* isolated from subclinical mastitis in cows. Pak Vet J, 35: 334-338.
- **Chaby. R, 2010.** des endotoxines au lipopolysaccharides : structure, activité cellulaires et effets physiopathologiques, édition Lavoisier, Paris. France
- **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. Thrombosis Haemostasis, 94 (2), 278-285.
- **Chopra. I et Roberts. M, 2001.** Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 65 (2), 232-260.
- **Clarke. S. R, Foster. S. J, 2006.** Surface adhesins of *staphylococcus aureus* Adv Microb Physiol 2006 ; 51: 187-224.
- **Connell. S. R, Tracz. D. M, Nierhaus. K. H et Taylor. D. E, 2003.** Ribosomal Protection Proteins and Their Mechanism of Tetracycline Resistance, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47 (12), 3675–3681.
- **Contreras. A, Luengo. C, Sánchez. A, Corrales. J. C, 2003.** The role of intramammary pathogens in dairy goats. Livest. Prod. Sci.79, 273-283.
- **Cortimiglia. C, Bianchini. V, Franco. A, Capriolo. A, Battisti. A, Colombo. L, Stradiotto. K, Vezzoli. F and Luini. M, 2015.** Short communication: prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in bulk tank milk from dairy goat in Northern Italy. J. Dairy Sci. 98:23072311.
- **Couderc. C, 2015.** Impacte des antibiotiques sur l’histoire naturelle de la colonisation nasal par *Staphylococcus aureus*, p 24.
- **Courvalin. P, 2006.** Glycopeptides et entérocoques. In : Courvalin P., Lecercq R., Bingen E. AntibioGramme. ESKA, Paris, 289-298.
- **Cunnion. K. m, Zhang. H. M, Crawford. S, Frank. M. M, 2003.** Availability of complement bound to *Staphylococcus aureus* to interact with Membrane Complement Receptors Influences Efficiency of phagocytosis. Infect Immun ; 71: 656-662.
- **Cupakova. S, Pospisilova. M, Karpiskova. R, Janstova. B, Vorlova. L, 2012.** Microbiological quality and safety of goat’s milk from one farm. Acta Univ. Agric. Fac. Agron. 60, 33–38.

- **Daaloul-Jedidi. M, Soudani. A, Messadi. L, 2016.** Nasal and rectal carriage of coagulase positive *Staphylococcus* in healthy goats. Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 33(4), 1910-1913.
- **Dastmalchi Saei1. H, Panahi1. M, 2019.** Genotyping and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy ruminants: differences in the distribution of clonal. Archives of Microbiology (2020) 202:115–125
- **Demarco. C. E, Cushing. L.A, Frempong-Manso. E, Seo. S. M, Jaravaza .T. A, Kaatz. G. W, 2007.** Efflux-related resistance to norfloxacin, dyes, and biocides in bloodstream isolates of *staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 51: 3235-3239.
- **Dinges. M. M, Orwin. P. M, Schlievert. P. M, 2010.** Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines, in *Staphylococcus aureus*, TEC et DOC, Paris.
- **Donio. 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.
- **Dubas. M, 2008.** virulence de *Staphylococcus aureus* et des *Listeria*, Association des anciens élèves de l'institut Pasteur, 50 ème année, num 195.
- **East. N. E, Birni. E. F, Farver. T.B, 1987.** Risk factors associated with mastitis in dairy goats. Am. J. Vet. Res. 48, 776–779.
- **Economou. V, Gausia. P, 2015.** Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. Infect. Drug Res. 8, 49-61.
- **El-Deeb. W, Fayez. M, Elmoslemany. A, Kandeel. M, Zidan. K, 2018.** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among goat farms in Eastern province, Saudi Arabia: Prevalence and risk factors.
- **Eriksson. J, Espinosa-Gongora. C, Stamphøj. I, Rhod Larsen. A, Guardabassi. L, 2013.** Carriage frequency, diversity and methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* in Danish small ruminants. Veterinary. Microbiology. 163: 110-115.
- **Eyquem. A, Alouf. J and Montagnier. L, 1998.** Traité de Microbiologie clinique «Staphylocoques» Nevine EL SOLH. PICCIN NUOVA, Italie. 567-591.
- **Faires. M, TATER. K, Weese. J. S, 2009.** An investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in people and pets in the same household with an infected person or infected pet. J. Am. Vet. Med. Assoc. 235, 540-543.
- **Fasquelle. R, 1974.** « Eléments de bactériologie médicale ». 9ème édition. Flammarion. Paris.

- **Faye. K, 2005.** Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques : impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. Masson, Paris. 7,45-52.
- **Fitzgerald. R, 2012.** Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin, evolution and public health threat.
- **Flandrois. J. P, 1997.** Bactériologie médicale. Presse Universitaire de Lyon.
- **Flandrois. J. P, 2000.** Bactériologie Médicale. Coll Azay. Puf.
- **Foster. T. J, 2005.** Immune evasion by staphylococci. Nature Review Microbiology, 3 (12), 948-958.
- **Foster. T. J, Geoghegan. J. A, Ganesh. V. K, Hook. M, 2013.** Adhesion, invasion and evasion: the many functions of surface proteins of *Staphylococcus aureus*. Nature Rev Microbiol; 12:49-62.
- **Fournier. C, Kuhnert. P, Frey. J, Miserez. R, Kirchhofer. M, Kaufmann. TA, 2008.** Steiner, H.U. Graber, Bovine *Staphylococcus aureus*: association of virulence genes, genotype and clinical outcomes, Res. Vet. Sci. 85 439-448.
- **Gardete. S et Tomasz. A, 2014.** Mechanisms of Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*, The Journal of Clin Inves, 124 (7), 2836-2840.
- **Garrity. G. M, Johnson. K. L, Bell. J and Searles. D. B, 2002.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, second ed. Springer-verlag, New York
- **Garrity. G. M, Lilburn. T. G, Cole. J. R, Harrison. S. H, Euzéby. J and Tindall. B. J, 2007.** Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7. Part 9- the Bacteria: Phylum "Firmicutes": Class "Bacilli".
- **Genestier. A. L, Michallet. M. C, Prevost G, Bellot G, Chalabreysse. C, Peyrol. S, Thivolet. F, Etienne. J, Lina. G, Vallette. F. M, Vandenesch. F. et Genestier. L, 2010.** Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines, in *Staphylococcus aureus*, TEC et DOC, Paris.
- **Gharsa. H, Ben Slama. K, Gómez-Sanz. E, Lozano. C, Zarazaga. M, Messadi. L, Boudabous. A, Torres. C, 2015.** Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* from nasal samples of healthy farm animals and pets in Tunisia. Vector. Borne. Zoonotic. dis. 15: 109-115.
- **Ghuysen. J. M, 1994.** Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. Trends Microbiol. 2: 372-380.

- **Gomez. M.I, O'Seaghdha. M, Magargee. M, Foster. T. J and Prince. A.S, 2006.** *Staphylococcus aureus* protein A activates TNFR1 signaling through conserved IgG binding domains. *The Journal of Biological Chemistry*, 281, pp. 20190-20196.
- **Gordon. R. J, and Lowy. F. D, 2008.** Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin. Infect. Dis.* 46, S350–S359.
- **Gordoncillo. M. J, Abdujamilova. N, Perri. M, Donabedian. S, Zervos. M, Bartlett. P, 2012.** Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in backyard pigs and their owners, Michigan, USA. *Zoonoses Public Hlth.* 59, 212-216.
- **Gouaux. E, 1998.** α -Hemolysin from *staphylococcus aureus* An Archetype of B-Barrel, Channel-Forming Toxins. *J Struct Biol*; 121: 110—122.
- **Grace. D, Fetsch. A, 2018.** *Staphylococcus aureus*—A foodborne pathogen: Epidemiology, detection, characterization, prevention, and control: An overview, in: Fetsch, A. (ed.), *Staphylococcus aureus*. Academic Press, Cambridge, MA, pp. 3-10.
- **Graille. M, Stura. E. A, Corper. A. L, Sutton. B. J, Taussig. M. J, Charbonnier. J. B and Silverman. G. J, 2000.** Crystal structure of a *Staphylococcus aureus* protein A domain complexed with the Fab fragment of a human IgM antibody: Structural basis for recognition of B-cell receptors and superantigen activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97, 5399–5404.
- **Guardabassi. L, Courvalin. P, 2006.** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press: Washington, 1-18.
- **Hannekine. J. A, Ostyn. A, Guillier. F, Herbin. S, Pruffer. A. L et Dragacci. S, 2010.** How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized. *Toxins Rev*, 2, 2106-2116.
- **Hennekinne, J. A, 2018.** *Staphylococcus aureus* as a Leading Cause of Foodborne Outbreaks Worldwide. *Staphylococcus aureus*. pp. 129–146.
- **Hill. L. R, 1959.** The Adansonian classification of the staphylococci. *J GEN Microbiol.* 20: 277-283.
- **Hiramatsu. K, 2001.** Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a New Model of Antibiotic Resistance, *The Lancet Infectious Diseases*, 147-155.
- **Hiramatsu. K, Katayama. Y, Matsuo. M, Sasaki. T, Morimoto. Y, Sekiguchi. A. Baba. T, 2014.** Multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy. *J. Infect. Chemother.* 20, 593–601

- **Ito. T, Okuma K, Ma X.X, Yuzawa. H, Hiramatsu. K, 2003.** Insights on antibiotic resistance *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic islands SCC. Drug Resist Update 6 :41-52.
- **Jamali. H, Paydar. M, Radmehr. B, Ismail. S, Dadrasnia. A, 2015.** Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. Food Control, 54, 383-388.
- **Kayaba. H, Kodama. K, Tamura. H, Fujiwara. Y, 1997.** The spread of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in a rural community: will it become a common colonizing among the general population? Jpn. J. Surg. 27, 217-219.
- **Kevin L. Anderson, Kearns1. R, Lyman. R, Maria T. Correa, 2019.** Staphylococci in dairy goats and human milkers, and the relationship with herd management practices. Small Ruminant Research 171 (2019) 13–22.
- **Klimešová1. M, Mangaé. I, Nejeschlebová1. L, Horáček1. J, Ponížil1. A, Vondrušková1. E, 2017.** Occurrence of *Staphylococcus aureus* in cattle, sheep, goat, and pig rearing in the Czech Republic. ACTA VET. BRNO 2017, 86: 3–10.
- **Kloos. W. E and Lambe. D. W, 1981.** *Staphylococcus*. In manual of clinical microbiology, 4th ed Am. Soc. For Microbiology. 222-235.
- **Kluytmans. J, Belkum. A. V, Verbrugh. H, 1997.** Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin. Microbiol. Rev. 10, 505-520.
- **Knothe. G. P, Shah. P, Kremery. V, Antai. M, Mitsuhashi. S, 1983.** Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection; 11:315-7.
- **Le Loir. Y and Gantier. M, 2009.** *Staphylococcus aureus*. Lavoisier.
- **Le Loir. Y et Gautier. M, 2010.** « Monographie de la microbiologie : *Staphylococcus aureus* ». TEC et DOC, Lavoisier, Paris.
- **Le Minor. L et Veron. M, 1982.** Bactériologie Médicale, 1ère édition, Flammarion, Paris. France.
- **Leclerc. H, Gaillard. J. L, Simonet. M, 1995.** Microbiologie générale. Ed, DOIN. Paris. France.
- **Leclercq. R, 2002.** Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. Clin. Infect. Dis. 34, 482–492.

- **Lee. L. Y, Miyamoto. Y. J, McIntyre. B.W, Hook. M, Mccrea. K. W, Mcdevitt. D et Brown. E. L 2002.** The *Staphylococcus aureus* map protein is an immunomodulator that interferes with T cell-mediated responses. *Journal of Clinical Investigation*, 110, 1461–1471.
- **Leyral. G et Vierling. E, 2007.** *Microbiologie et Toxicologie des Aliments : Hygiène et Sécurité Alimentaire*, 4ème édition, Paris.
- **Lindsay. J. A, 2014.** *Staphylococcus aureus* genomics and the impact of horizontal gene transfer. *Int. J. Med. Microbiol.* 304, 103–109.
- **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. DairySci.* 100:1–12.
- **Loeffler. A, Boag. A. K, Sung. J, Lindsay. J. A, Guardabass. L, Dalsgaard. A, Smith. H, Stevens. K. B, Lloyd. D. H, 2005.** Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *J. UK. J. Antimicrob. Chemother.* 56, 692-697.
- **Lowry. F.D, 2003.** Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus* the journal of Clin Inves, 111 (9), 1265-1273.
- **Lowy. F. D, 1998.** *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med.* 339:520–532.
- **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 Medecine Paris René DESCARTES.
- **Mainardi. J. L, Goldstein. F. W, Gutmann. L, 1996.** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *EncyclMédChir* (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses, 8-006-N-10 : p 8.
- **Mandell. G. L, Bennett. J. E, Dolin. R, 2009.** Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA.
- **Merlet. A, 2010.** Implication de la leucocidine de Panton et Valentine dans les infections sévères à *Staphylococcus aureus* en nouvelle-calédonie, thèse de doctorat : université Bordeaux 2 des sciences médicales. P117.
- **Mørk. T, Kvitle. B, Mathisen. T, Jørgensen. H. J, 2009.** Bacteriological and molecular investigations of *Staphylococcus aureus* in dairy goats. *Vet Microbiol* 141 (2010) 134–141

- **Mørk. T, Kvitle. B, Mathisen. T, Jørgensen. H.J, 2010.** Bacteriological and molecular investigations of *Staphylococcus aureus* in dairy goats. Vet. Microbiol. 141: 134-141.
- **Muehlherr. J. E, Zweifel. C, Corti. S, Blanco. J. E, Stephan. R, 2003.** Microbial quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. J. DairySci. 86, 3849–3856
- **Mulligan. M. E, Murray. K. A, Standiford. H. C, John. J. F, Kauffmann. C. A, Yu. V. L, 1993.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. Am. J. Med. 94, 313-328.
- **Nandy. P, Roy. S, Thakur. A. R, 2013.** Chauduri SR.Comparative study on characterization of three staphylococcal isolates from varied origin; Available <https://tspace.library.utoronto.ca/handle/1807/36824>
- **Nauciel. C et Vildé. J. L, 2005.** Bactériologie Médicale, 2ème édition, Masson, Paris.
- **Nikaido. H, 2009.** Multidrug resistance in bacteria. Annu. Rev. Biochem., 2009, 78, 119-146.
- **O'Brien. F. G, Pearman. J.W, Gracey. M, Riley. T. V and Grubb. W. B, 1999.** Community strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* involved in a hospital out break. J Clin. 37: 2858-62.
- **O'neil. A. J, Mclaws. F, Kahlmeter. G, Henriksen. A. S et Chopra. I, 2007.** Genetic basic of resistance of fusidic acid in Staphylococci. Antimicrob Agents Chemother 51: 1737-40.
- **O'riordan. K, Lee. J. C, 2004.** *Staphylococcus aureus* Capsular Polysaccharides. Clin Microbiol Rev. 17 :218-234.
- **Orenstein. A, 2011.** The Discovrey and Naming of *Staphylococcus aureus* Gevonden Op.
- **Pancholi. V, 2002.** Staphylococcal Extracellular/ Surface Enzymatic Activity, in *Staphylococcus aureus* Infection and Disease, Kluwer Academic Publishers, New York.
- **Papadopoulos. P, Papadopoulos. T, Angelidis. A. S, Kotzamanidis. C, Zdragas. A, Papa. A, Filioussis. G, Sergelidis. D, 2018.** Prevalence, antimicrobial susceptibility and characterization of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant

Staphylococcus aureus isolated from dairy industries in north-central and north-eastern Greece. Int J Food Microbiol 291:35–41

- **Peacock. S. J, Moore. C. E, Justice. A, Kantzanou. M, Story. L, Mackie. K, O'Neill. G, Day. N. P, 2002.** Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*, Infect. Immun. 70 4987-4996.
- **Pellerin. J. L, Gautier. M et Le Loir. Y, 2010.** Identification de l'Espèce au Sein du Genre, in *Staphylococcus aureus*. Tec et Doc, Paris.
- **Petinaki. E, Spiliopoulou. I, 2012.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food-chain animals: impact of human contacts. Clin Microbiol Infect, 18(7): 626–34.
- **Peton. V, LeLoir. Y, 2014.** *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. Infect. Genet. Evol. 21, 602-615.
- **Pitout. J. D, Hanson. N. D, Church. D. L, Laupland. K. B, 2004.** Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum β -lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M Genes. Clin Infect Dis 2004;38:1736-41
- **Plata. K, Rosato. A. E, Węgrzyn. G, 2009.** *Staphylococcus aureus* as an Infectious Agent: Overview of Biochemistry and Molecular Genetics of its Pathogenicity, Acta Biochimica Polonica, (4), 597-612.
- **Porrero. M. C, Hasman. H, Vela. A. I, Fernandez-Garayzabal. J. F, Dominguez. L, Aarestrup. F. M, 2012.** Clonal diversity of *Staphylococcus aureus* originating from the small ruminants goats and sheep. Vet Microbiol. 2012;156(1–2):157–61.
- **Prescott. J. F, Baggot. J. D, Walker. R. D, 2000.** Antimicrobial drug resistance and its epidemiology. In: Iowa State University Press. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. Edition. Pp27-49.
- **Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D, Bacq-calberg. C. M, Dusart. J, 2002.** « Microbiologie », 5 ème édition, De Boeck.
- **Pugh. D. G, Baird. A. N, 2012.** Sheep and Goat Medicine, second edition. Elsevier Saunders, Maryland Heights, MS.
- **Quincampoix. J. C et Mainardi. J. L, 2001.** Mécanismes de résistance des cocci à gram positif. Editions Scientifiques et Médicales ELSEVIER SAS, 10, 267-275.
- **Rahimi. H, DastmalchiSaei. H, Ahmadi. M, 2015.** Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Frequency and antibiotic resistance in healthy ruminants. Jundishapur Journal of Microbiology. 8 e22413.

- **Roberts. M. C, et Schwarz. S, 2009.** Tetracycline and Chloramphenicol Resistance Mechanisms, in Antimicrobial Drug Resistance: Mechanisms of Drug Resistance, Humana Press, New York.
- **Rola. J, G, Korpysa-Dzirba. W, Czubkowska. A, Osek. J, 2015.** Prevalence of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci recovered from cow milk. Journal of Dairy Science 98, p4273-4278.
- **Rola. J. G, MaciejSosnowski, Ostrowska. M, Osek. J, 2004.** Prevalence and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci isolated from raw goat milk. Small Ruminant Research 123 (2015) 124–128.
- **Schauera. B, Krametter-Frötschera. R, Knauerb.F, Ehrichtc. R, Moneckec.S, Feßlerf. A.T, Schwarzf.S, Grunertg. T, Spergserg. J, Loncaric.I, 2018.** Diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from Austrian ruminants and New World camelids, Vet Microbiol 215 77–82
- **Schleifer. K. H et Bell. J. A, 2009.** Staphylococcaceae, in: Bergy's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: the Firmicutes, Springer, New York.
- **Schlievert. P. M, Kristi. L, Strandberg Ying-Chi Lin, Marnie. L, Peterson, Pharm. D, Donald. Y. M, Leung. M.D, 2010.** Secreted virulence factor comparison between methicillin resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, and its relevance to atopic dermatitis J. Allergy Clin. Immunol. 125,9-49.)
- **Schmitz. F. J, Fluit. A. C, Hafner. D, Beeck. A, Perdikouli. M, Boos. M, Scheuring. S, Verhoef. J, köhrer. K, Von Eiff. C, 2000.** Development of resistance to ciprofloxacin, rifampin, and mupirocin in methicillin-susceptible and-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. Antimicrob Agents Chemother 44:3229-3231.
- **Schnappinger. D, Hillen. W, 1996.** Tetracyclines: Antibiotic Action, Uptake, and Resistance Mechanisms. Arch Microbiol, 165, 359-369.
- **Schwarz. S, Chaslus-dancla. E, 2001.** Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. J. Vet. Res. 32,201-25.
- **Serradj. C, 2016.** Etude du portage des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline chez les animaux d'élevages. Mémoire Master. Page 11.
- **Seyffert. N, Le Marechal. C, Jardin. J, McCulloch. J. A, Rosado. F. R, Miyoshi. A, Even. S, Jan. G, Berkova. N, Vautor. E, Thiery. R, Azevedo. V, Le Loir. Y, 2012.** *Staphylococcus aureus* proteins differentially recognized by the ovine immune response in mastitis or nasal carriage. Veterinary Microbiology 157:439–447.

- **Silbergeld. E. K, Graham. J, Price. L. B, 2008.** Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. *Annu. Rev. Public Health* 29, 151–169
- **Sköld. O, 2000.** Sulfonamide Resistance: Mechanisms and Trends, *Drug Resistance Update*, 3, 155-160.
- **Smeltzer. M. S, Lee. C. Y, Harik. N, Hart. M. E, 2009.** Molecular Basis of Pathogenicity, in *Staphylococci in Human Disease*, Wiley-BlackWell, Singapore.
- **Smith. M. C, Sherman. D. M, 2009.** *Goat Medicine*, second ed. Wiley-Blackwell, Ames, IA.
- **Soell. M, Diab. M, Haan-Archipoff. G, Beretz. A, Herbelin. C, Poutrel. B, 1995.** Capsular polysaccharide types 5 and 8 of *Staphylococcus aureus* bind specifically to human epithelial (KB) cells, endothelial cells, and monocytes and induce release of cytokines *Infect Immun.* 63: 1380-1386.
- **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.* 274:1859-1866.
- **Songer. J. G, Post. K. W, 2005.** Gram-positive aerobic Cocci. In: *Veterinary microbiology. Bacterial & fungal agents of animal disease. Illustrated edition.* (KW editor), Elsevier Saunders, St. Louis, 35-42
- **Spanu. V, Viridis. S, Scarano C, Cossu.F, De Santis. E. P, Cosseddu. A. M, 2010.** Antibiotic resistance assessment in *S. aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese. *Vet Res Commun.* 1, 87-90.
- **Speer. B. S, Shoemaker. N. B, et Salyers. A. A, 1992.** Bacterial Resistance to Tetracycline: Mechanisms, Transfer, and Clinical Significance, *Clinical Microbiology Reviews*, 5 (5), 387-399.
- **Strahilevitz. Jet Hooper. D. C, 2009.** Resistance to Other Agents, in *Staphylococci in Human Disease*, Wiley-Black Well, Singapore.
- **Sylvie. C, 2009.** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important!
- **Tally. F. P, 1993.** Les Staphylocoques : ABC et Autres Maladies, in *Microbiologies et Pathologies Infectieuses*, DeBoeck, Paris.
- **Tankovic. J, Aubry-Damon. H, Leclercq. R, 1997.** Résistance aux antibiotiques et aux autres antibiotiques que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. *Médecine des Maladies Infectieuses*, 27, 207-216.
- **Tille. P. M, 2014.** *Bailey & Scott's diagnostic microbiology.*

- **Tomasz. A, Nachman. S, Leaf. H, 1991.** Stable classes of phenotypic expression in methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. *Antimicrobial Agents Chemother* 33: 1869-1874. Université Bordeaux 2 des sciences médicales. p117.
- **Velasco. D, Del Mar Tomas. M, Cartelle. M, Beceiro. A, Perez. A, Molina. F, Mourevincenot. F, Saleh. M, Prévost. G, 2008.** Les Facteurs de Virulence de *Staphylococcus aureus*, *Revue Francophone des Laboratoires*, 407, 61-69.
- **Villanueva. R, Boug. R, 2005.** Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 55(3):379-382.
- **Vincenot. F, Saleh. M, Prevost. G, 2008.** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Infection à Pneumocoque et Staphylococcus aureus. Revue Francophone des Laboratoires N 407*, p61-67
- **Wang. D, Wang. Z, Yan. Z, Wu. J, Ali. T et al, 2015.** Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: Antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin sensitive strains in China. *Infect Gen evol*, 31: 9-16
- **Wang. Y. Z, Wang. Y, Han. X, Yue. H, Tang. C, 2011.** Prevalence and resistance analysis of *Staphylococcus aureus* in clinical healthy goats. *Chin AnimHusbVet Med.* 2011; 38(3):167–70.
- **Wattam. A. R, Abraham. D, Dalay. O, Disz. T. L, Driscoll. T, Gabbard. J. L, et al, 2014.** PATRIC, the bacterial bioinformatics database and analysis resource. *Nucleic Acids Res.* 42:D581-591.
- **White. E, 2007.** The prevalence of mastitis in small ruminants and the effect of mastitis on small ruminant production. *Proc. 46 th Ann. Meet. Natl. Mastitis Council, Madison, WI.* 119- 127.
- **Whitman. W. B, 2009.** Editor. *Systematic Bacteriology*, internet. New York, NY: Springer New York. Available : <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-68489-5>
- **Wilke. G.A, Bubeckwardenburg. J, 2010.** Role of a disintegrin and metalloprotease 10 in *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin-mediated cellular injury. *Proc Natl AcadSci U S A.* 2010; 107: 13473-13478.
- **Woodford. N, 2005.** Biological counterstrike: antibiotic resistance mechanisms of Gram- positive cocci. *Clin. Microbiol. Infect.* 11, 2–21.
- **Yala. D, Merad. A. S, Mohamedi. D, et Ouar koriche. M. N, 2001.** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n°91.

- **Yamashita. S. K, Louie. M, Simor. A. E, Rachlis. A, 2000.** Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. *Can J Infect Dis* 2000; 11:107-11.
- **Zhang. L, Gao. J, Barkema. H.W, Ali. T, Liu. G, Deng. Y, Naushad. S, Kastelic. J.P, Han. B, 2018.** Virulence gene profiles: alpha-hemolysin and clonal diversity in *Staphylococcus aureus* isolates from bovine clinical mastitis in China. *BMC VetRes* 14:63.
- **Zhou. Z, Zhang. M, Li. H, Yang. H, Li. X, Song. X and Wang. Z, 2017.** Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from goats in Chongqing, China. Zhou et al. *BMC Veterinary Research* (2017) 13:352.

Annexes

Annexes 1 : Milieux de culture utilisés et leur composition

Gélose de Baird-Parker

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

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 en les laissant 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

Bouillon Coeur cervelle (BHIB)

Extrait cœur- cervelle 17g

Peptone pancréatique de gélatine 10g

Na Cl 5g

Phosphate disodique 2.5g

Glucose..... 2g

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 mn.

Pour l'obtention du milieu solide BHI,

Gélose BHI (Brain Heart Infusion)

Composition en g/l

Peptone pancréatique de gélatine 10

Chlorure de sodium 5

Phosphate disodique 2.5

Glucose..... 2

Agar..... 15

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

Milieu TSYEA (Trypton Soja Yeast Extract Agar)

Composition en g/l

Tryptone 17

Chlorure de sodium 5

Peptone de soja..... 3

Phosphate dipotassique.....	2.5
Glucose monohydrate.....	2.5
Extrait de levure	6.0
Agar bactériologique	15.0

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

Préparation : mettre en suspension 51g dans 1l d'eau distillée. Bien mélanger chauffer légèrement si nécessaire jusqu'à dissolution. Répartir en flacons puis stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

Gélose à ADN

Hydrolysate tryptique de caséine.....	20 g
AND	2g
NaCl	5g
Gélose.....	1.2g
Eau D.....	1000ml

Préparation : 39 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 mn.

Muller Hinton

Hydrolysate acide de caséine	17.5g
Infusion de viande	2g
Amidon soluble	1.7g
Agar bactériologique	17g

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 mn.

Annexe 2 : Résultats de l'identification biochimique des colonies caractéristiques.

Tests souches	Catalase	ADNase	Coagulase	Code
C1T3E4	+	+	+	S495
CT2E9	+	+	+	S495
C1T2E1	+	+	+	S496
C1T2E4	+	+	+	S497
C2T1E16	+	+	+	S498
C1T1E3	+	+	+	S499
C1T1E17	+	+	+	S500
C3T3E20	+	+	+	S501
C3T3E12	+	+	+	S510
C2T3E12	+	+	+	S511
C2T3E10	+	+	+	S512
C1T3E12	+	+	+	S513
C1T3E10	+	+	+	S517
C1T3E20	+	+	+	S518
C2T1E13	+	+	+	S519
C1T1E13	+	+	+	S520
C1T1E16	+	+	+	S521
C2T3E15	+	+	+	S522
C1T3E11	+	+	+	S523
C2T2E4	+	+	+	S524
C2T3E20	+	+	+	S525
C3T3E20	+	+	+	S526
C4T3E20		+	+	S527
C2T3E13	+	+	+	S528
C2T1E3	+	+	+	S529
C2T5E7	+	+	+	S531
C2T5E15	+	+	+	S532
C2LAIT T5	+	+	+	S533
C2T5E18	+	+	+	S534

Suite de l'annexe 2

C3T5E18	+	+	+	S335
C3T5E1	+	+	+	S536
C1T6E3	+	+	+	S537
C2T5E1	+	+	+	S538
C1T5E9	+	+	+	S539
C1LAIT T5C	+	+	+	S540
C2T6E3	+	+	+	S543
C3T5E2	+	+	+	S544
C1T5E18	+		+	S545
C1T5E1	+	+	+	S546
C3T9E3	+	+	+	S561
C1T8E7	+	+	+	S562
C1T9E4	+	+	+	S563
C1T7E17	+	+	+	S564
C1T9E3	+	+	+	S565
C1T8E9	+	+	+	S566
C3T8E7	+	+	+	S567
C1T9E14	+	+	+	S568
C2T9E3	+	+	+	S569
C1T9E6	+	+	+	S570
C2T8E7	+	+	+	S571
C1T9E13	+	+	+	S572
C3T7E2	+	+	+	S573
C1T9E12	+	+	+	S574
C1T8E5	+	+	+	S575
C1T9E2	+	+	+	S576
C2T7E2	+	+	+	S577

+ : positif ; C : Cellule ; T : troupeau ; E : Echantillon ; LAIT T5C : Lait T5 collectif ; T1 : Ait Yelloul ; T2 : Tazaghart ; T3 : Ihnouchen ; T4 : Ighil Mhand ; T5 : Igoujdal, T6 : Agni N Rihan ; T7 : Tifazouine, T8 : Tifazouine, T9 : Ihamziouen.

Annexe 3 : résultats de l'antibiogramme des souches de *S. aureus* isolées.

ATB Souches	P	N	C	OFX	SXT	TE	FOX	E	CN
494	6 ^R	25 ^S	28 ^S	27 ^S	23 ^S	30 ^S	27 ^S	31 ^S	24 ^I
495	6 ^R	27 ^S	29 ^S	23 ^S	6 ^R	28 ^S	26 ^S	6 ^R	25 ^S
496	6 ^R	24 ^S	28 ^S	25 ^S	32 ^S	30 ^S	22 ^S	29 ^S	23 ^S
497	6 ^R	25 ^S	29 ^S	28 ^S	33 ^S	28 ^S	28 ^S	28 ^S	25 ^S
498	6 ^R	29 ^S	30 ^S	28 ^S	35 ^S	31 ^S	30 ^S	30 ^S	28 ^S
499	14 ^R	32 ^S	32 ^S	24 ^S	36 ^S	33 ^S	31 ^S	35 ^S	28 ^S
500	6 ^R	24 ^S	27 ^S	30 ^S	25 ^S	16 ^I	27 ^S	30 ^S	25 ^S
501	6 ^R	28 ^S	34 ^S	30 ^S	39 ^S	34 ^S	34 ^S	34 ^S	29 ^S
510	16 ^R	19 ^S	27 ^S	29 ^S	28 ^S	30 ^S	27 ^S	27 ^S	19 ^S
511	6 ^R	10 ^R	23 ^S	26 ^S	6 ^R	15 ^I	26 ^S	6 ^R	17 ^S
512	21 ^R	11 ^R	29 ^S	27 ^S	22 ^S	27 ^S	26 ^S	28 ^S	11 ^R
513	15 ^R	19 ^S	27 ^S	31 ^S	25 ^S	28 ^S	27 ^S	30 ^S	18 ^S
517	15 ^R	16 ^R	29 ^S	25 ^S	30 ^S	28 ^S	30 ^S	30 ^S	24 ^S
518	20 ^R	28 ^S	25 ^S	26 ^S	32 ^S	30 ^S	31 ^S	32 ^S	25 ^S
519	27 ^R	29 ^S	28 ^S	29 ^S	33 ^S	28 ^S	35 ^S	30 ^S	28 ^S
520	28 ^R	30 ^S	30 ^S	28 ^S	32 ^S	30 ^S	30 ^S	30 ^S	30 ^S
521	26 ^R	26 ^S	24 ^S	25 ^S	31 ^S	25 ^S	34 ^S	30 ^S	27 ^S
522	6^R	16^R	9^R	27^S	24^S	10^R	20^R	6^R	11^R
523	40 ^S	24 ^S	27 ^S	25 ^S	31 ^S	27 ^S	29 ^S	30 ^S	22 ^S
524	43 ^S	25 ^S	29 ^S	26 ^S	32 ^S	28 ^S	25 ^S	27 ^S	24 ^S
525	50 ^S	18 ^S	21 ^S	27 ^S	23 ^S	24 ^S	33 ^S	33 ^S	19 ^S
526	48 ^S	27 ^S	28 ^S	26 ^S	29 ^S	28 ^S	37 ^S	27 ^S	28 ^S
527	48 ^S	27 ^S	28 ^S	27 ^S	34 ^S	28 ^S	29 ^S	28 ^S	24 ^S
528	44 ^S	22 ^S	24 ^S	25 ^S	30 ^S	22 ^S	30 ^S	29 ^S	22 ^S
529	43 ^S	20 ^S	21 ^S	27 ^S	21 ^S	26 ^S	34 ^S	23 ^S	21 ^S
530	13^R	26^S	8^R	27^S	30^S	12^R	15^R	6^R	22^S
531	40 ^S	18 ^S	27 ^S	25 ^S	27 ^S	15 ^I	27 ^S	29 ^S	19 ^S
532	41 ^R	20 ^S	23 ^S	25 ^S	26 ^S	27 ^S	26 ^S	26 ^S	20 ^S
533	15 ^R	18 ^S	25 ^S	26 ^S	27 ^S	28 ^S	26 ^S	28 ^S	18 ^S
534	17 ^R	20 ^S	28 ^S	29 ^S	25 ^S	30 ^S	29 ^S	32 ^S	20 ^S
535	35 ^S	19 ^S	23 ^S	26 ^S	25 ^S	26 ^S	26 ^S	27 ^S	18 ^S
536	40 ^S	19 ^S	23 ^S	26 ^S	29 ^S	26 ^S	26 ^S	25 ^S	20 ^S
537	14 ^R	19 ^S	25 ^S	27 ^S	26 ^S	16 ^I	26 ^S	26 ^S	19 ^S
538	45 ^S	20 ^S	25 ^S	27 ^S	29 ^S	28 ^S	32 ^S	27 ^S	21 ^S
539	37 ^S	18 ^S	25 ^S	27 ^S	26 ^S	27 ^S	26 ^S	28 ^S	19 ^S
540	43 ^S	19 ^S	24 ^S	27 ^S	29 ^S	28 ^S	28 ^S	26 ^S	19 ^S
543	20 ^R	26 ^S	21 ^S	6 ^R	30 ^S	32 ^S	32 ^S	6 ^R	28 ^S
544	43 ^S	20 ^S	25 ^S	28 ^S	30 ^S	24 ^S	24 ^S	27 ^S	20 ^S
545	38 ^S	22 ^S	25 ^S	21 ^S	28 ^S	25 ^S	27 ^S	30 ^S	23 ^S
546	47 ^S	21 ^S	23 ^S	28 ^S	30 ^S	27 ^S	30 ^S	28 ^S	23 ^S
561	15 ^R	23 ^S	27 ^S	28 ^S	27 ^S	17 ^I	27 ^S	28 ^S	26 ^S
562	41 ^S	23 ^S	27 ^S	29 ^S	26 ^S	28 ^S	30 ^S	31 ^S	24 ^S

Suite de l'annexe 3

563	44 ^S	26 ^S	27 ^S	30 ^S	30 ^S	19 ^S	31 ^S	34 ^S	26 ^S
564	48 ^S	26 ^S	31 ^S	34 ^S	31 ^S	29 ^S	42 ^S	33 ^S	28 ^S
565	13 ^R	25 ^S	30 ^S	29 ^S	29 ^S	18 ^I	31 ^S	29 ^S	26 ^S
566	36 ^S	22 ^S	28 ^S	30 ^S	22 ^S	26 ^S	36 ^S	28 ^S	23 ^S
567	43 ^S	21 ^S	25 ^S	27 ^S	30 ^S	27 ^S	28 ^S	28 ^S	25 ^S
568	39 ^S	27 ^S	25 ^S	28 ^S	23 ^S	15 ^I	28 ^S	30 ^S	25 ^S
569	14 ^R	17 ^R	28 ^S	30 ^S	26 ^S	19 ^S	29 ^S	28 ^S	19 ^S
570	41 ^S	17 ^R	27 ^S	29 ^S	34 ^S	11 ^R	27 ^S	28 ^S	19 ^S
571	41 ^S	24 ^S	25 ^S	29 ^S	33 ^S	21 ^S	28 ^S	27 ^S	24 ^S
572	39 ^S	27 ^S	30 ^S	30 ^S	33 ^S	18 ^S	28 ^S	32 ^S	26 ^S
573	23 ^R	34 ^S	33 ^S	31 ^S	38 ^S	31 ^S	33 ^S	35 ^S	35 ^S
574	35 ^S	26 ^S	25 ^S	29 ^S	24 ^S	17 ^I	27 ^S	30 ^S	25 ^S
575	36 ^S	21 ^S	28 ^S	30 ^S	27 ^S	27 ^S	37 ^S	29 ^S	23 ^S
576	38 ^S	21 ^S	28 ^S	33 ^S	21 ^S	26 ^S	31 ^S	28 ^S	23 ^S
577	38 ^S	21 ^S	29 ^S	31 ^S	27 ^S	29 ^S	38 ^S	29 ^S	24 ^S

S : sensible ; **R** : résistante ; **I** : intermédiaire.

Annexe 4 : Valeurs des diamètres de zone d'inhibition selon le CLSI et la CASFM.

Famille	Antibiotiques	Diamètre critique			Références
		Sensible	Intermédiaire	Résistant	
β-lactamines	Pénicilline G	≥29	-	≤28	CLSI02018
	Céfoxitine	≥22	-	<22	CASFM 2020
Aminoglycoside	Gentamycine	≥15	13-14	≤12	CLSI 2018
	Néomycine	≥18	-	<18	CLSI 2018
Macrolides	Erythromycine	≥23	-	≤13	CLSI 2018
Tétracyclines	Tétracycline	≥19	15-18	≤14	CLSI 2018
Quinolones	Ofloxacine	≥18	15-17	≤14	CLSI 2018
Phénicols	Chloramphénicol	≥18	13-17	≤12	CLSI 2018
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Trimétoprim-Sulfamethoxazole	≥16	-	≤10	CLSI 2018

