

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



Faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques

Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire

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

Spécialité : Microbiologie Appliquée

**Portage de *Staphylococcus aureus* chez le poulet
de chair et la dinde, caractérisation phénotypique
des isolats**

Présenté par :

- M^{me} KOREGHLI Ibtissam
- M^{elle} SMAIL Celia

Soutenu le 11/07/2019 devant le jury :

- Président : M^{me} ABDOUNE-OUALI. S., MAA à l'UMMTO
- Encadrant : M^r TITOUCHE. Y., MCB à l'UMMTO
- Examinatrice : M^{elle} DERMECHE. S., MAA à l'UMMTO
- Examinatrice : M^{me} GUECHTOULI. S., MCB à l'UMMTO

Promotion : 2018/2019

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Monsieur TITOUCHE YACINE, qui nous a guidé tout au long de ce travail, pour ces conseils précieux, son assistance morale et physique, son dévouement pour le savoir et sa transmission.

Mme ABDOUNE, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Melle DERMECHE S, maitre- assistante à l'université Mouloud MAMMERI de Tizi Ouzou et Mme GUECHTOULI S, maitre de conférence B, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Dédicaces

Du profond de mon cœur je dédie ce travail à tous qui me sont chers,

A MA CHÈRE MÈRE REBIHA

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

A MON CHÈRE PÈRE HAMID

Ce travail est dédié à mon père, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante.

A MON CHÈRE MARI FAYCAL

Merci énormément pour ton soutien plus que précieux, Merci pour ton grand cœur tous vos qualités qui seraient trop longues à énumérer. Ma vie ne serait pas aussi magique sans ton présence et ton amour.

Je t'aime de tout mon cœur.

A ma belle-mère et mon beau père

A mes chères sœurs yasmin et hannan

A chers frères bilal et sa femme Miyada et la petite Ilyne

A mon chère frère Amir

A Ma chère tante Razika

A ma belle soeur Ryme

A mon binôme et amie celia

IBTISSAM

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mon très cher père, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante.

À la plus merveilleuse des mamans, qui ma supportée et sacrifier et m'a aidée dans les pires moments, car tu as toujours cru en moi.

A mes frères : Karim, Amar, Marzouk et Amine.

A mes amis et à toutes les personnes que j'aime...

A ma chère binôme Ibtissam.

A toute ma famille paternelle et maternelle.

A tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.

Et à toute l'équipe du labo.

Celia

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur le <i>Staphylococcus aureus</i>	2
1. Historique	2
2. Taxonomie	2
3. Habitat et épidémiologie	3
4. Caractères bactériologiques	3
4.1. Caractères morphologiques	3
4.2. Caractères culturels	4
4.3. Caractères biochimiques	4
Chapitre II : Facteurs de virulence	6
1. Les composants de la paroi	6
1.1. Peptidoglycane	6
1.2. Acide teïchoïque	6
2. Les protéines de surface et capsule	6
2.1 Les facteurs d'adhésions	6
2.1.1 MSCRAMMs	6
2.1.2 SERAM	7
2.2 La protéine A	7
2.3 La capsule	7
3. les protéines extracellulaires	8
3.1 Les toxines	8
3.1.1 Les hémolysines	
3.1.1.1 L'hémolysine alpha	8
3.1.1.2 L'hémolysine bêta	8
3.1.1.3 l'hémolysine gamma	8
3.1.1.4 L'hémolysine delta	9
3.1.2 Les leucocidines de Panton et Valentine	9
3.1.3 Les exfoliatines	10
3.1.4 Les super-antigènes	10
3.1.5 Les entérotoxines staphylococciques	10
3.2 Les enzymes	11
3.2.1 Les protéases	11
3.2.2 Les lipases	12
3.2.3 Les Staphylokinases	12
3.2.4 La coagulase	12

3.2.5 Les nucléase	12
3.2.6 L' hyaluronidase	12
4. Le système de régulation	13
Chapitre III : Résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....	14
1. Histoire des antibiotiques	14
2. Définition des antibiotiques	15
3. Critères de classification des antibiotiques	15
4. Antibiotiques et leur mode d'action	16
4.1 Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne	16
4.1.1 Mode d'action des β -lactames	16
4.1.2 Mode action des glycopeptides	17
4.1.3 Mode d'action des lipopeptides	17
4.2 Les antibiotiques inhibant la membrane cytoplasmique	17
4.2.1 Mode d'action des polymyxines	17
4.3 Antibiotiques inhibant la traduction des ARNm et la synthèse des protéines	18
4-3-1 Mode d'action des aminosides	18
4.3.2 Mode d'action des Macrolides, Lincosamides et Synergystines (MLS)	18
4.3.3 Mode d'action des phénicolés	18
4.3.4 Mode d'action des acides fusidiques	19
4.3.5 Mode d'action des tétracyclines et glycilcyclines	19
4.4 Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques	19
4.4.1 Mode d'action des quinolones.....	19
4.4.2 Mode d'action des triméthoprimes et sulfamides	20
5. Résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....	20
5.1 Définition de la résistance	20
5.2 Supports génétiques de la résistance	20
5.2.1 Résistance naturelle	20
5.2.2 Résistance acquise.....	21
5.2.2.1 Mutation chromosomique	21
5.2.2.2 Acquisition de gènes	21
5-3 Modes de résistances des bactéries	21
5.3.1 Inactivation enzymatique	21
5.3.2 Modification de la cible.....	22
5.3.3 Imperméabilité cellulaire.....	22
5.3.4 Phénomène d'efflux	23
5.4 Résistance aux β -lactamines.....	24
5.4.1 Résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases.....	24
5.4.2 Résistance à la méticilline	24
5.4.3 Autres mécanisme de résistance à la méticilline	24
5.5 Résistance aux glycopeptides	24
5.6 Résistance aux aminosides	25
5.7 Résistance aux fluoroquinolones	25
5.8 Résistance aux tétracyclines et glycilcyclines	25
5.9 Résistance aux phénocolés	25
5.10 Résistance aux MLS	26

Partie expérimentale	27
Chapitre I : Méthodes	27
1. Méthodes	27
1.1 Objectifs de l'étude	27
1.2 Lieu et durée de l'étude	27
1.3 Collecte des échantillons	27
2. Analyse au laboratoire des échantillons	28
2.1 Écouvillonnage et enrichissement	28
2.2 Isolement de <i>S. aureus</i>	29
2.3 Purification des isolats	29
2.4 Identification biochimique	29
2.4.1 Test de la catalase	30
2.4.2 Test d'ADNase	30
2.4.3 Test de la coagulase	30
2.4.4 Test de Voges Proskauer (VP)	30
2.5 Antibiorésistance	30
2.6 Conservation des souches	31
Chapitre II : Résultats et Discussion	32
1. Résultats	32
2. Discussion	36
Conclusion	39
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste abbreviations

ATP	Adénosine triphosphate
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
ABC	ATP-binding cassette
APC	Antigen presenting cell
APH	Aminoglycoside phosphotransférase
AAD	Aminoglycoside nucleotidyltransférase
BHI	Brain Heart Infusion
BHIB	Brain Heart Infusion Broth
BORSA	Bordeline Staphylococcus aureus)
BP	Baird Parker
CL	Clark et lubs
CN	Gentamycine
C	Chloramphénicol
CA-SARM	SARM communautaire
CASFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAT	Chloramphénicol acétyltransférase
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPA	Cellule Présentatrice d'Antigène
D.O	Densité Optique
DHFR	Dihydrofolate Réductase
DHPS	Dihydropteroate Synthase
DHPS	Dihydropteroate synthase
DHFR	Dihydrofolate reductase
E	Erythromycine
EPA	Extracellular Adhesion Protein
FOX	Cefoxitine
GC	Contenu en guanine et cytosine
Hla	L' α -hémolysine
Hlb	La β -hémolysine
IgG	Immunoglobuline G
KDa	Kilo dalton
KT	Inhibition de la kanamycine et la tobramycine
KTG	Inhibition de la kanamycine et la tobramycine
LA-SARM	SARM associées aux élevages
LPV	Leucocidine Panton Valentine
LPXTG	Leucine – Proline - Acide aminé X – Thréonine - Glycine
MDR	Multiple-drug-resistance
MH	Muller Hinton

MLS	Macrolides, Lincosamides, Strptogramines
MODSA	Modified Staphylococcus aureus
MSCRAMM	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
N	Néomycine
OFX	Ofloxacin
P	Penicilline
PBP	Penicillin Binding Protein
PLP	Proteins Liants la Pénicilline
QRDR	Quinolone Resistance-Determiningregion
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à La Mécililine
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> Sensible à La Mécililine
SCN	<i>Staphylococques</i> Coagulase Négative
SCP	<i>Staphylococques</i> Coagulase Positive
SDR	Specific drug-resistance
SE	<i>Staphylococcal</i> Enterotoxin
SXT	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole
SERAM	Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules
TCR	Cellule T réceptrice d'antigène
TE	Tétracycline
TSYEA	Trypton Soja Yeast Extract Agar
TSST	Toxic Shock Syndrome Toxin
VP	Voges Proskauer

Liste des figures

Figure 01 Observation de <i>S. aureus</i> sous microscope électronique à balayage au Gx34000	04
Figure 02 Observation de <i>S. aureus</i> après coloration de Gram sous microscope optique au G x1500	04
Figure 03 Mécanisme d'assemblage des monomères de lukF-PV et lukS-PV pour former un port octamérique	09
Figure 04 Mécanisme d'action des superantigènes de <i>S. aureus</i>	11
Figure 05 Régulation des facteurs de virulence par le système agr	13
Figure 06 Introduction des antibiotiques et développement de l'antibiorésistance chez <i>S. aureus</i>	14
Figure 07 Mode d'action des antibiotiques	23
Figure 08 Ecouvillonnages de la cavité nasale de poulet de chair (Photo personnelle prise au laboratoire)	29
Figure 09 Aspect des colonies de <i>S. aureus</i> sur Baird Parker	32
Figure 10 Fréquence d'isolement des SARM et des SASM	35
Figure 11 Profil de résistance d'une souche SARM (Photo personnelle prise au laboratoire)	35
Figure 12 Profil de résistance d'une souche SASM (Photo personnelle prise au laboratoire)	36

Liste des tableaux

Tableau 01	Caractères biochimiques de <i>S. aureus</i> (adapté par SCHLEIFER et BELL, 2009).....	5
Tableau 02	Nature et nombre de prélèvements.....	28
Tableau 03	Listes des molécules d'antibiotiques testés.....	31
Tableau 04	Prévalence de <i>S. aureus</i> selon le type de prélèvement	32
Tableau 05	Prévalence de <i>S. aureus</i> et nombre de souches isolées selon la région	33
Tableau 06	Résistance des souches de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques testés (n=35).....	33
Tableau 07	Phénotypes de multi-résistances	34
Tableau 08	Phénotypes de résistance des SARM	34

Résumé

Staphylococcus aureus est une bactérie commensale opportuniste, impliquée dans une variété de maladies zoonotiques. L'objectif de notre étude est d'estimer la prévalence des souches de *S. aureus* chez le poulet de chair et la dinde et d'évaluer leur profil de résistance aux antibiotiques. Pour cela, nous avons réalisé un total de 211 prélèvements nasaux chez le poulet de chair et la dinde au niveau de deux abattoirs de la wilaya de Tizi Ouzou. Après l'isolement des souches sur la gélose sélective, Baird Parker, une identification biochimique des isolats a été réalisée. La résistance des souches aux antibiotiques a été réalisée selon la méthode de diffusion des disques d'antibiotique sur la gélose Mueller-Hinton.

Au total, 35 souches de *S. aureus* ont été isolées, avec une prévalence de 11.37%, dont 8 souches sont des SARM. Des taux élevés de résistances ont été enregistrés vis-à-vis de la pénicilline G (57.14%), de l'érythromycine (74.28%) et de la tétracycline (88.57%). En revanche, aucune résistance vis-à-vis de la gentamycine et de la néomycine n'a été enregistrée.

Les résultats obtenus dans cette étude révèlent le risque associé à la présence des SARM chez le poulet de chair. Ainsi, l'application de règles de biosécurité et les bonnes pratiques d'hygiène aident à prévenir la diffusion des SARM au niveau des élevages et tout le long de la chaîne de production.

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

Introduction

Staphylococcus aureus est un micro-organisme faisant partie du microbiote naturel des humains et des animaux. Il colonise principalement la peau et les muqueuses nasales, ainsi que les voies respiratoires des humains et des animaux sains (Gharsa *et al*, 2012). Il peut causer un certain nombre de maladies infectieuses telles que la dermatite, la pneumonie, la méningite, l'ostéomyélite chez l'homme. Chez l'animal, *S. aureus* est derrière des mammites chez le bovin laitier et la maladie du pied bourdon chez la volaille (Benito *et al*, 2015). Les maladies causées par ce pathogène versatile sont encore plus graves, si les souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline (SARM) sont impliquées (Becker *et al*, 2017).

S. aureus est caractérisé par un phénomène très important qui est l'adaptation aux conditions extrêmes, en exprimant une gamme diverse de facteurs de virulence et la capacité d'échapper aux agents antimicrobiens par le développement de différents mécanismes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques (Brennan *et al*, 2016). La virulence de ce germe dépend de plusieurs composants extracellulaires, incluant les protéines de surface, la capsule, les enzymes et les différentes toxines (De Boer *et al*. 2009). L'utilisation abusive et non modérée de ces agents antimicrobiens a mené vers l'émergence de souches multi-résistantes, un problème de grande ampleur notamment pour les pays développés (Rad *et al*, 2015 ; Hosein *et al*, 2014).

Staphylococcus aureus, incluant *S. aureus* résistant à la pénicilline (SARM), est le pathogène commun causant une large gamme de maladies dans les communautés et dans les hôpitaux (Chen et Huang, 2018). L'augmentation du nombre d'infections au SARM communautaire (CA-SARM) chez des individus en bonne santé avait conduit à des recherches sur l'origine des souches et sur leurs facteurs de virulence (Ross Fitzgerald, 2012). *S. aureus* peut coloniser une gamme d'animaux, incluant les animaux domestiques (porc, vaches, volaille,...), les animaux de compagnie (chien, chat,...) et les animaux sauvages. L'émergence des souches SARM associées aux élevages (LA-SARM) parmi les espèces circulant dans les élevages 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 vivant et travaillant en contact étroit avec des animaux de la ferme 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.

Peu de données sont disponibles concernant les souches de *Staphylococcus aureus* isolées en élevages et de telles investigations pourront fournir des informations de grande importance en épidémiologie. Ainsi, les objectifs principaux de cette étude est d'estimer le portage nasal chez le poulet de chair et la dinde, de caractériser les souches isolées sur le plan phénotypique et de prévoir la présence des SARM.

Notre manuscrit comporte deux parties : la première est une partie bibliographique, comprenant des généralités sur le *S. aureus*, une présentation des facteurs de virulence et les mécanismes importants de résistance aux antibiotiques de ce germe et la deuxième qui est une partie pratique, décrivant la méthodologie de travail suivie et les résultats obtenus, ainsi que leur discussion.

Chapitre I : Généralités sur le *Staphylococcus aureus*

1- Historique

Connus depuis l'aube de la bactériologie, les *staphylocoques* avaient fait l'objet des premières communications par Pasteur à l'Académie des sciences en 1876 et 1880 où il révéla l'existence du «vibron pyogénique» qu'il avait isolé à la fois dans le pus d'anthrax et chez un patient atteint d'ostéomyélite. C'est un chirurgien anglais nommé Ogston qui donna le nom de staphylocoque à ce micro-organisme par analogie à la forme d'une grappe de raisin observée au microscope après coloration de Gram (Lyell et Alexander, 1989).

L'espèce *Staphylococcus aureus*, ainsi nommée en raison de sa pigmentation, fut décrite en 1884 par Rosenbach. Ce dernier différençia *Staphylococcus pyogenes aureus* des autres cocci à Gram positif en amas, nommés *Staphylococcus pyogenes albus* et *Staphylococcus pyogenes citreus*, en fonction de la couleur du pigment. L'appellation *Micrococcus* était également employée sans distinction (Hill, 1981).

La séparation des genres *Staphylococcus* et *Micrococcus*, mais aussi des *Neisseria*, a été ébauchée à partir de 1925 par l'utilisation progressive de tests biochimiques d'identification, Une méthode de classification basée sur ces tests a permis à Hill en 1959 de montrer que le groupe des souches identifiées comme *Staphylococcus aureus* formait un groupe homogène et une espèce à part entière (Hill, 1981).

Le genre *Staphylococcus* a été définitivement différencié de celui des *Micrococcus* par l'étude de leur ADN et de leur contenu en guanine et cytosine (GC%), qui est faible pour les *Staphylococcus* (30 à 38 %) mais élevé pour les *Micrococcus* (65 à 75 %) (Stephen et al, 2006).

2- Taxonomie

Dans les années 1990, le genre *Staphylococcus* était classé au sein du groupe des *Micrococcaceae* avec notamment les genres *Micrococcus* et *Stomatococcus*. Les membres du genre *Staphylococcus* diffèrent cependant de ceux du genre *Micrococcus*, entre autre par leur métabolisme anaérobie facultative, par un contenu en G+C compris entre 30 à 39 % (contre 63 à 73% pour *Micrococcus*), par leur paroi contenant un peptidoglycane et des acides teïcoïques et par la présence de peptide oligoglycine dans les ponts peptidiques de la paroi. Ensuite, l'étude génétique ont permis de reclasser *Micrococcus* au sein du groupe des actinomycètes (Le Loir et Gautier, 2010).

Selon la deuxième édition de Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, la classification phylogénétique du genre *Staphylococcus* est la suivante (Delarras, 2007).

Domaine.....Bacteria
Phylum.....Firmicutes
Classe.....Bacilli
Ordre.....Bacillales
Famille.....Staphylococcaceae

Genre.....*Staphylococcus*

Espèce.....*Staphylococcus aureus*

A ce jour, cinquante espèces et sous-espèces ont été identifiées au sein du genre *Staphylococcus*. Les espèces sont classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre : les *staphylocoques* à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme les plus pathogènes et les *staphylocoques* à coagulase négative (SCN) moins dangereux (Le Loir et Gautier, 2010).

3-Habitat et épidémiologie

L'espèce *Staphylococcus aureus* est un germe ubiquitaire, possède des capacités d'adaptation et de résistance au stress (Jean-Louis et Jean-Loup, 2002). Elle est très répandue dans la nature, on le trouve fréquemment dans l'eau, l'air, les poussières (saprophyte), au niveau de la peau de l'homme et des animaux (Jean-Claude, 1973).

S. aureus est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses des animaux et des humains dont la niche principale est la fosse nasale (Alexander et al, 2011 ; Gharsa et al, 2012), mais plusieurs sites de corps peuvent être colonisés chez les humains (Wertheim et coll, 2005). D'après les études, on distingue trois modèles de portage nasal de *S. aureus* chez les individus sains : 20 % des porteurs persistants, environ 30% sont porteurs intermittents et 50% de non-porteurs (Alexander et al. 2011).

La fréquence du portage sain chez les humains est approximativement de 30%, cette fréquence diffère selon plusieurs paramètres comme par exemple le site de la colonisation, 23 à 46% au niveau du nez, 24 à 36% au niveau de la bouche, ou l'âge (jusqu'à 64% chez les enfants). *S. aureus* peut donc, à partir de ces réservoirs, infecter les lésions cutanées, les glandes mammaires et les muqueuses intestinales ou génitales (Smith et al, 2001).

Ce microorganisme est typiquement porté de façon asymptomatique par l'homme et les animaux (Cohen, 2007). Cependant il est capable de causer des infections par exemple : la folliculite, furoncle, mammites (Peacock et Paterson, 2015), cet agent opportuniste peut causer aussi des infections plus compliquées comme la pneumonie, la bactériémie, l'endocardite (Benito et al, 2015). Les maladies causées par ce pathogène versatile sont encore plus graves, si les souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) sont impliquées (Becker et al, 2015).

4-Caractères bactériologiques

4-1 Caractères morphologiques

S. aureus est de forme sphérique (coque) et se regroupe généralement en amas, souvent qualifiés de grappes de raisin d'un point de vue macroscopique, cette bactérie se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies, justifiant le nom vernaculaire de «staphylocoque doré». Ces cocci mesurent de 0.5 à 1.5 μm de diamètre, sont immobiles, non sporulés et positifs à la coloration de Gram (Le Loir et Gautier, 2010).

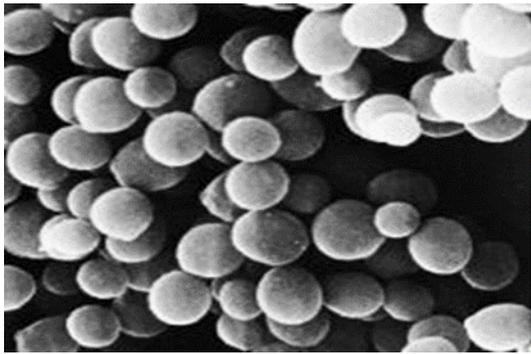


Figure 01 : Observation de *S. aureus* sous microscope électronique à balayage au Gx34000 (Prescott et *al*, 2002).

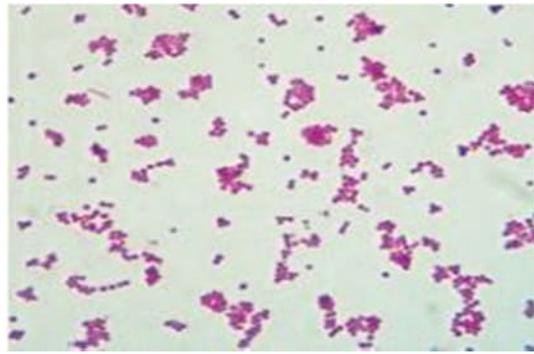


Figure 02 : Observation de *S. aureus* après coloration de Gram sous microscope optique au G x1500 (Prescott et *al*, 2002).

4-2 Caractères cultureux

Les souches de *S. aureus* ont un pouvoir de résistance dans les milieux hostiles, elles ont la capacité de pousser à des températures allant de 7°C jusqu'à 48°C, avec un optimum de croissance de 37 °C et une salinité de 75% et à un pH allant de 4 jusqu'à 10 (Grace and Fetsch, 2018).

Elles font partie des bactéries non exigeantes, sont cultivées dans des milieux ordinaires et dans des milieux sélectifs tel que le milieu Chapman ou le Baird Parker. Ses colonies sur gélose ordinaire sont lisses, rondes, d'un diamètre de 1 à 3 mm, arrondies, bombées de couleur jaune dorée à jaune orange. En gélose profonde, la croissance est observée sur toute la hauteur du tube confirmant le caractère aéro-anaérobie facultatif. En Bouillon, la culture de *S. aureus* forme un trouble uniforme abondant ; parfois un dépôt et un voile en surface (Le Loir et Gautier, 2009).

4-3 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 colonies tels que l'identification du facteur agglomérant, de la coagulase, des hémolysines et de l'ADNase thermostable ou thermonucléase (Behme, 1996 ; Brawn, 2005 ; Nandy et *al*, 2013).

Plusieurs études ont permis de distinguer les profils métaboliques de *S. aureus* et d'autres espèces. Le tableau ci-dessous présente certains caractères biochimiques de *S. aureus* et d'autres espèces.

Tableau 01 : Caractères biochimiques de quelques espèces de staphylocoques (adapté par Schleifer et Bell, 2009).

Test	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. delphini</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. intermedius</i>
Coagulase	+	-	+	-	+
Phosphatase alcaline	+	+	+	-	+
Arginine dihydrolase	+r	+	+	d	d
Clumping factor	+	-	-	-	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	-
Production d'acide lactique	+	+	ND	+	+
Fructose	+	+	+	+	+
Galactose	+	d	ND	d	+
Lactose	+	d	+	d	d
Mannitol	+	-	+	-	d
Raffinose	-	-	ND	-	-
Ribose	+	d	ND	-	+
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

Chapitre II : facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*

S. aureus est solidement armée pour effacer un certain nombre de défenses que son hôte pourrait lui opposer (anticorps, phagocytose ou cytotoxicité), ces parades se distribuent en plusieurs groupes de toxines. La pathogénicité de *S. aureus* est surtout reliée à l'expression de facteurs de virulence. En plus de facteurs structuraux, il a en effet la capacité de sécréter, après invasion, des facteurs d'adhésion, des toxines ou encore des enzymes (Gordon et Lowy, 2008).

1- Composants de la paroi

1-1 Le peptidoglycane

Le peptidoglycane est le composant majeur de la paroi des bactéries à Gram positif (Foster et al, 2012). Il est formé de chaînes linéaires de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique, représente 50% du poids de la paroi bactérienne. Il possède une activité endotoxine-like et provoque la libération des cytokines par les macrophages et l'activation du système complément. D'autre part, le peptidoglycane provoque l'agrégation des plaquettes (Hsu et al, 2005).

1-2 L'acide téichoïque

Ce sont des polymères de glycérol présents en grand nombre chez les bactéries à Gram positif et qui s'enchaînent profondément dans la membrane plasmique ainsi que dans le peptidoglycane. Ils sont directement impliqués dans l'attachement de la bactérie à la fibronectine. Ces facteurs d'adhésion permettent donc aux bactéries de s'établir au niveau du secteur extracellulaire et sur les matériaux (Winstel et al, 2013).

2-Proteines de surface et capsule

2-1 Facteurs d'adhésions

S. aureus adhère aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire lors de la colonisation de son hôte. L'adhésion bactérienne est également une étape indispensable pour l'infection (Hsu et al, 2005). Il a aussi la capacité de se lier aux protéines plasmatiques assurant sa dissémination au sein de l'hôte. Deux mécanismes d'adhésion coexistent : l'un non spécifique, médié par des forces physico-chimiques, l'autre spécifique, avec la synthèse bactérienne de facteurs d'adhésion (adhésines). La plupart des adhésines ou MSCRAMMs (microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules) sont liées de façon covalente au peptidoglycane (adhésines à motif LPXTG), d'autres sont sécrétées dans le milieu extracellulaire (SERAMs : secretable expanded repertoire adhesive molecules) (Seidl et al, 2008).

2-1-1 MSCRAMMs

Ces adhésines sont des protéines ancrées dans la paroi cellulaire grâce à leur motif LPXTG (leucine – Proline - Acide aminé X – Thréonine - Glycine). Ce motif est reconnu par une transpeptidase (sortase) qui clive le motif entre les résidus thréonine et glycine, puis catalyse la formation d'une liaison amide entre la thréonine et les ponts peptidiques du peptidoglycane. La

portion extracellulaire, composée de différents domaines, comporte les sites de liaison au ligand. Une vingtaine d'adhésines a été identifiée (Heininger *et al*, 2007).

Parmi ces MSCRAMMs, on trouve les protéines de liaison à la fibronectine *Fibronectin binding proteins* (FnBPA et FnBPB), la protéine de liaison au collagène (Cna), les protéines de liaison au fibrinogène ou *clumping factors* (ClfA et ClfB) et la protéine liant l'élastine ou Elastin binding protein (EbpS) (Foster et Hook, 1998). Les FnBP et les Clf jouent un rôle dans l'adhésion des cellules bactériennes aux cellules de l'hôte mais également sur les biomatériaux (cathétères ; prothèse...) (Menzies, 2003).

2-1-2 SERAM

La famille des SERAMs regroupe des adhésines exprimées à la surface de *S. aureus* mais sécrétées dans le milieu extérieur. Parmi ces adhésines qui ont été identifiées : Eap (*Extracellular Adherence Protein*) aussi désignée sous le nom de Map (MHC class II analogous protein), Emp (*Extracellular Matrix binding Protein*) et Efb (*Extracellular Fibrinogen Binding protein*) ainsi qu'une protéine liant le facteur Von Willebrand (Chavakis *et al*, 2005 ; Foster, 2005). Celles-ci se fixent par des liaisons non covalentes, de type hydrophobe ou électrostatique, aux protéines de la matrice extracellulaire comme le fibrinogène, la fibronectine, les sialoprotéines, l'élastine ou encore la vitronectine. Ces molécules possèdent également des propriétés immuno-modulatrices et sont notamment impliquées dans la pathogénèse des maladies endo et extra-vasculaires aiguës ou chroniques (Chavakis *et al*, 2005 ; Jongerius *et al*, 2007).

2-2 Protéine A

La protéine A est une protéine de surface à motif LPXTG liée au peptidoglycane codée par le gène *spa*. C'est un facteur de virulence pléiotropique. Elle adhère au facteur de Von Willebrand (Clarck et Foster, 2006), elle possède des propriétés anti-opsonisantes en fixant le fragment Fc des immunoglobulines (Foster, 2005). Elle a une action pro-inflammatoire au niveau pulmonaire due à sa capacité d'interagir avec le récepteur TNF- α 1 exprimé à la surface des cellules épithéliales respiratoires (Gomez *et al*, 2006). Elle favorise l'agrégation bactérienne et la formation de biofilms (Merino *et al*, 2009) et en dernier elle posséderait une activité superantigénique vis à vis des lymphocytes en se liant à l'IgM membranaire des lymphocytes B (Goodyear et Silverman, 2003).

2-3 Capsule

Les polysaccharides capsulaires sont retrouvés dans 90% des isolats cliniques de *S. aureus*. Onze sérotypes de polysaccharides capsulaires ont été décrits, ceux de type 5 et 8 sont les principaux rencontrés en pathologie humaine (Luong *et al*, 2002 ; watts *et al*, 2005). Les polysaccharides capsulaires (dit encore capsule) confèrent à la bactérie une résistance accrue à l'opsonophagocytose. Ces exopolysaccharides, synthétisés par *S. aureus* ou encore glycocalix sont à l'origine de la constitution de biofilm, élément majeur de virulence, permettant une adhésion accrue aux surfaces des matériaux. La capsule a également été impliquée dans l'adhésion aux cellules endothéliales, son rôle dans la virulence reste cependant controversée :

la capsule confère à la bactérie une résistance accrue à l'opsonophagocytose mais constitue également une cible pour des anticorps protecteurs (Pohlmann-Dietze et al, 2000).

3- Protéines extracellulaires

3-1 Toxines

S. aureus est l'agent causal de plusieurs toxémies, regroupant les syndromes cutanés staphylococciques, le choc toxique staphylococcique et l'intoxication alimentaire (Vincenote et al, 2008). Toutes ces pathologies sont dues à la synthèse d'un certain nombre de toxines par cette bactérie (Le Minor et Veron, 1982).

3-1-1 Hémolysines

3-1-1-1 L'hémolysine alpha

L' α -hémolysine (Hla) est une toxine cytolytique produite par plus de 90% des souches de *S. aureus* (Peacock et al, 2002 ; Tavares et al, 2014). C'est l'un des facteurs de virulence majeur de cette bactérie et l'un des mieux caractérisés. C'est une protéine thermostable et antigénique, exprimée lors de la phase exponentielle de croissance. 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 Bubeck-Wardenburg, 2010). Puis, elle s'insère dans la membrane plasmique où elle s'oligomérisse sous forme d'heptamères cylindriques (Dings et al, 2000 ; Kebaier et al 2012). Les canaux amphipatiques ainsi formés induisent une entrée de diverses molécules de faible poids moléculaire et notamment d'ions calcium. Généralement, ce phénomène conduit à la lyse cellulaire (Bhakdi et Trantum-Jensen, 1991).

3-1-1-2 L'hémolysine bêta

La β -hémolysine (Hlb) est une sphingomyélinase de type C hydrolysant la sphingomyéline, phospholipide de la membrane plasmique. Contrairement à l'hémolysine alpha, cette hémolysine n'entraîne pas de pores dans la membrane plasmique des cellules cibles, mais provoque une déstabilisation de la bicouche lipidique et une altération de sa fluidité causant la mort cellulaire. L'Hlb de *S. aureus* cible et lyse sélectivement les monocytes mais est inactive vis-à-vis des lymphocytes et des fibroblastes. La très grande majorité des souches de *S. aureus* possède le gène hlb, mais ce gène est situé sur un locus privilégié pour l'insertion de bactériophages. L'insertion d'un bactériophage sur ce locus empêche l'expression du gène hlb. C'est pourquoi, bien que le gène hlb soit présent dans la grande majorité des souches de *S. aureus*, très peu d'isolats cliniques humains (moins de 20%) expriment réellement l'Hlb. La présence de l'Hlb n'est pas associée épidémiologiquement à une infection humaine spécifique ou à des critères de gravité, ce qui en fait un facteur de virulence finalement peu impliqué dans la pathogénicité des infections à *S. aureus* (Vandenesch et al, 2012).

3-1-1-3 L'hémolysine gamma

La γ -hémolysine est une toxine produite par *S. aureus*, comporte deux protéines distinctes, l'une de 32 kDa (Hlg C ou Hlg A) et l'autre de 36 kDa Hlg B (Kamio et al, 2002), codées

respectivement par les gènes hlg C, hlg A et hlg B. Deux combinaisons biologiquement actives existent (HlgA+HlgB) et (Hlgc+HlgB). Cette toxine est dotée d'une forte action hémolytique, elle forme des pores dans la membrane cellulaire des érythrocytes et celle des leucocytes conduisant à la lyse cellulaire (Dings et *al*, 2000 ; Boisset et Vandenesch, 2010).

3-1-1-4 L'hémolysine delta

La δ -hémolysine est une protéine thermostable, hydrophobe et faiblement antigénique, produite par 97% des souches (Dings et *al*, 2000 ; Katayam et *al*, 2013). Elle a un effet cytotoxique en agissant comme un détergent sur les membranes biologiques. Elle exerce un effet pro-inflammatoire en raison de sa spécificité de liaison pour les neutrophiles et les monocytes (Vincenot et *al*, 2008).

3-1-2 les leucocidines de Panton et Valentine

la PVL est l'une des protéines à tropisme membranaire, constituée des composés LukS-PV et LukF-PV, a une action cytotoxique sur les polynucléaires neutrophiles, les monocytes ou les macrophages. Ces molécules s'assemblent dans le milieu extérieur pour former de grands ensembles protéiques capables de s'enchâsser dans la bicouche phospholipidique des membranes après liaison avec un récepteur spécifique. Ces multimères forment des pores capables de laisser passer les ions calcium à travers les membranes des cellules. Ce mécanisme semble être la base de la cytotoxicité de la PVL (Miles et *al*, 2002 ; Miles et *al*, 2006 ; Labandeira-Rey et *al*, 2007).

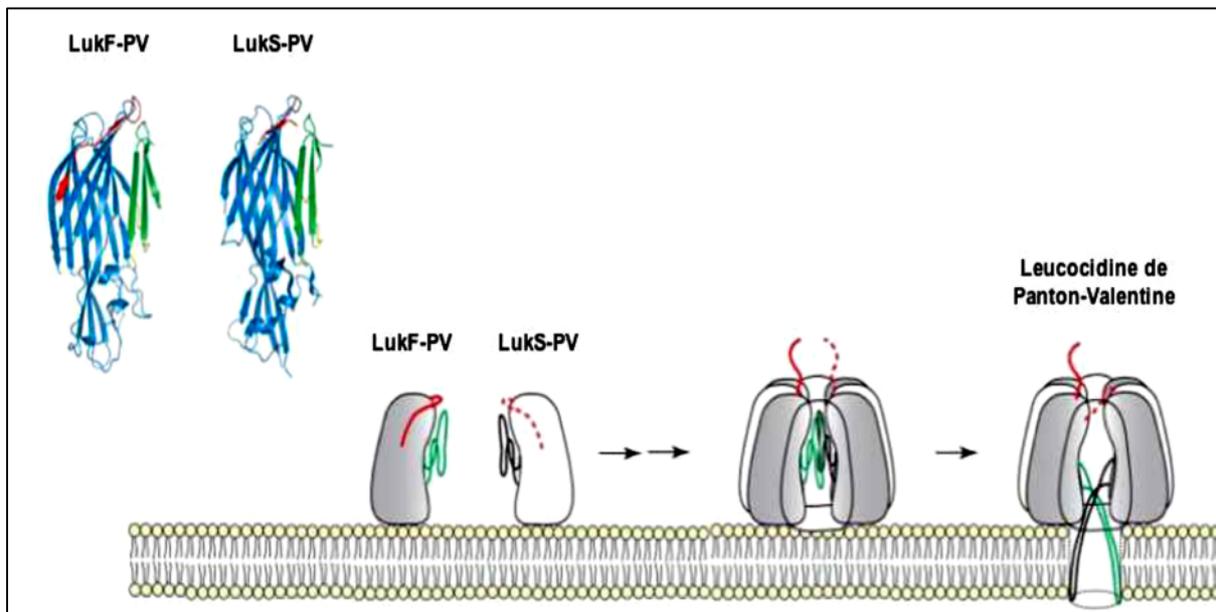


Figure 03 : Mécanisme d'assemblage des monomères de lukF-PV et lukS-PV pour former un pore octamérique (Miles et *al*, 2006).

3-1-3 Les exfoliatines

Les exfoliatines ou épidermolysines sont des sérine-protéases épidermolytiques impliquées uniquement dans certaines pathologies cutanées spécifiques : l'impétigo bulleux et le syndrome d'exfoliation généralisée, trois exfoliatines ont été identifiées : l'exfoliatine A (ETA), l'exfoliatine B (ETB) et l'exfoliatine D (ETD) (Ladhani *et al*, 1999).

Ces toxines se fixent à des protéines cutanées intracellulaires, la prolagrine et la filagrine, provoquant un élargissement de l'espace intercellulaire puis un clivage des desmosomes ciblé sur la desmogléine-1 qui est un des composants essentiels (desmosomes) de l'adhésion intercellulaire au niveau de la peau et des muqueuses, ayant pour conséquence un décollement intra-épidermique entre le stratum granulosum et le stratum spinosum.

Les épidermolysines sont responsables de l'impétigo bulleux staphylococcique et de sa forme généralisée, le syndrome d'exfoliation généralisé par diffusion dans l'organisme (Vincenot *et al*, 2008).

3-1-4 Les super-antigènes

S. aureus est capable de produire des exotoxines superantigéniques, les gènes de ces toxines sont retrouvés dans 70 à 80% des isolats cliniques de *S. aureus*, ils sont localisés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, prophages ou îlots de pathogénicité), ce qui favorise la dissémination horizontale entre les souches (Novick, 2003 ; Holtfreter et Broker, 2005). Ces exotoxines sont des protéines non glycosylées de 20 à 30 KDa. Elles sont relativement stables à l'inactivation chimique, à la protéolyse et à la dénaturation par chauffage. Ces toxines sont notamment impliquées dans le choc toxique staphylococcique et les toxi-infections alimentaires. Vingt-trois exotoxines superantigéniques staphylococciques ont été décrites. Il s'agit de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) codée par le gène *tst* et de 22 entérotoxines (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEIJ, SEIK ...) (Thomas *et al*, 2006 ; Ono *et al*, 2008).

Contrairement à un antigène conventionnel, les superantigènes outrepassent les étapes d'apprêtement de présentation de l'antigène. Ils se fixent de manière conjointe, en dehors du site de présentation de l'antigène, sur la partie constante du complexe majeur d'histocompatibilité de type II (CMH II) de la cellule présentatrice de l'antigène et sur la partie variable V β du récepteur TCR des lymphocytes T (Petersson *et al*, 2003 ; Vincenote *et al*, 2008). Alors qu'un antigène conventionnel active de manière spécifique 0,01% des lymphocytes T, seulement quelque picogrammes d'un superantigène peuvent activer jusqu'à 40% d'entre eux provoquant la libération massive de cytokines pro-inflammatoires de type T helper-1 (Th-1) responsables du choc (Llewelyn *et al*, 2002).

3-1-5 Les entérotoxines staphylococciques

Le pouvoir pathogène de *S. aureus* est lié à la production de toxines appelées entérotoxines staphylococciques SE, 21 entérotoxines différents (notées SEA à SEE, SEG à SEV) ont été mise en évidence (Afssa, 2009).

Les enterotoxines staphylococciques ont initialement été définies par leur capacité à causer des intoxications alimentaires. *S. aureus* peut produire de nombreuses entérotoxines qui peuvent se retrouver dans les aliments lorsque ceux-ci sont contaminés par des souches de *S. aureus* enterotoxinogènes. Lorsqu'elles sont ingérées, ces toxines se révèlent fortement émétisantes et représentent l'une des principales causes de toxi-infections alimentaires, comme elles sont thermostables et résistantes à la pepsine stomacale, elles ne sont détruites ni par la cuisson de l'aliment, ni par l'acidité de l'estomac (Vincenot et al, 2008).

Cliniquement, ce type d'intoxication alimentaire est caractérisé par un délai d'incubation court (1 à 6 h), avec apparition de troubles gastro-intestinaux associant crampes abdominales douloureuses, vomissements et diarrhées. En général, il n'y a pas de signes généraux et l'évolution est le plus souvent favorable en l'absence de traitement. Néanmoins, la survenue d'un choc toxique staphylococcique est possible en cas d'intoxication massive (Vincenot et al, 2008).

Les propriétés émétisantes des SEs, en particulier de SEA, seraient dues à leur liaison avec les mastocytes présents dans la sous-muqueuse intestinale. La liaison de SEA à un récepteur encore inconnu des mastocytes, entraînerait la libération de sérotonine par dégranulation mastocytaire. La sérotonine libérée induirait la dépolarisation des nerfs entériques, en se liant à la surface des neurones. La dépolarisation du nerf vagal résultante stimulerait les noyaux cérébraux responsables du réflex de vomissement (Hu et Nakane, 2014).

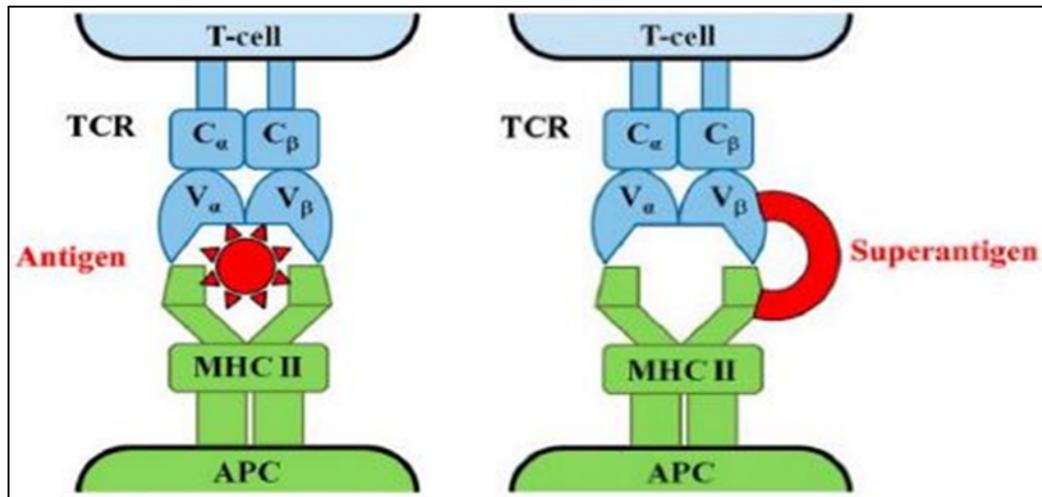


Figure 04 : Mécanisme d'action des superantigènes de *S. aureus* (MACIAS et al. 2011). A gauche : interaction normale entre le CMH II, le TCR et l'antigène entraînant une activation T spécifique. A droite : interaction entre le CMH II, le TCR et un superantigène, entraînant une activation T non spécifique. APC : Antigen presenting cell.

3-2 Les enzymes

3-2-1 Les protéases

Les principales enzymes secrétées par *S. aureus* sont des protéases. Celles-ci sont divisées en plusieurs familles : les métalloprotéines zinc-dépendantes, les protéases à cystéine et les

protéases à sérine. Ces protéases peuvent agir de façon non spécifique en dégradant les protéines de l'hôte et en permettant l'acquisition de nutriments utiles à la croissance bactérienne. Elles participent, également, à la dissémination de la bactérie en provoquant des lésions tissulaires mais peuvent aussi agir de manière plus spécifique (Zdzalikm et al, 2012).

Les protéases sont secrétées sous forme de proenzymes n'ayant pas ou peu d'activité protéolytique, leur mutation se traduit par un clivage qui est réalisé par les protéases elles-mêmes (Boisset et Vandenesch, 2010).

3-2-2 Les lipases

Une des façons dans laquelle les cellules hôtes répondent à une infection est la production des acides gras et des lipides, qui forment des petits trous dans la membrane bactérienne, alors que *S. aureus* produit des enzymes appelées lipases qui détruisent ces acides gras avant de causer des dommages au niveau de la membrane bactérienne, Les lipases sont un ensemble de protéines regroupant les lipases elles-mêmes, les phosphatases et les estérases (hu et al, 2012).

3-2-3 Les Staphylokinases

Staphylokinase ou fibrinolysine, est une protéine thermolabile et antigénique. C'est un activateur du plasminogène en plasmine conduisant à la dislocation du thrombus riche en bactéries, et ainsi à la formation de localisations septiques secondaires. Elle possède également la propriété de cliver les IgG, et le fragment C3b du complément qui vont se fixer à la paroi bactérienne, afin d'empêcher la phagocytose (Jin et al, 2004). Elle est aussi impliquée dans la résistance à la réponse innée de l'hôte. Lors d'une infection, les neutrophiles sécrètent des peptides bactéricides appelés α -défensines. La liaison de la staphylokinase à ces peptides abolit leurs propriétés anti-microbiennes (Le Loir et Gautier, 2009).

3-2-4 La coagulase

La coagulase libre, ou staphylocoagulase, est une protéine diffusible thermostable exprimée pendant la phase exponentielle de la croissance bactérienne. En se liant à une coaguline proche de la prothrombine dans le plasma, elle forme un complexe nommé staphylothrombine qui convertit le fibrinogène en fibrine (Cheng et al, 2010). Cette réaction entraîne la coagulation locale du plasma autour des cocci les protégeant de la phagocytose (Brenes et al, 2012).

3-2-5 Les nucléase

S. aureus est la seule espèce du genre *Staphylococcus* à produire une nucléase thermostable. Elle permet ainsi une identification rapide de *S. aureus*. Elle a une activité exo- et endonucléasique qui lui permet de dégrader l'ADN mais aussi l'ARN des cellules de l'hôte, elle est active à pH alcalin en présence de calcium (Hu et al, 2013).

3-2-6 L' hyaluronidase

-La hyaluronidase est une enzyme extracellulaire thermolabile de 92 KDa codée par le gène *hys*. Est une enzyme qui digère l'acide hyaluronique. Cette dépolymérisation de l'acide hyaluronique, substance fondamentale de la matrice du tissu conjonctif de l'hôte, contribue au processus infectieux en favorisant la dissémination via la dégradation des tissus (Farrett et al,

1995). Au sein du genre *Staphylococcus*, seule *S. aureus* possède cette enzyme (Hart et al, 2009).

4-Le système de régulation

L'expression de ces facteurs de virulence est régulée en partie par le système agr (accessory gene regulator). Ce dernier est habituellement décrit comme ayant deux actions sur la transcription protéique : la répression de la transcription de protéines de la membrane cellulaire (protéine A, coagulase, protéine de liaison à la fibronectine, etc.) et l'activation de la transcription de plusieurs exoprotéines (hémolysine α et β , TSST-1, leucotoxines) en phase post-exponentielle (Bronner et al, 2004). En fonction de la densité cellulaire, 104 gènes sont hyper-régulés et 34 gènes sont hyporégulés par le système agr (Dunman et al, 2001). L'effecteur du système agr est une molécule d'ARN, le RNAIII, qui module l'expression des facteurs de virulence (Bronner et al, 2004).

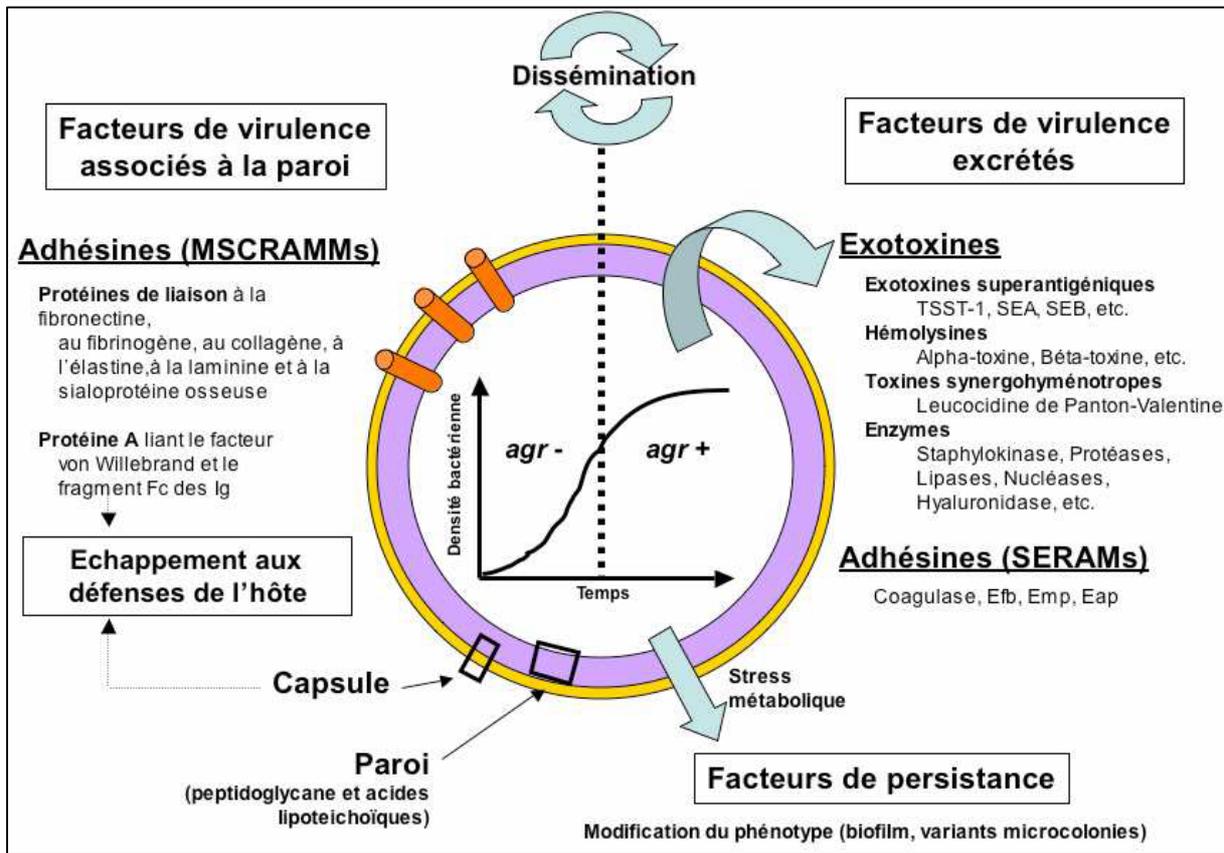


Figure 05 : Régulation des facteurs de virulence par le système agr (Ferry, 2008)

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

1-Histoire des antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. L'histoire des antibiotiques a commencé en 1877. Après les travaux des chercheurs sur la cristallographie, la fermentation, la soie et la bière (Rosset, 2003), Pasteur et Joubert (1877) observent qu'une bactérie se développe moins dans un bouillon envahi de moisissures. Cette remarque entraîne progressivement l'utilisation des moisissures pour lutter contre les infections microbiennes. En 1897, Ernest Duchesne, médecin français, avait déjà remarqué que certaines moisissures pouvaient stopper la prolifération bactérienne mais cette découverte resta inappliquée jusqu'aux travaux de Fleming (Michel et Chabert, 2009).

En 1928, le *staphylocoque* a joué un rôle dans la découverte des antibiotiques. En effet, l'observation fortuite d'Alexander Fleming sur des colonies de *Penicillium* a conduit à l'amélioration de la santé mondiale. Il a remarqué que le champignon *Penicillium* (qui avait contaminé les boîtes de cultures accidentellement) avait inhibé la croissance d'une culture bactérienne qui se trouve être une souche de staphylocoque. De cette observation découle la purification et la production du premier antibiotique utilisé en thérapeutique : la pénicilline G (Brown, 2004).

Par la suite, de nombreuses autres molécules d'antibiotiques ont été découvertes (figure 06), conduisant à l'essor de cette classe thérapeutique, permettant de traiter un nombre important d'infections jusqu'à lors considérées comme mortelles (Monnet et al, 2004).

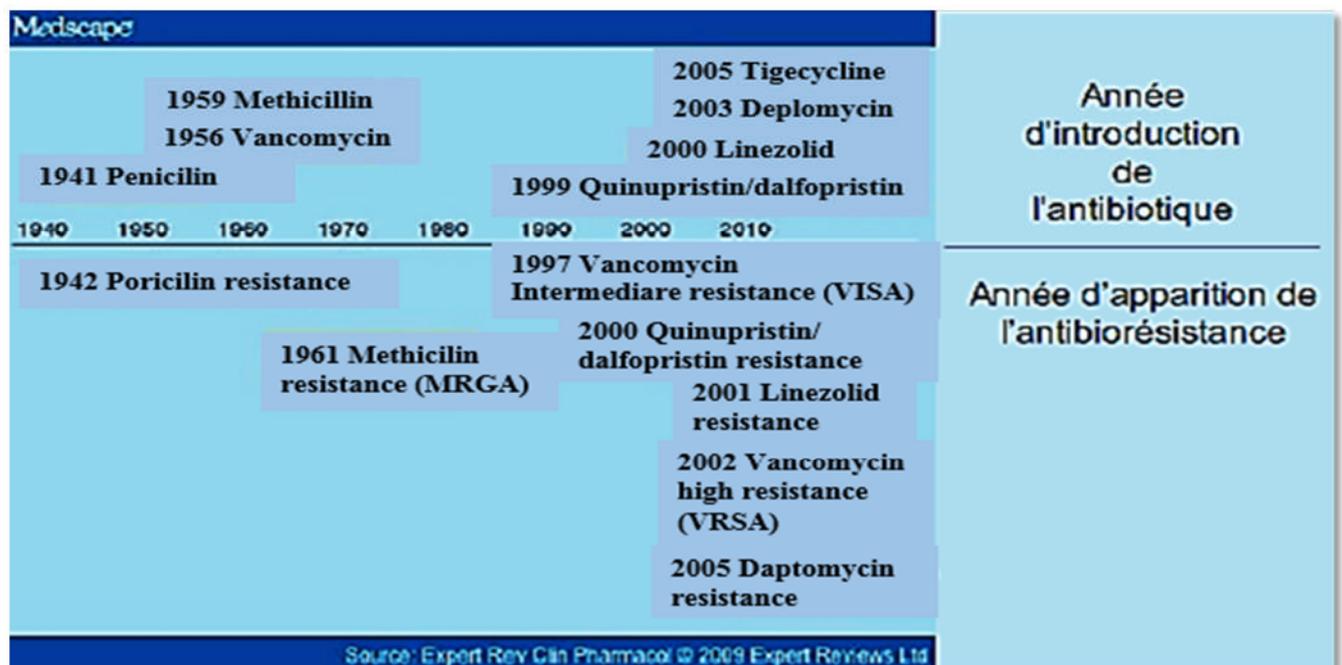


Figure 06 : Introduction des antibiotiques et développement de l'antibiorésistance chez *S. aureus* (Herman et al, 2011).

2-Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques élaborées par des organismes vivants ou produits par synthèse chimique qui possèdent une activité antibactérienne. Cette activité se manifeste de manière spécifique par l'inhibition ou la modification de certains processus vitaux des microorganismes. En fonction de la molécule, de sa concentration et du temps de contact avec les bactéries, les antibiotiques peuvent les tuer (effet bactéricide) ou ralentir leur croissance (effet bactériostatique) (Guilfoile, 2007).

Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (Ogwara, 1981).

3-Critères de classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **L'origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- **Le mode d'action** : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne, inhibition de la synthèse protéique, action sur la synthèse des acides nucléiques et action sur les membranes (Michel-Briand et Chabert, 2009).
- **La nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle bêtalactame) sur laquelle il y'a ensuite hémi-synthèse (Demoré et al, 2012).
- **Le spectre d'activité** : il représente l'ensemble des bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif et permet de prévoir son potentiel ainsi que ses limites.
 - Les antibiotiques à spectre large : sont efficaces sur un grand nombre de types d'agents pathogènes. Ainsi, l'antibiotique sera actif sur une grande partie de tous les cocci et tous les bacilles. Ils sont utilisés lorsque la bactérie n'est pas identifiée et que la pathologie peut être due à différents types d'agents pathogènes.
 - Les antibiotiques à spectre étroit : sont efficaces sur un nombre limité d'agents infectieux leur permettant de cibler une pathologie en particulier (Demoré et al, 2012).

Selon Demoré et al (2012), on distingue 4 notions pour qualifier l'activité d'un antibiotique :

- Activité dite "temps-dépendante" : l'activité dépend de la durée d'exposition des bactéries à l'antibiotique. Il s'agit notamment des pénicillines, céphalosporines, macrolides, fluoroquinolones et glycopeptides.
- Activité dite "concentration-dépendante" : l'activité dépend de la concentration en antibiotique. Cette notion est applicable pour les aminosides, l'imipénème et fluoroquinolones.
- Effet post-antibiotique : c'est le maintien d'une absence de reprise de la croissance bactérienne pour un couple bactérie/antibiotique donné, après exposition à l'antibiotique.
- Effet inoculum : c'est l'influence de la quantité de bactéries en contact avec l'antibiotique

- **Les modalités d'action :**

- Un effet bactériostatique provoque une inhibition réversible de la croissance de l'organisme cible.
- Un effet bactéricide entraîne la mort de la bactérie (Demoré et *al*, 2012).

4-Antibiotiques et leur mode d'action

On considère les antibiotiques comme le groupe le plus important de médicaments pour la médecine. À côté de leurs propriétés de lutter contre les infections humaines dues aux bactéries pathogènes, ils sont également utilisés en médecine vétérinaire.

Les antibiotiques agissent à un niveau précis dans les structures bactériennes et chaque famille possède son site d'action propre (Cavallo et *al*, 2004).

4-1 Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

4-1-1 Mode d'action des β -lactames

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle β -lactame. Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides (Cavallo et *al*, 2004).

En fonction des cycles et des chaînes latérales associées, on distingue :

- Les pénicillines également appelées les pénames : les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β -lactame. Elles diffèrent par la nature de leur chaîne latérale (Nauciel, 2000).
- Les céphalosporines : constituées d'un noyau β -lactame associé à un noyau dihydrothiazine (Yala et *al*, 2001).
- Les carbapénèmes : se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3, également présente sur les céphalosporinases (Wolff et *al*, 2009).
- Les monobactames : le noyau est limité au cycle β -lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle utilisé en clinique humaine (Chaabane et *al*, 2009).
- Les clavames : leur représentant est l'acide clavulanique. Ces molécules sont des inhibiteurs β -lactamase, ayant une structure de pénicilline mais dépourvues d'activité antibiotique significative, ont la propriété de se lier à certaines β -lactamases et de les inhiber de manière irréversible (Perronne, 1999).

Les β -lactamines ont un mécanisme d'action identique, elles inhibent la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne en se fixant de façon covalente sur certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane ainsi d'assurer leurs fonctions (Cavallo et *al*, 2004). Ces enzymes sont situées sur la face externe de la membrane interne et sont nommées protéines liant les pénicillines ou PLP (Fauchère et Avril, 2002). Les PLP sont présentes en quantité variable (de 3 à 8) selon les espèces bactériennes et présentent des affinités différentes pour chaque famille de β -lactamines (Fisher et *al*, 2005).

4-1-2 Mode action des glycopeptides

Les deux antibiotiques présents dans la famille des glycopeptides sont la vancomycine et la teicoplanine. La première molécule commercialisée est la vancomycine en 1956 et elle est d'origine naturelle car elle est produite par un champignon, *Amycolatopsis orientalis*. La teicoplanine a été commercialisée à l'époque des premières souches de SARM, elle est isolée d'*Actinoplanes teichomyceticus* (Courvalin et al, 2006).

Ces deux molécules agissent sur le peptidoglycane des bactéries. En effet, elles se lient avec le dimère D-alanyl-D-alanine qui est en position terminale de la chaîne pentapeptidique du peptidoglycane. Cette fixation masque les sites d'action des transpeptidases et empêche la réaction de transglycosylation lors de la synthèse du peptidoglycane. La bactérie ne peut donc plus renouveler son peptidoglycane, se diviser et elle finit par mourir. Ces antibiotiques sont bactéricides temps-dépendants vis-à-vis de *S. aureus* et d'action lente (environ 1 à 2 jours) (Pirechone et al, 2009).

4-1-3 Mode d'action des lipopeptides

Cette molécule agit sur la paroi bactérienne. Elle s'insère dans la membrane cytoplasmique en présence de cation Ca^{+2} puis elle entraîne par polymérisation la formation de pores transmembranaires et la mort cellulaire par fuite ionique (principalement le K^+ intracellulaire). Les lipopeptides ont une action bactéricide concentration-dépendante sur les *S. aureus* (Wu et al, 2011).

4-2 Antibiotiques inhibant la membrane cytoplasmique

4-2-1 Mode d'action des polymyxines

Certains antibiotiques ont pour cible la membrane plasmique bactérienne avec une action bactéricide. Ces antibiotiques de type polypeptidique présentent une toxicité lors de leur administration. Ce sont des molécules naturelles produites par des bactéries du genre *Bacillus*. On peut les diviser en deux sous famille

- **Polypeptides tensio-actifs**

Il s'agit des polymyxines ou colistines qui sont des antibiotiques cycliques isolés de *Bacillus polymyxa*. On dénombre les polymyxines A, B, C, D, E, F, K, M, P, S, et T, mais seulement les polymyxines B et E sont exploitées en thérapeutique. Ces antibiotiques agissent comme des détergents de par leur caractère amphiphile et s'insèrent parmi les phospholipides membranaires. Cette insertion perturbe la perméabilité de la membrane bactérienne entraînant la mort cellulaire (Bourinbaiar et Coleman, 1997).

Polypeptides non tensio-actifs :

Dans ce groupe, on note la tyrocidine, la bacitracine et la gramicidine. Ce dernier est un mélange d'antibiotiques composé de gramicidine A (environ 80%), de gramicidine B (6%) et gramicidine C (14%) qui sont produits par *Bacillus bevis*. Ces antibiotiques s'insèrent dans la membrane plasmique, puis ils forment des canaux et augmente la perméabilité de la membrane (Bourinbaiar et Coleman, 1997).

4-3 Antibiotiques inhibant la traduction des ARNm et la synthèse des protéines

4-3-1 Mode d'action des aminosides

Les aminosides sont classés selon la position des sucres fixés sur le cycle désoxystreptamine. Ils sont des molécules hydrophiles qui se fixent sur les acides teichoïques de la paroi des staphylocoques, puis sur les quinolones de la chaîne respiratoire à la face externe de la membrane cytoplasmique et enfin qui pénètrent à travers cette dernière grâce à un phénomène actif consommateur d'énergie. Au sein du cytoplasme, ces molécules vont avoir pour cible la sous-unité 30S du ribosome, formée par la réunion d'une molécule d'ARN 16S et de ribonucléoprotéines. Cette fixation entraîne une perturbation ou une inhibition de la traduction des ARN messagers en protéines. L'action des aminosides se traduit par une bactéricidie précoce (Le Loire et Gautier, 2010).

4-3-2 Mode d'action des Macrolides, Lincosamides et Synergystines (MLS)

Il s'agit d'un groupe de molécules hétéroclites sur le plan structural mais qui ont des mécanismes d'action et un spectre antibactérien communs. Trois groupes sont classiquement définis : les macrolides (M), les lincosamides (L) et les synergystines (S) (Le Loire et Gautier, 2010).

- **Macrolides**

Ils sont produits par diverse espèce du genre *Streptomyces*, sont classées selon le nombre d'atomes de carbone, à 14 atomes de carbone (erythromycine, clarythromycine, roxithromycine), à 15 atomes de carbone (azythromycine) et à 16 atomes de carbone (spiramycine, josamycine) (Leclercq, 2002).

- **Lincosamides**

Les lincosamides ont été isolées à partir de *Streptomyces lincolnensis*. Leur structure moléculaire est différente des macrolides mais leurs actions sont similaires (Leclercq, 2002).

- **Synergystines ou strptogramines**

Ils ont été isolés en 1955 par une bactérie *Streptomyces pristinaespiralis*. Actuellement, il n'existe que la pristinamycine dans cette famille.

Ces antibiotiques se fixent sur la sous-unité 50S des ribosomes et inhibent ainsi la synthèse protéique. Cette interaction induit un blocage du complexe aminoacyl-ARNt et les acides aminés apportés par l'ARN de transfert ne s'incorporent plus aux chaînes polypeptidiques. La synthèse protéique ne pouvant plus se réaliser, la survie de la bactérie est compromise. Les MLS sont des antibiotiques bactériostatiques, sauf les synergystines qui sont bactéricides vis-à-vis des *S. aureus* (Daurel et Leclercq, 2008).

4-3-3. Mode d'action des phénicolés

La tête de liste des phénicolés est le chloramphénicol, il a été isolé à partir de *Streptomyces venezuelae*, il est maintenant entièrement produit par synthèse.

Comme les macrolides et les lincosamides, les phénicolés se fixent à la sous-unité 50 S des ribosomes bactériens. Ils inhibent la synthèse des protéines en empêchant la liaison du

complexe amino-acyl-ARNt à son site de fixation, et donc la réaction de transpeptidation, c'est une molécule bactériostatique sur les souches de *S. aureus* (LeLoire et Gautier, 2010).

4-3-4 Mode d'action des acides fusidiques

L'acide fusidique est le seul représentant des antibiotiques stéroïdiques ou fusidanines. La molécule est d'origine naturelle car elle est produite par un micromycète, le *Fusidium coccineum*.

Les fusidanines vont former un complexe stable avec le facteur d'élongation EF-G qui est une GTPase. Ce complexe empêche la synthèse protéique puisque l'élongation de la chaîne peptidique est bloquée. L'antibiotique a une activité bactéricide rapide envers *S. aureus* (Wang et al, 2012).

4-3-5 Mode d'action des tétracyclines et glycylcyclines

Ces molécules font partie d'un groupe homogène structurellement. Elles ont comme point commun d'avoir quatre cycles (tétracyclines) dans leurs structures moléculaires formant un noyau naphtacène (Le Loire et Gautier, 2010).

Les tétracyclines sont des molécules amphotères, propriété qui leur confère la possibilité de former des complexes avec de nombreux ions, la formation de ces complexes et un gradient de pH transmembranaire expliqueraient le passage à travers la membrane cytoplasmiques des tétracyclines et leur accumulation intracytoplasmique. Dans le cytoplasme, les tétracyclines se fixent de façon irréversible sur la sous unité 30 S du ribosome, empêchant la fixation de nouveau aminoacyl-ARNt en inhibant l'élongation peptidique. Ils possèdent une action bactériostatique envers le *S. aureus* (Gaudy et Buxeraud, 2005).

4-4 Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques

4-4-1 Mode d'action des quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité (Cattoir, 2012).

- Les premières quinolones, dites de première génération : acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, comprennent des molécules à spectre étroit, utilisées dans le traitement des infections urinaires dues aux entérobactéries.
- Les quinolones de deuxième génération : norfloxacin, ofloxacin, péfloxacin, ciprofloxacine, présentent un spectre élargi à d'autres bacilles à Gram négatif.
- Les molécules de troisième génération ou dites fluoroquinolones: sparfloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine.
- les fluoroquinolones de quatrième génération : trovafloxacine, gatifloxacine présentant une activité accrue sur les bactéries anaérobies strictes (Cattoir, 2012).

Le mécanisme d'action de cette classe pharmacologique consiste en une inhibition de l'ADN gyrase, topoisomérase II bactérienne composée de deux sous-unités A et deux sous-unités B et de la topoisomérase IV. Ces enzymes sont essentielles à la réplication et à la transcription de

l'ADN bactérien, l'inhibition par les quinolones du complexe ADN bactérien-enzymes empêche le «surenroulement» de l'ADN, le relâchement de l'ADN «surenroulé» et entraîne la séparation de la double chaîne hélicoïdale de l'ADN. Les quinolones sont spécifiques à l'ADN bactérien et exercent une activité bactéricide pendant la phase de multiplication et de repos des bactéries (Larouche, 2001).

4-4-2 Mode d'action des triméthoprimes et sulfamides

Triméthoprime et les Sulfaméthoxazole sont souvent utilisés en combinaison pour leur action synergique inhibitrice sur la synthèse de l'acide folique, un élément essentiel dans la synthèse de l'acide nucléique et des protéines. Le Sulfaméthoxazole, un analogue de l'acide para-amino-benzoïque, inhibe par compétition la dihydroptéroate synthase (DHPS), tandis que le Triméthoprime inhibe la dihydrofolate réductase (DHFR). La résistance aux sulfonamides est due à l'hyperproduction de l'acide para-amino-benzoïque. Plus récemment, des mutations chromosomiques dans l'enzyme DHPS ont été décrites. Un haut niveau de résistance au triméthoprime est assuré par une seule substitution d'un acide aminé dans l'enzyme DHFR, codée par un gène plasmidique (Lyon et Skurray, 1987 ; Winston et Chambers, 2009).

5- Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger (Le Loir et Gautier, 2010).

5-1 Définition de la résistance

La résistance aux antibiotiques ou antibiorésistance est la capacité d'un micro-organisme à résister aux effets des antibiotiques. C'est la capacité de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce (Le Loire et Gautier, 2010)

5-2 Supports génétiques de la résistance

Il existe deux types de résistance des bactéries pour les antibiotiques : la résistance naturelle et la résistance acquise (Leclerc et *al*, 1995).

5-2-1 Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque d'une bactérie est une caractéristique propre à une espèce bactérienne, qui est partagée par toutes les souches normales de cette espèce. Elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification, elle se traduit habituellement par des CMI supérieures à la valeur critique basse de concentration de l'antibiotique concerné. Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de division cellulaire (Courvalin, 2008 ; Lozniewski et *al*, 2010).

5-2-2 Résistance acquise

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien (Courvalin, 2008).

5-2-2-1 Mutation chromosomique

Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont induites par des modifications structurales pouvant se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit en rendant les cibles spécifiques des antibiotiques indifférentes. La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels. Il s'agit premièrement de sa rareté. Ensuite elle possède un caractère aléatoire car l'antibiotique n'est pas une molécule mutagène donc n'induit pas de mutation chez la bactérie. Cependant l'antibiotique participe à la sélection des bactéries mutantes. On note aussi son caractère spécifique (affecte un antibiotique ou une famille d'antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action), son indépendance et son absence de transmissibilité (Courvalin et al, 2001).

5-2-2-2 Acquisition de gènes

Il s'agit ici de la résistance par un gain d'ADN extra-chromosomique. Ces fragments d'ADN peuvent être transmis d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse ; cette transmission peut se faire entre deux espèces différentes de bactéries. A travers ce mécanisme, on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (Baudry et Brézellec, 2006).

5-3 Modes de résistances des bactéries

Selon Donnio (2010), quatre grandes catégories de mécanismes de résistance concernent la plupart des espèces bactériennes, y compris *S. aureus*. Il s'agit de :

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

5-3-1 Inactivation enzymatique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des pénicillines. On décrit également ce type de résistance 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 (Muylaert et Mainil, 2012).

5-3-2 Modification de la cible

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. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante 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. 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. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamides, les triméthoprimes et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêtalactames d'usage vétérinaire sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méthicilline (Muylaert et Mainil, 2012).

5-3-3 Imperméabilité cellulaire

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

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

L'imperméabilité membranaire est liée à des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Citons comme exemple, la réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactames, aux tétracyclines et au chloramphénicol.

La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries Gram négatives et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les *Enterobacteriaceae* (Muylaert et Mainil, 2012).

5-3-4 Phénomène d'efflux

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments.

Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de la concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux sur la base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour specific drug-resistance), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour multiple-drug-resistance). Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, représentent un important mécanisme de résistance aux tétracyclines essentiellement parmi les bactéries Gram négatives, aux composés du groupe MLS et aux phénicolés. Les pompes MDR, généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques, sont classées en deux groupes sur la base de la source d'énergie utilisée: les transporteurs ABC (pour ATP-binding cassette) utilisant l'hydrolyse de l'ATP et plutôt spécifiques de certains composés comme le groupe MLS, et les transporteurs secondaires exploitant le gradient électrochimique transmembranaire de protons et d'ions de sodium pour expulser la molécule à l'extérieur de la cellule et responsables de résistances multiples aux antibiotiques (Muylaert et Mainil, 2012).

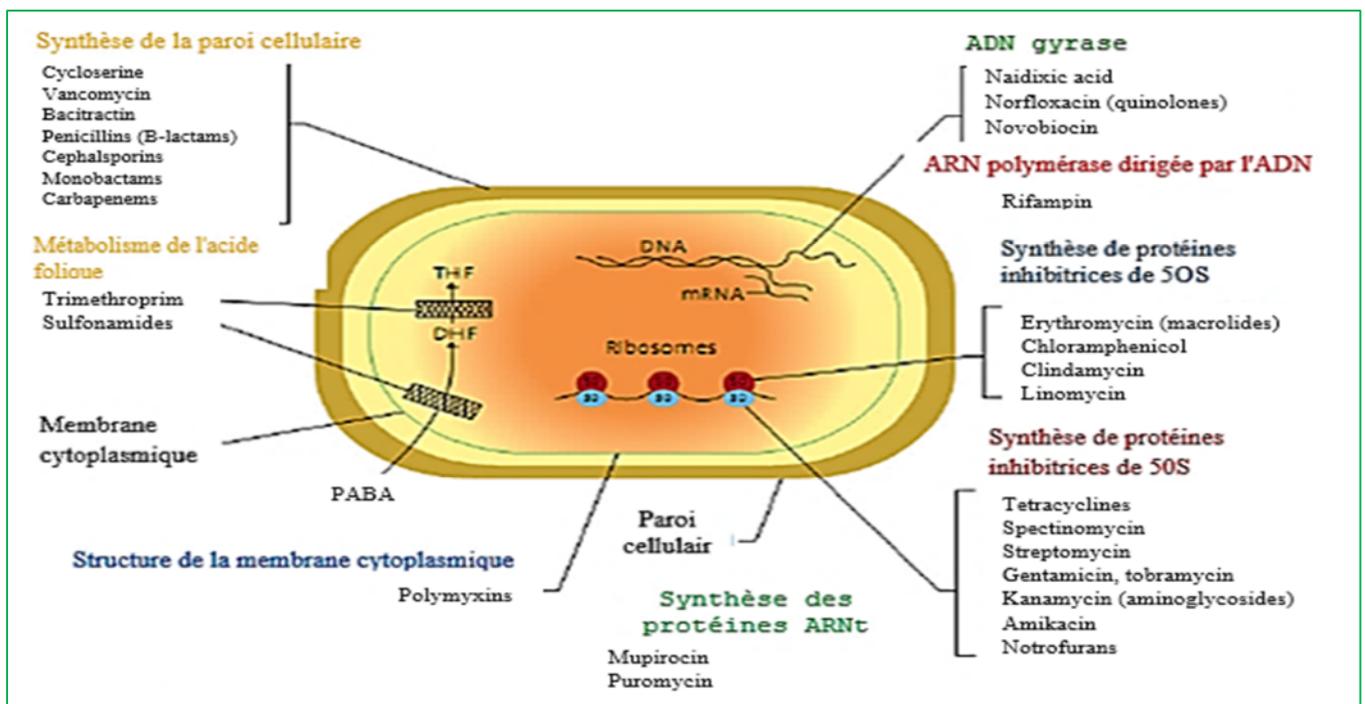


Figure 07 : Mode d'action des antibiotiques (Madigan et al, 2000).

5-4 Résistance aux β -lactamines

5-4-1 Résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases

La pénicillinase plasmidique est une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle β -lactame et donc de rendre inapte l'antibiotique. Ces enzymes ne sont pas capables d'inactiver les pénicillines M et les céphalosporines. De plus, il existe des inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) qui restaurent l'activité des antibiotiques qui leur sont associés (Courvalin, 2006).

5-4-2 Résistance à la méticilline

Il s'agit d'une résistance acquise par modification de la cible principale de nombreuses β -lactamines, la PLP2. La nouvelle PLP2a produite a une faible affinité vis-à-vis des β -lactamines. Cette résistance est à considérer comme croisée pour l'ensemble des β -lactamines mais son expression peut être hétérogène au sein d'une même souche. Ils existent quatre classes d'expression (classes I, II, III et IV). La PLP2a possède la capacité de catalyser seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont inactivées par les β -lactamines (Daurel et Leclercq, 2008).

5-4-3 Autres mécanisme de résistance à la méticilline

Ces résistances sont de bas niveau et sont nommés BORSA (bordeline *Staphylococcus aureus*) et MODSA (modified *Staphylococcus aureus*). Les souches BORSA et MODSA ne possèdent pas le gène *mecA*. Pour les souches BORSA, le mécanisme impliqué est une hyperproduction de la pénicillinase staphylococcique. Tandis que, pour les souches MODSA, une modification des PLP endogènes (PLP1, 2 ou 4) entraîne une résistance sans production de pénicillinase (Daurel et Leclercq, 2008).

5-5 Résistance aux glycopeptides

Les glycopeptides comprennent la vancomycine et la teicoplanine, sont utilisés en alternatives aux β -lactamines dans le traitement des infections causées par les SARM. Ces antibiotiques ont un effet bactéricide qui s'exerce lentement. Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane des bactéries induisant la mort de ces dernières (Tankovic et al, 1997).

La sensibilité diminuée aux glycopeptides est due essentiellement à l'épaississement de la paroi. Elle résulte d'une réorganisation complexe du métabolisme du peptidoglycane. Ceci est probablement dû à des mutations dans de multiples gènes, empêchant l'accès de l'antibiotique à sa cible. Deux autres hypothèses sont décrites, la première est l'hyperproduction de précurseurs du peptidoglycane qui agissent comme des leurres pour les glycopeptides. La seconde est due à la non dégradation des anciennes couches de peptidoglycane par les enzymes sautoxytiques (Hiramatsu, 2001 ; Daurel et Leclercq, 2008).

5-6 Résistance aux aminosides

Ces antibiotiques agissent en inhibant la synthèse protéique en se fixant sur la sous unité 30S du ribosome bactérien.

La résistance aux aminosides se fait le plus souvent par la modification enzymatique qui constitue le principal mécanisme de la résistance acquise. Il existe trois classes d'enzymes en fonction de la réaction catalysée :

- L'aminoglycoside phosphotransférase APH 3'III : inactive la néomycine, la kanamycine et partiellement l'amikacine (phénotype K).
- L'aminoglycoside nucléotidyltransférase AAD 4'-4'' : inactive la kanamycine, la tobramycine et partiellement l'amikacine par addition d'un groupement adényl (phénotype KT).
- L'aminoglycoside acétyltransférase AAC6'-APH2'' : cette enzyme possède deux fonctions : l'activité nucléotidyltransférase et l'activité phosphotransférase sur la tobramycine, la kanamycine et la gentamicine (phénotype KTG). Elle inactive partiellement les dérivés hémisynthétiques de ces deux dernières molécules qui sont l'amikacine et la nétilmicine, avec perte du caractère bactéricide.

L'aminoside n'est modifié qu'après sa pénétration dans la cellule bactérienne et cette modification empêche sa fixation sur le ribosome (Daurel et Leclercq, 2008 ; Le Loir et Gautier, 2010).

5-7 Résistance aux fluoroquinolones

Il existe deux mécanismes de résistance de type chromosomique exclusivement. La résistance aux fluoroquinolones est liée, soit à des mutations ponctuelles dans l'une et/ou l'autre des deux cibles qui sont la gyrase et la topoisomérase IV, soit à un efflux actif. Chez *S. aureus*, la première étape vers la résistance consiste en la modification d'une seule cible, la cible préférentielle, qui confère une résistance de bas niveau et affecte plus ou moins l'activité de diverses fluoroquinolones. L'étape suivante, qui consiste en la modification de la seconde cible confère une résistance de plus haut niveau. Les mutations siègent en général dans une région restreinte appelée QRDR (« Quinolone Resistance-Determiningregion ») (Daurel et Leclercq, 2008).

5-8 Résistance aux tétracyclines et glycyliclines

Il existe deux types de résistance aux tétracyclines. La première est liée à un plasmide (le plus connu est pT181), elle entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines *Tet* situées dans la membrane interne. La seconde résistance entraîne une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines *Tet*. La protéine *Tet* (K) est l'une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines et les protéines *Tet* (O) ou *Tet* (M) vont protéger les sites actifs ribosomiaux (Courvalin et leclercq, 2012).

5-9 Résistance aux phénicolés

La résistance de haut niveau au chloramphénicol chez *S. aureus* est liée à la production d'un chloramphénicol acétyltransférase (CAT) codée par un gène *cat* localisé sur un plasmide. Par

ailleurs, les mécanismes d'efflux multiple (MDR) comme *nor A* peuvent entraîner une augmentation des CMI des phénicolés vis-à-vis de *S. aureus* (Le Loir et Gautier, 2010)

5-10 Résistance aux MLS

Plusieurs mécanismes de résistance ont été décrits chez *S. aureus* pour ce groupe de molécule. Le premier est assuré par la méthylation de l'adénine A2058 de l'ARN ribosomal 23S. Le groupe méthyle empêche la fixation de l'antibiotique sur sa cible. Les gènes codant une méthylation sont nommée « *erm* » (*erythromycin ribosome methylase*), Ils peuvent être portés par des plasmides et des transposons. Chez *S. aureus*, les deux principaux gènes identifiés sont *erm (A)* et *erm (C)* (Pichere, 2001 ; Winston et Chambers, 2009), les macrolides à 14 et 15 atomes sont des inducteurs. Les macrolides à 16 atomes, les lincosamides et les streptogramines ne sont pas des inducteurs (Daurel et Leclerq, 2008).

Un deuxième mécanisme de résistance aux macrolides chez *S. aureus* est assuré par l'efflux, la présence d'une pompe ATP-dépendante codée par le gène plasmidique *mcr A*, confère une résistance par efflux aux macrolides de 14 et 15 atomes ainsi qu'aux streptogramines B. Le troisième mécanisme consiste en l'inactivation enzymatique des lincosamides, dû à l'acquisition du gène *lnu A* (Pichere, 2001 ; Daurel et Leclerq, 2008).

Ce mécanisme de résistance le plus connu est une modification de la cible ribosomale. La partie ribosomale est modifiée par une attaque enzymatique, l'adénine en position 2058 de l'ARNr 23S se retrouve alors méthylée. Les enzymes en cause sont des méthylases codées par des gènes de la famille *erm* (*erythromycin resistance methylase*). La méthylation empêche la fixation du MLS et son action. Cette résistance peut être inductible (induite en présence de macrolides) ou constitutive (exprimée en permanence). Cependant, cette méthylation ne touche pas les streptogramines A, c'est pourquoi la pristinamycine reste active, même en cas de résistance constitutive (Pichere, 2001 ; Daurel et Leclerq, 2008).

Chapitre I : Méthodes

1-Méthodes

1-1 Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette présente étude est l'isolement de souches de *S. aureus* et leur caractérisation phénotypique chez la volaille (poulet de chair et dinde) à partir de prélèvements nasaux et ceci dans le but de mettre en évidence le risque sanitaire associé à la présence de souches multi-résistantes (SARM) chez ces animaux de rente.

1-2 Lieu et durée de l'étude

Cette étude a été menée au sein du laboratoire de recherche de biochimie analytique et biotechnologies (LABAB) de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Elle s'est déroulée sur une période de 4 mois allant de Février au Mai 2019.

1-3 Collecte des échantillons

La collecte des échantillons est réalisée au niveau de deux abattoirs différents situés dans la commune de Tizi Ouzou. Au totale 211 échantillons ont été prélevés incluant, 172 échantillons de poulet de chair et 39 échantillons de la dinde.

Les échantillons ont été collectés la matinée lors de l'abattage, chaque tête est mise dans un sachet alimentaire en plastique, puis ils sont acheminés au laboratoire dans une glacière empilée de pochettes de glace.

Ces échantillons sont identifiés par un code contenant des lettres indiquant le type de prélèvement (poulet de chair ou dinde), leurs origines et le numéro de l'échantillon

Le nombre de prélèvements réalisés est de quatre, espacés d'une durée de deux à trois semaines. Ces échantillons proviennent des différents élevages de la wilaya de Tizi Ouzou ou de d'autres wilayas (**Tableau 02**).

2-Analyse des échantillons au laboratoire

Tableau 02 : Nature et nombre de prélèvements

Prélèvements	Abattoirs	Nature des prélèvements	Type des échantillons	Origine des échantillons	Age des échantillons	Nombre des échantillons
Premier	Aissiou abattoir (commune Sidi Naamane)	Prélèvement nasal	-Poulet de chaire	Khemisse El Khachena (Boumerdes)	-54 jours	63
Deuxième	Charnaai abattoir (commune Sidi Naamane)	Prélèvement nasal	-Poulet de chaire	Tanouarth (commune Ait Oumalou)	-55 jours	26
			-Dinde	Tadjenante	-4 mois	12
				Azefoune	-4 mois	27
Troisième	Charnaai abattoir (commune Sidi Naamane)	Prélèvement nasal	-Poulet de chaire	Ouaguenoun	-53 jours	20
				Mekla	-56 jours	20
				Ouadia	-67 jours	20
Quatrième	Charnaai abattoir (commune Sidi Naamane)	Prélèvement nasal	-Poulet de chaire	Tifra (commune de Tigzirt)	-55 jours	23

Après la récolte des échantillons, ces derniers sont acheminés et analysés le même jour (2 à 3 heures après la collecte des prélèvements) au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytiques et Biotechnologies (LABAB) de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

2-1 Écouvillonnage et enrichissement

L'écouvillonnage de la partie nasale a été effectué dans des conditions aseptiques entre deux bacs bunsen en introduisant un coton-tige stérile dans la cavité nasale du poulet ou de la dinde. Nous avons effectué de légers mouvements rotatifs en frottant délicatement leurs parois nasales, dans le but de recueillir au maximum les sécrétions nasales. Nous avons ensuite mis le coton-tige dans un tube à essai contenant le bouillon hypersalé Chapman (7ml) en évitant toutes autres contaminations. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 à 48h.



Figure 08 : écouvillonnage de la cavité nasale de poulet de chair

(Photo personnelle prise au laboratoire)

2-2 Isolement de *S. aureus*

L'isolement est réalisé sur la gélose Baird Parker (BP) ou sur la gélose Chapman. La gélose BP représente le milieu de choix en bactériologie alimentaire car il permet la meilleure récupération des souches de *S. aureus* grâce à ses constituants de base (lithium) et au jaune d'œuf rajoutés. En ce qui concerne le milieu Chapman, sa sélectivité est due à la concentration élevée en NaCl.

Dans notre étude, nous avons utilisé les deux milieux d'isolement : Chapman et Baird Parker). Sur la gélose BP, 0.1 ml du bouillon Chapman (tubes ayant virés au jaune après incubation) sont déposés sur la surface, suivi d'un étalement. Tandis que, sur la gélose Chapman, de simples stries en trois quadrants sont réalisées après le prélèvement de deux gouttes du bouillon Chapman.

2-3 Purification des isolats

Une à trois colonies caractéristiques de *S. aureus* (colonies rondes à bords réguliers, lisses, bombées, noires et ayant un halo clair) sur le milieu BP, ou (colonies jaunes, bombées, lisses, à bords réguliers) sur milieu Chapman, sont prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur de chaque boîte positive et sont purifiées soit sur gélose BHI ou TSYEA. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 h. Cette étape est refaite jusqu'à avoir une boîte contenant des colonies pures.

2-4 Identification biochimique

En plus des caractères morphologiques (caractères macroscopiques des colonies), l'identification est aussi effectuée sur la base de quelque caractère biochimique : catalase, coagulase, ADNase et VP.

2-4-1 Test de la catalase

Une colonie provenant d'une culture pure est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur est déposée sur une lame contenant une goutte d' H_2O_2 . La souche est dite catalase+ si des bulles de gaz (O_2) apparaissent (effervescence).

2-4-2 Test d'ADNase

A partir d'une culture pure, nous avonsensemencé la gélose à ADN avec la souche à tester (sous forme d'une strie). Nous avons inclus un témoin positif *S. aureus* MU50. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Après incubation, les boîtes ont été inondées avec du HCl à 2N. Après 2 à 3 minutes de contact, l'excès de HCl a été éliminé. Les souches ADNase (+) sont entourées d'une zone claire autour de la strie.

2-4-3 Test de la coagulase

Après avoir repiqué la souche pure dans du Bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth) et incubé à 37°C pendant 24 heures. 0.5 ml de cette culture sont mises dans un tube à hémolyse contenant 0.5 ml de plasma humain. Ces tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 1 heure à 4 heures.

La réaction de la coagulase est considérée comme positive s'il y'aura formation d'un coagulum (prise en masse).

2-4-4 Test de Voges Proskauer (VP)

Deux colonies issues d'une boîte de BHI ou TSYEA d'une souche suspecte sont repiquées sur le bouillon Clark et Lubs. Le milieu est incubé à 37°C pendant 48 heures. La révélation de l'acétoïne sur le milieu Clark et Lubs est réalisée en ajoutant 15 gouttes de réactif VPI (α naphtol à 6%), et 15 gouttes de VPII (NaOH à 4N). La souche est considéré VP+, si un halo rouge apparaît en surface du tube au bout de 20 à 30mn. La souche de référence *S. aureus* ATCC 25923 est utilisée comme témoin positif.

2-5 Antibiorésistance des souches isolées

L'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées a été étudiée conformément aux recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018), en appliquant la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur gélose Muller-Hinton (MH). La résistance des souches a été testée vis-à-vis de 09 molécules d'antibiotiques listés dans le tableau 03.

- **Technique de l'antibiogramme**

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure sur BHI ou TSYEA de 18 h à 37°C. Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse à boucle en platine puis déchargées dans de l'eau physiologique stérile.

La suspension bactérienne est homogénéisée au vortex et ajustée à une densité optique (D.O) comprise entre 0.08-0.1 lue à 625 nm au spectrophotomètre. L'ensemencement des boîtes de Pétri contenant la gélose MH est effectué par la méthode d'écouvillonnage.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne préparée, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis le frotter sur la totalité de la surface sèche de la gélose MH de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Trois à quatre disques d'antibiotiques sont appliqués par boîte, chaque disque est appliqué à l'aide d'une pince stérile. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont immédiatement incubées pendant 24 h à 37°C.

La lecture des antibiogrammes se fait en mesurant le diamètre de chaque zone d'inhibition en millimètre (mm). Par la suite, les souches sont classées en trois catégories : sensibles, intermédiaires ou résistantes selon les recommandations du CLSI (2018).

Tableau 03 : Listes des molécules d'antibiotiques testés.

Familles	Antibiotiques	Abréviation	Charge en µg	Marque
β-lactamines	Pénicilline G	P	10	Liofilchem, Italie
	Céfoxitine	FOX	30	Liofilchem, Italie
Aminosides	Gentamycine	CN	10	Liofilchem, Italie
	Néomycine	N	30	Liofilchem, Italie
Macrolides	Erythromycine	E	15	Liofilchem, Italie
Quinolone	Ofloxacin	OFX	5	Liofilchem, Italie
Tétracycline	Tétracycline	TE	30	Liofilchem, Italie
Phénicol	Chlorampénicol	C	30	Liofilchem, Italie
Sulfamides	Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	SXT	25	Liofilchem, Italie

2-6 Conservation des souches

Une fois les souches identifiées, elles sont conservées dans des cryotubes à -20°C contenant le bouillon cœur-cervelle (BHIB) additionné de Glycérol.

Chapitre II : Résultats et discussion

1-Résultats

1.1 Prévalence de *S. aureus*

Durant cette étude, 211 échantillons de volaille (poulet de chair et dinde) sont prélevés au niveau de deux abattoirs de la commune Sidi Naamane, Wilaya de Tizi-Ouzou. Après l'enrichissement sur le bouillon hypersalé Chapman, 167 prélèvement se sont révélés positifs (incluant 145 échantillons de poulet de chair et 22 échantillons de la dinde).

L'isolement sur la gélose sélective de Baird-Parker, nous a permis d'avoir 74 colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus* (Figure 9). Ces dernières ont été soumises à des tests biochimiques, ce qui a permis de confirmer 35 souches de *Staphylococcus aureus*.

La fréquence d'isolement de *S. aureus* est de 11.37% (Tableau 4). Celle-ci est variable selon la région de l'étude (Tableau 5).



Figure 09 : Aspect des colonies caractéristiques de *S. aureus* sur Baird Parker (Photo personnelle prise au laboratoire)

Tableau 04 : Prévalence de *S. aureus* selon le type de prélèvement

Type d'échantillon	Nombre d'échantillons prélevés	Nombre d'échantillons positifs	Fréquence d'isolement (%)	Nombre de souches de <i>S. aureus</i> isolées
Poulet de chair	172	24	13.95	35
Dinde	39	0	0	0
Totale	211	24	11.37	35

Tableau 05 : Prévalence de *S. aureus* et nombre de souches isolées selon la région

Origine d'échantillon	Nombre de Prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Prévalence de <i>S. aureus</i> (%)	Nombre de <i>S. aureus</i> isolées
Khemis El Khechna (Boumerdes)	63	13	20.63	17
Tanouart	26	0	0	0
Tajnant	12	0	0	0
Azefoun	27	0	0	0
Ouaguenoun	20	2	10	3
Mekla	20	1	5	2
Ouadia	20	4	20	5
Tigzirt	23	4	20	8
Total	211	24	11.37	35

1.2 Antibiorésistances des souches isolées

Les résultats obtenus ont montré l'existence de résistances, avec des proportions variables selon les familles d'antibiotiques étudiées. En effet, un taux élevé de résistance à la tétracycline, à l'érythromycine et à la pénicilline ont été observées, avec des fréquences de 88.57%, 74.28% et 57.14% respectivement. En outre, des résistances relativement faibles ont été enregistrées pour l'ofloxacine, la céfoxitine et le chloramphénicol avec des pourcentages de 25.71%, 22.85% et 17.14%, respectivement. Une faible résistance a été observée pour le triméthoprime/sulfaméthoxazole. Enfin, aucune résistance n'a été observée pour la gentamycine et la néomycine (Tableau 6).

Tableau 06 : Résistance des souches de *S. aureus* aux antibiotiques testés (n=35).

Antibiotiques	Poulet de chair	
	Résistance	Sensibilité
	Nombre (%)	Nombre (%)
P	20 (57.14)	15 (42.85)
FOX	8 (22.85)	27 (77.14)
TE	31(88.57)	4 (11.42)
C	6 (17.14)	29 (82.85)
SXT	2 (5.71)	32 (91.42)
E	26 (74.28)	9 (25.71)
CN	0 (0)	35 (100)
N	0 (0)	35 (100)
OFX	9 (25.71)	25 (71.42)

17 souches (48.57%) présentent des multi-résistances et sept phénotypes de multi-résistance ont été observés. Le phénotype le plus observé est celui de P-FOX-TE-C-E. Les phénotypes de multi-résistance sont résumés dans le tableau 07.

Tableau 07 : Phénotypes de multi-résistances

Phénotype de multi-résistance	Nombre de souches
P-TE-E-OFX	2
P-TE-E	2
P-TE-OFX	4
P-FOX-TE-E-OFX	1
P-FOX-TE-OFX	1
P-TE-SXT-E-OFX	1
P-FOX-TE-C-E	6
Total	17

Dans cette étude 8 souches ont été qualifiées comme étant des *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) et 27 souches ont été des *S. aureus* sensibles à la méthicilline (SASM), avec une fréquence de 22.85% et 77.14% respectivement.

Tableau 08 : Phénotypes de résistance et origines des SARM

SARM		
Souche	Phénotypes de résistance	Origines des souches
S308	P.FOX.TE.E.OFX	Ouadia
S326	P.FOX.TE.OFX	Ouadia
S400	P.FOX.TE.C.E	Tgzirt
S401	P.FOX.TE.C.E	Tgzirt
S402	P.FOX.TE.C.E	Tgzirt
S404	P.FOX.TE.C.E	Tgzirt
S407	P.FOX.TE.C.E	Tgzirt
S408	P.FOX.TE.C.E	Tgzirt

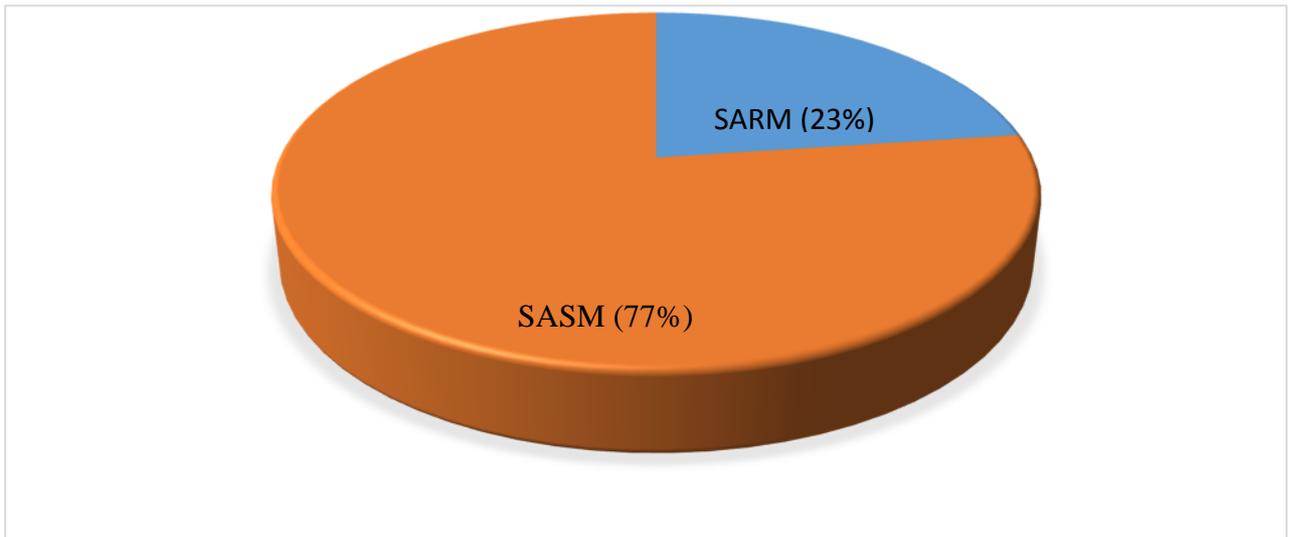


Figure 10 : Fréquence d'isolement des SARM et des SASM

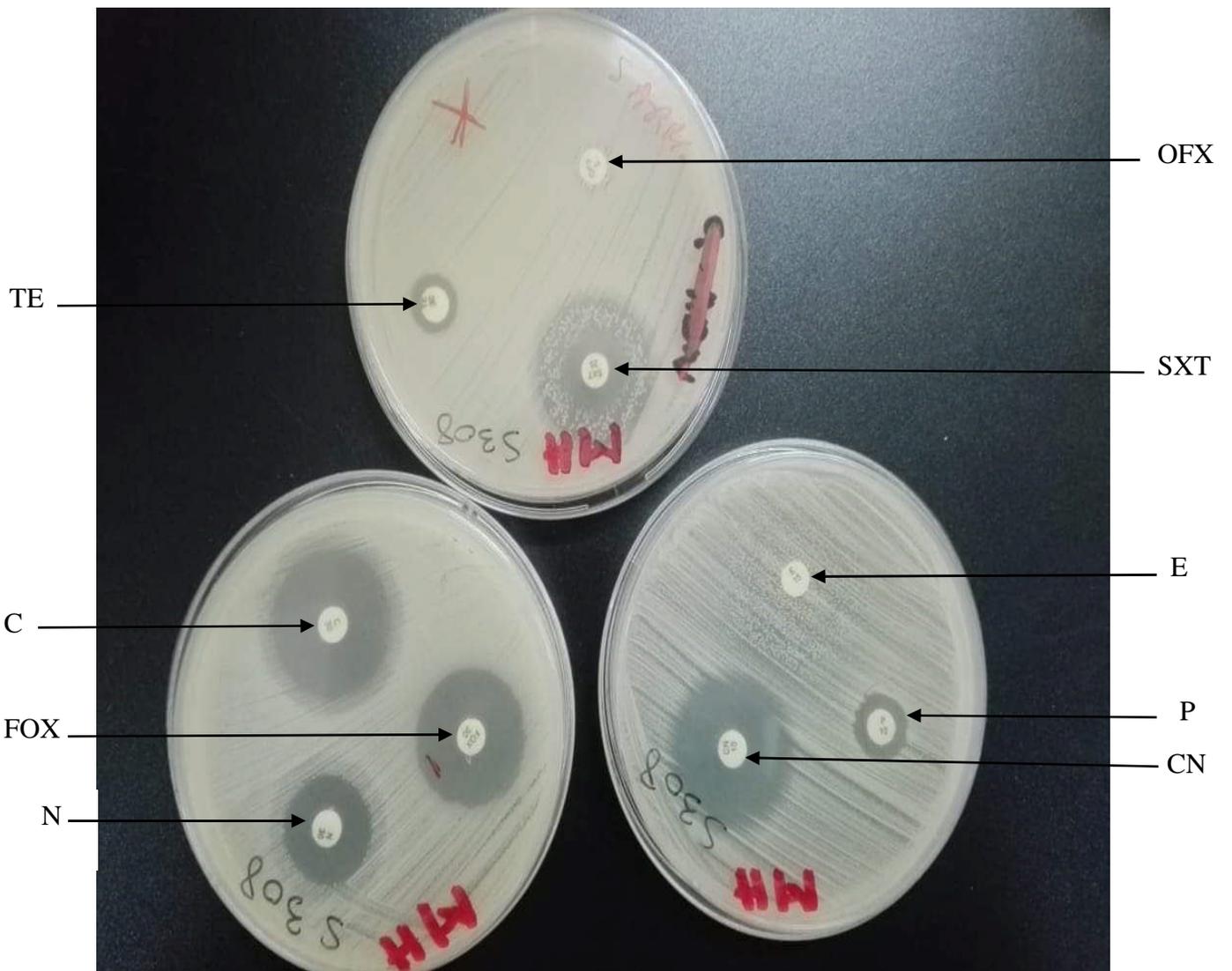


Figure 11 : Profil de résistance d'une souche SARM (Photo personnelle prise au laboratoire)

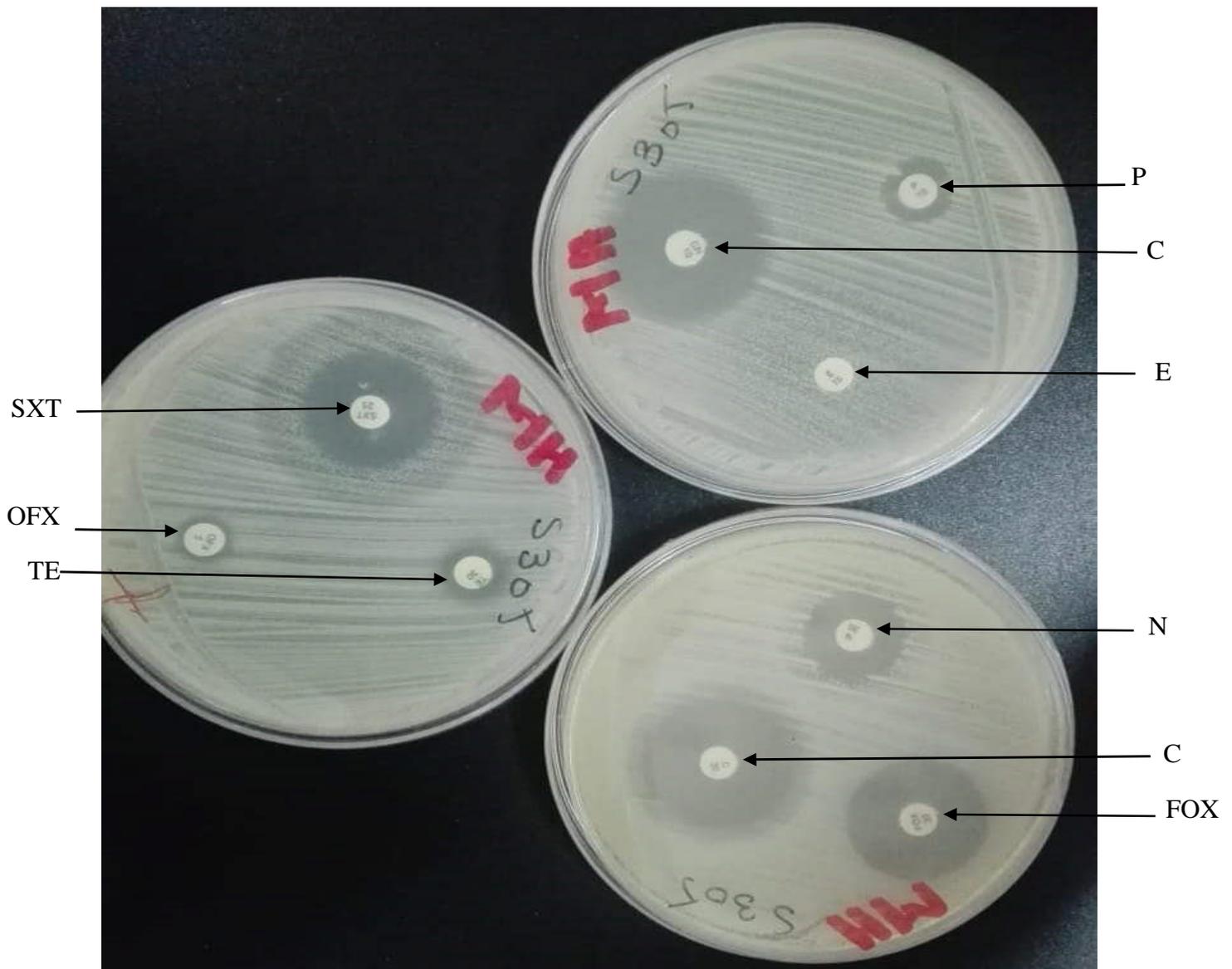


Figure 12 : Profil de résistance d'une souche SASM (Photo personnelle prise au laboratoire)

2-Discussion

Les résultats de ce travail révèlent que la prévalence de *S. aureus* est de 11.37%, sur un total de 211 échantillons du poulet de chair. Nos résultats ne concordent pas avec ceux de Neela et *al* (2013), qui ont annoncé une fréquence d'isolement extrêmement faible de *S. aureus* dans le poulet, qui est de 1.4% (n=7 sur 503 prélèvements nasaux) en Malaisie. Cette fréquence semble moins importante que celle rapportées par Ali et *al* (2017), qui ont annoncé des taux de contaminations du poulet de chair de 50% dans la ville de Chittagong au Bangladesh. Ainsi, Bakeet et Darwish (2014) ont annoncé une prévalence de l'ordre de 42.5% en Egypte.

De nombreuses études réalisées à travers plusieurs pays ont montré l'importance de contamination des animaux par *S. aureus*.

En revanche, aucun échantillon de la dinde n'a été contaminé par *S. aureus*, ce qui pourrait être dû au nombre réduit de nos prélèvements. Une contamination de l'ordre de 12.8% chez la dinde a été signalée, dans une étude réalisée sur le portage nasal chez les animaux d'élevage à Béjaïa

Staphylococcus aureus est généralement l'agent causal des infections staphylococciques chez la volaille, mais d'autres espèces (*S. hyicus* et *S. cohnii*) peuvent être retrouvées. En effet, *S. aureus* est un habitant normal de la peau et des voies respiratoires supérieures, aussi bien chez les individus malades et chez les individus sains et il est présent à des niveaux importants dans les bâtiments d'élevage de volaille et dans l'environnement contaminé (Peton et Le Loir, 2014).

A propos de l'antibiorésistance de nos souches, de fortes résistances ont été enregistrées à l'encontre de la tétracycline, l'érythromycine et de la pénicilline G. Nos résultats corroborent avec ceux annoncés par plusieurs auteurs qui signalent que les souches de *S. aureus* résistent vis-à-vis de ces trois molécules. Ali *et al*, (2017) ont annoncé un taux de résistance de 83.33%, 86.67% et 93.33% vis-à-vis de la tétracycline, l'érythromycine et de la pénicilline G respectivement, concernant des souches isolées de la volaille. Un résultat similaire est observé par Nemati *et al* (2008), qui ont annoncé une résistance de 92.9% pour la tétracycline. De fortes résistances vis-à-vis de la pénicilline (92%), de la tétracycline (74%) et de l'érythromycine (45%) ont été rapportées par Kechih-Bounar (2018), concernant des souches de *S. aureus* isolées du portage nasal chez le poulet de chair dans le nord Algérien. En revanche, de faibles résistances vis-à-vis de la pénicilline ont été rapportées par d'autres auteurs contre des souches de *S. aureus* isolées de poulet de chair (Kraushaar *et al*. 2016). Cette forte résistance à la pénicilline est due probablement à la production de β -lactamases, enzymes inactivant la pénicilline et autres molécules appartenant à la famille des β -lactamines (MORONI *et al*, 2006).

L'augmentation de la résistance n'est que le résultat de l'utilisation des antibiotiques. Chez la volaille, la pénicilline, la tétracycline et l'érythromycine sont des antimicrobiens largement utilisés pour le traitement des infections à staphylocoques, c'est la raison pour laquelle le taux de résistance à ces trois antibiotiques est élevée (Tanner, 2000 ; White *et al*, 2003). De plus, la plupart des antibiotiques utilisés par les éleveurs sont administrés dans l'eau de boisson (tylosine, oxytétracyclines,...), dans l'alimentation (amprolium) ou par voie parentérale (streptomycine) (Kabir *et al*, 2004). Or, dans les productions organisées telles que les élevages de lapins, de porc et de volaille, la voie orale est la voie d'administration la plus préférée, étant donné de la taille des individus traités. Ainsi, la voie parentérale est rare dans les élevages avicoles (Chauvin *et al*, 2012).

La céfoxitine, le chloramphénicol et le triméthoprim/sulfaméthoxazole ont gardé de bonnes activités à l'encontre de nos souches isolées. Nos résultats rejoignent ceux de plusieurs auteurs.

Kraushaar *et al* (2016) ont rapporté une résistance relativement faible vis-à-vis de le chloramphénicol. L'absence de résistance vis-à-vis de cette molécule pourrait s'expliquer par le fait que cette dernière est interdite en médecine vétérinaire et réservée uniquement en thérapeutique humaine. En revanche, des résidus de chloramphénicol ont été détectés dans les tissus des animaux en Pologne, ce qui suggère son emploi en pratiques vétérinaires (EFSA,

2014). Des valeurs relativement élevées ont été enregistrées par Kraushaar *et al* (2016) vis-à-vis de la céfoxitine et du triméthoprim/sulfaméthoxazole. Quant à l'ofloxacine, notre résultat est relativement faible (25.71%), contrairement aux résultats obtenus par Suleiman *et al* (2013), qui ont signalé une résistance de l'ordre de 57.4%.

Notons que, l'augmentation de la résistance n'est que le résultat de l'utilisation des antibiotiques dans les divers secteurs, tels que les hôpitaux, les élevages et les animaux domestiques (DAVIES et DAVIES, 2010).

Aucune résistance n'a été enregistrée vis-à-vis de la gentamycine et de la néomycine, pour l'ensemble des souches isolées. Nemati *et al*, (2008) ont signalé des faibles résistances de l'ordre de 14.8% et 17.3% à l'encontre de ces deux molécules respectivement. Tandis que, Ali *et al* (2016) ont annoncées un taux de résistance relativement faible vis-à-vis de la gentamycine et de la Néomycine qui est de 23.33 %. Les mêmes résultats sont obtenus par Kechih-Bounar *et al* (2018), qui ont annoncé des résistances de l'ordre de 3% et 10% vis-à-vis la gentamycine et la néomycine respectivement.

S. aureus résistant à la méthicilline (SARM) a émergé il y a 50 ans, comme un agent pathogène nosocomial mais dans la dernière décennie, il est devenu également une cause majeure d'infections graves dans la communauté, notamment chez l'homme et l'animal (Stefani *et al*, 2012).

Dans notre étude, huit souches ont été qualifiées comme étant des SARM, ce qui fait une prévalence de 22.85%. Ce taux est largement supérieur à celui annoncé par Nemeghaire *et al* (2013), qui ont annoncé des fréquences de l'ordre de 4.05% et 0.4 % chez le poulet chair et la poule pondeuse respectivement. Néanmoins, Kechih-Bounar *et al* (2018) ont annoncé des fréquences relativement élevées chez le poulet de chair et la poule pondeuse, qui sont de l'ordre de 53% et 57%.

La présence des souches SARM chez le poulet de chair pourrait constituer un risque de santé pour les éleveurs, les ouvriers impliqués dans la chaîne d'abattage et pour les vétérinaires praticiens. En effet, Wendlandt *et al* (2013) ont montré que des souches SARM isolées chez le poulet de chair ont pu persister dans l'élevage pour de longues périodes et les similarités entre les isolats obtenus indiquent bien la transmission de ces souches entre le poulet de chair, l'humain et l'environnement de l'élevage. En revanche, des transmissions de SARM de l'homme vers la volaille peuvent se produire. Un exemple clair, est celui de SARM ST5 qui a passé récemment de l'humain vers la volaille (Aires-de-Sousa, 2017).

Toutes les souches SARM isolées résistent vis-à-vis d'autres molécules (tétracycline, chloramphénicol, érythromycine, ofloxacine) en plus de leur résistance vis-à-vis les β -lactamines. Nos résultats rejoignent ceux de plusieurs auteurs qui ont annoncé le phénotype de multi-résistance des SARM isolés chez le poulet de chair (Wendlandt *et al*, 2013 ; Nemeghaire *et al*, 2013 ; Kraushaar *et al*, 2016).

Conclusion

La résistance bactérienne aux antibiotiques se développe rapidement dans le monde et devient un problème crucial non seulement pour la médecine humaine, mais aussi pour la médecine vétérinaire. L'émergence de cette résistance chez les animaux et leurs produits a mis en lumière l'intérêt considérable du transfert potentiel de résistance à la population humaine via la chaîne alimentaire.

Durant cette étude, des souches ont été isolées à partir de poulet de chair et identifiées comme étant des *S. aureus* (n=35) avec une prévalence de 11.37%. L'étude de la résistance des isolats montre de fortes résistances vis-à-vis de la pénicilline G, de la tétracycline et de l'érythromycine. 8 souches SARM ont été confirmées, soit une prévalence de 22.85%. La prévalence des SARM est faible. En revanche, leur présence chez le poulet de chair pourra constituer une menace de santé publique, via la transmission de ces souches aux humains.

Les résultats de cette étude montrent le risque zoonotique associé à la présence des souches SARM chez le poulet de chair et soulignent l'importance de l'application des mesures de biosécurité et les bonnes pratiques d'hygiène pour gérer la diffusion des SARM au sein de ces exploitations d'élevage et à travers la chaîne de production.

Notre étude ouvre plusieurs perspectives, telles que l'isolement d'autres souches de *S. aureus* à partir de poules pondeuses et de poules de reproduction, caractériser les souches isolées sur le plan génotypique (recherche de quelques facteurs de virulence) et étudier le lien génétique entre souches isolées, en faisant recours à des méthodes de biologie moléculaire (*spa*-typing, MLST, PFGE,....).

A

- **Aires-de-Sousa, M. 2017.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. *Clinical Microbiology and Infection*, 23, 373-380.
- **Alexander, E.L., Morgan, D.J., Kesh, S., Weisenberg, S.A., Zaleskas, J.M., Kaltas, A., Chevalier, J.M., Silberzweig, J., Barron, Y., Mediavilla, J.R., Kreiswirth, B.N., Rhee, K.Y. 2011.** Prevalence, persistence, and microbiologie of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among hemodialysis outpatients at a major New York hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 70 :37-44.<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.005>.
- **Ali, Y., Islam, M.A., Muzahid, N.H., Sikder, M.O.F., Amzad Hossain, M.A., Marzan, L.W. 2017.** Characterization, prevalence and antibiogram study of *Staphylococcus aureus* in poultry. *Asian Pac J Trop Biomed* 2017; 7(3): 253–256.
- **Amir, L.H., Garland, S.M., Lumley, J. 2006.** A case-control study of mastitis: nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *BMC Family Practice*, 11, 7, p57.

B

- **Bakeet, A.A.M., Darwish, S.F. 2014.** Phynotypic and genotypic detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) in broiler chichens. *Assiut Vet. Med. J.* Vol. 60 No. 143.
- **Baudry, C., Brézellec .H. 2006.** Microbiologie, immunologie, Groupe Liaisons 126 p.
- **Becker, K., Ballhausen, B., Kahl, B.C., Köck, R. 2015.** The clinical impact of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of the clonal complex 398 for humans. *Vet Microbiol.* 1135, 30082-1.
- **Becker, K., Ballhausen, B., Kahl, B.C., Köck, R. 2017.** The clinical impact of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of the clonal complex 398 for humans. *Vet. Microbiol.* 200, 33–38.
- **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. 2015.** 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, 280-5.
- **Bhakdi, S., Trantum-Jensen, J.1991.** Alpha- Toxine of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Rev*, 55, 733-751.
- **Boisset, S., Vandenesch, F. 2010.** Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines. In. *Staphylococcus aureus*. Le Loir, Y., Gautier, M. Tec & Doc, Lavoisier. France. p 244-268
- **Boumar-kechih, S., Taha Hamdi, M., Aggad, H., Meguenni, N., Cantekin, Z. 2018.** Carriage Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Poultry and Cattle in Northern Algeria. Doi: 10.1155/2018/4636121.
- **Bourinbaiar, A. S., Coleman, C.F. 1997.** The effect of gramicidin, a topical contraceptive and antimicrobial agent with anti-HIV activity, against herpes implex viruses type 1 and 2 in vitro. *Archives of Virology* 142: 2225-2235.

- **Brenes, J.A., Goswami, U., Williams, D.N. 2012.** The association of septic thrombopneumonitis with septic pulmonary embolism in adults. *Open Respir Med J*, 6, 14.
- **Brennan, G.I., Abbott, Y., Burns, A., Leonard, F., McManus, B.A., O'Connell, B., Coleman, D.C., Shore, A.C. 2016.** The Emergence and Spread of Multiple Livestock-Associated Clonal Complex 398 Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Strains among Animals and Humans in the Republic of Ireland, 2010-2014. *PLoS One*. 11, 0149396.
- **Bronner, S., Monteil, H., Prévost, G. 2004.** Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*, complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev*, 28(2), 183–200.
- **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. doi:10.1093/jac/dki372.
- **Brown, K.2004.** Penicillin man, Alexander Fleming and the antibiotic revolution. Stroud, Gloucestershire, Sutton Pub.

C

- **Cattoir, V. 2012.** Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. Rev Elsevier Masson SAS.
- **Célia, S.2016.** mémoire, Etude du portage de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline chez les animaux d'élevage à Bejaia.
- **Chauvin, C., Le Bouquin, S., Sanders P. 2012.** Usage des antibiotiques en filière porcine, avicole et cunicole en France, résultats d'enquêtes. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* no 53/Spécial Antibiotiques et Antibiorésistances.
- **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.
- **Chen, C.J., Huang, Y.C. 2018.** Emergence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Should it be a concern? *Journal of the Formosan Medical Association* (2018) 117, 658-661.
- **Cheng, A.G., McAdow, M., Kim H.K., Bae, T., Missiakas, D.M., Schneewind, O. 2010.** Contribution of coagulases towards *Staphylococcus aureus* Disease and Protective Immunity. *Chang, AG, editor. PLoS Pathog*, 6, e, 1001036. doi : 10.1371/journal.ppat.1001036.
- **Clarke, S.R., Foster, S.J. 2006.** Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol*, 51, 187-224.
- **Cohen, P.R. 2007.** community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infection: a review of epidemiology, clinical features, management, and prevention. *Int J Dermatol*; 46:1- 11. doi:10.1111 /j.1365-4632.2007.03215.x.
- **Courvalin, P. 2008.** La résistance des bactéries aux antibiotiques ; combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques, *Bull-acad-vét-France*, tome 161, numéro1.
- **Courvalin, P., Leclercq, R. 2012.** Antibiogramme, 3ème édition, ESKA, Paris.
- **Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. 2006.** Antibiogramme. Paris : ESKA.

- **Cuny, C., Friedrich, A., Kozytska, S., Layer, F., Nubel, U., Ohlsen, K., Strommeng, B., Walther, B., Wieler, L., Witte, W. 2010.** Emergence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Different Animal Species, *International Journal of Medical Microbiology*, 300, 109–117.

D

- **Daurel, C., Leclercq, R. 2008.** L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Rev Francoph Lab* ; 81–90. Doi : 10. 1016/S1773-035X(08)74870-6.
- **Davies, J., Davies, D. 2010.** Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology Molecular Biology Review*, 74, 417–433.
- **De Boer, E., Zwartkruis-Wahwis, J.T.M., Wit, B., Huijsdens, X.W., De Weeling, A.J., Bosch, T., Van Oosterom, R.A.A., Vila, A., Heuvelink, A.E. 2009.** Prevalence of methicillin-resistant *Stap/hylococcus aureus* in meat. *International Journal of Food Microbiology*, 134, 52-56.
- **Dellaras, C. 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Tec et Doc, Lavoisier. Paris.
- **Demoré, B., Grare, M., Duval, R. 2012.** Pharmacie clinique et thérapeutique 4ème édition. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Elsevier Masson.
- **Dinges, M.M., Orwin, P.M., Schlievert, P.M. 2000.** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*, 13, 16-34. doi :10.1128/CMR.13.1.16-34.
- **Donio, P.Y. 2010.** Sensibilité de la bactérie aux agents bactériostatiques ou bactéricides. In. *Staphylococcus aureus*. Le Loir, Y., Gautier, M. Tec and Doc, Lavoisier. France. p 112-133.
- **Dunman, PM., Murphy, E., Haney, S., Palacios, D., Tucker-Kellogg, G., Wu, S. 2001.** Transcription profiling-based identification of *Staphylococcus aureus* genes regulated by the agr and/or sarA loci. *J Bacteriol.*183(24), 7341–7353.

F

- **Farrell, A., Taylor, D., Holland, K. 1995.** Cloning, nucleotide sequence determination and expression of the hyaluronate lyase gene. *FEMS Microbiol Lett*, 130, 81-85.
- **Ferry, T.** Toxines super-antigéniques et état de choc. *Sympo Staph* ; 2008.
- **Foster, T.J. 2005.** Immune evasion by *staphylococci*. *Nat Rev Microbiol*, 3(12), 948-58.

G

- **Gaudy, C., Buxeraud, J. 2005.** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique, ELSEVIER CAMPUS MEDECINE
- **Gharsa, H., Ben Sallem, R., Ben Slama, K., Gómez-Sanz, E., Lozano, C., Jouini, A., Klibi, N., Zarazaga, M., Boudabous, A., and Torres, C. 2012.** High diversity of genetic lineages and virulence genes in nasal *Staphylococcus aureus* isolates from donkeys destined to food consumption in Tunisia with predominance of the ruminant associated CC133 lineage. *BMC Vet. Res.* 8, 203.

- **Gómez, M.I., O'Seaghdha, M., Magargee, M., Foster, T.J., Prince, A.S. 2006.** *Staphylococcus aureus* protein A activates TNFR1 signaling through conserved IgG binding domains. *J Biol Chem*, 281(29) : 20190-6.
- **Goodyear, C.S., Silverman, G.J. 2003.** Death by a B cell superantigen : In vivo VHTargeted apoptotic supraclonal B cell deletion by a *Staphylococcal* Toxin. *J Exp Med*, 197(9) ,1125-39.
- **Gordon, R.J., Lowy F.D. 2008.** Pathogenesis of Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection.Clinical Infectious Diseases* ; 46 :S350-9.
- **Grace, D., Alexandra, F. 2018.** *Staphylococcus aureus*—Afoodborne Pathogen: Epidemiology, Detection, Characterization, Prevention, and Control: An Overview. In *staphylococcus aureus*. Elsevier, P3-10.
- **Guilfoile, P.G. 2007.** Antibiotic-resistant bacteria. Chelsea house.

H

- **Hart, M.E., Hart, M.J., Roop, A.J. 2009.**Genotypic and Phenotypic Assessment of Hyaluronidase among Type Strains of à select Group *staphylococcal* Species. *Int J Microbiol*, 2009,1-8.
- **Heininger, U., Datta, F., Gervaix, A., Schaad, U.B., Berger, C., Vaudaux, B., Aubi, C., Hitzler, M., Kind, C., Gnehm, H.E., Frei, R., PIGS/MRSA Study Group. 2007.** Prevalence of nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in children a multicenter crosssectional study. *Pediatr Infect Dis J*; 26:544-546.
- **Hermani, L., Dewulf, J. 2011.**Transmission de l'antibioresistance des animaux et de la production vers l'homme, Comité Scientifique de l'AFSCA.Agence federale pour la securité de la chaine alimentaire.
- **Hill, L.R. 1981.** Taxonomy of the *staphylococci*.Aberdeen University Press.
- **Holtfreter, S., Broker, B.M. 2005.** *Staphylococcal* superantigens: do they play a role in sepsis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 53(1), 13-27.
- **Hosein, A.S.M., Motamedifar, M., Hadi, N., Sedigh E.S.H. 2014.** Analysis of virulence genes among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strains, Jundishapur). *Journal of Microbiology*, 7(6), 10741.
- **Hsu, L.Y., Tristan, A., Koh, T.H. 2005.** Community associated methicillin- resistant *Staphylococcus aureus*, Singapore. *Emerg Infect Dis* ; 11 :341-342.
- **Hu, C., Xiong, N., Zhang, Y., Rayners, S., Chen,S. 2012.** Fonctional characterization of lipase in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun* ; 419 ; 617 ; 620 .doi :10.1016/j.bbrc.02.057.
- **Hu, D.L., Nakane, A. 2014.** Mechanisms of *staphylococcal* enterotoxin-induced emesis. *Eur J Pharmacol*, 722, 95 107.
- **Hu, Y., Meng, J., Shi, C., Hervin, K., Fratamico, PM., Shi, X.2013.**Characterization and comparative analysis of second thermonuclease from *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Res*, 167, 174-182.

J

- **Jean-Claud, B. 1973.** Les bactéries. Ed. Presses universitaires de France. Paris. P 94.

- **Jean-Louis, F et Jean-Loup, A. 2002.** Bactériologie générale et médicale. Ed. Ellipses Edition Marketing. Paris. P 214-216-217.
- **Jin, T., Bokarewa, M., Foster, T., Mitchell, J., Higgins, J., Tarkowski, A. 2004.** *Staphylococcus aureus* resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. J Immunol Baltim Md 1950. 172, 1169–76.
- **Jongerijs, I., Köhl, J., Pandey, M.K., Ruyken, M., van Kessel, K.P, van Strijp, J.A, Rooijackers, S.H. 2007.** *Staphylococcal* complement evasion by various convertaseblocking molecules. J Exp Med. 204(10): p. 2461-71.

K

- **Kabir, J., Umoh, V.J., Audu Okoh, E., Umoh, J.U., Kwaga, J.K.P. 2004.** Veterinary drug use in poultry farms and determination of antimicrobial drug residues in commercial eggs and slaughtered chicken in Kaduna State, Nigeria. Food Control, 15, 99-105.
- **Kamio, Y., Tomita, T., et Kaneko, J. 2002.** Pore-forming Cytolysins α - and γ - Hemolysins and Leukocidin from *Staphylococcus aureus*, in *Staphylococcus aureus* Infection and Disease, Kluwer Academic Publishers, New York.
- **Katayama, Y., Baba, T., Sekine, M., Fukuda, M., Hirmatsu, K. 2013.** Bêta-Hemolysine Promotes Skin Colonization by *Staphylococcus aureus* .J Bacteriol, 195.1 194-1203.doi :10.1128/JB.01786-12.
- **Kebaier, C., Chamberland, R.R., Allen, I.C., Gao, X., Broglie, P.M.,Hall, J.D. 2010.** *Staphylococcus aureus* α -hemolysin mediates virulence in a murine model of severe pneumonia through activation of the NLRP3 inflammasome. J Infection Dis, 205, 807-817.doi:10.1093/infdis/Jir 846.
- **Kraushaar, B., Ballhausen, B., Leeser, D., Tenhagen, B.A., Käsbohrer, A., Fetsch, A. 2016.** Antimicrobial resistances and virulence markers in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from broiler and turkey: A molecular view from farm to fork. Veterinary Microbiology.

L

- **Labandeira-Rey, M., Couzon, F., Boisset, E.L., Bes, M., Benito, Y., Barbou, E.M., Vazquez, V., Hook, M., Etienne, J., Vandenesch, F., Bowden, M.G. 2007.** *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. Science. 315(5815) : p. 1130-3.
- **Ladhani, S., Joannou, C.L., Locherie, D.P., Evans, R.M., Poston, S.W.1999.** Clinical, microbial, and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing *staphylococcal* scalded-skin syndrome. Clin Microbiol Rev, 1999.12(2) : p. 224-42.
- **Larouche, G. 2001.** Les quinolones : des années soixante à aujourd'hui. Pharmacothérapie théorique. Pharmacothérapie théorique. Pharmactuel.34(2) :40.
- **Le Loir, Y., Gautier, M. 2010.** Monographie de la microbiologie : *Staphylococcus aureus*. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- **Leclercq, R. 2002.** Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am 2002; 34; 482–92. Doi: 10.1086/324626.

- **Lefevre, A., Ruimy R., Andermont A. 2012.** Recherche des souches de *Staphylococcus aureus* et *pseudintermedius* Résistant à la Méricilline dans les muqueuses anale et nasale de chiens consultés dans les cabinets vétérinaires de Dakar (Sénégal). Thèse Doctorat en Medecine Vétérinaire. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar.
- **Llewelyn, M., Cohen, J. 2002.** Superantigens : microbial agents that corrupt immunity. *Lancet Infect Dis*, 2002. 2(3) : p. 156-62.
- **Locatelli, C., Cremonesi, P., Caprioli, A., Carfora, V., Lanzano, A., Barberio, A., Morandi, S., Casula, A., Castiglioni, B., Bronzo, V., Moroni, P. 2016.** Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cattle herds, related swine farms, and humans in contact with herds. *J. Dairy Sci.* 100:1-12.
- **Lozniewski, A., Rabaud, C. 2010.** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins .CCLIN Sud-Est.
- **Luong, T.T., Ouyang, S., Bush, K., Lee, C.Y. 2002.** Type 1 capsule genes of *Staphylococcus aureus* are carried in a *staphylococcal* cassette chromosome genetic element. *J Bacteriol*, 184(13): p.3623-3659.
- **Lyon B.R., Skurray. R. 1987.** Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus*: Genetic Basis. *Microbiol. Rev.* 51:88-134.
- **Leclerc, H., Gaillard, J.L., Simonet, M. 1995.** Microbiologie générale : La bacterie et le monde bactérien, DOIN, Paris, 517p.

M

- **Macias, E.S., Pereira, F.A., Rietkerk, W., Safai, B. 2011.** Superantigens in dermatology. *J Am Acad Dermatol*, 64(3), 455-72.
- **Madec, J.Y. 2013.** Résistance aux antibiotiques chez l'animal : quel risque pour l'Homme ? *J. Anti-Infect.* 15, 178-186.
- **Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. 2000.** In Brock biology of microorganism, prentice Hall Saddle River, NJ, USA. Ninth Edition, pp.
- **Menzies, B.E. 2003.** The role of fibronectin binding proteins in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infections. *Current Opinion Infectious Diseases*, 16 (3), 225-229.
- **Merino, N., Toledo-Arana, A., Vergara-Irigaray, M., Valle, J., Solano, C., Calvo, E., Lopez, J.A, Foster, T.J., Penadés, J.R., Lasa, I. 2009.** Protein A-mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 191(3) : p. 832-843. doi :10.1128/JB. 01222-08.
- **Michel-Briand, Y., Chabert, Y. 2009.** Une histoire de la résistance aux antibiotiques à propos de six bactéries. Paris : L'Harmattan ; 27-31 p.
- **Miles, G., Jayasinghe, L., Bayley, H. 2006.** Assembly of the Bi-component leukocidin pore examined by truncation mutagenesis. *J Biol Chem*, 281(4), 2205-14.
- **Miles, G., Movileanu, L., Bayley, H. 2002.** Subunit composition of a bicomponent toxin : *Staphylococcal* leukocidin forms an octameric transmembrane pore. *Protein Sci Publ Protein Soc* ; 11: 894-902.
- **Monnet, D.L., MacKenzie, F.M., López-Lozano, J.M., Beyaert, A., Camacho, M., Wilson, R. 2004.** Antimicrobial Drug Use and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Aberdeen, 1996-2000. *Emerg Infect Dis.* 10(8), 1432-1441.

- **Moroni, P., Pisoni, G., Antonni, M., Villa R., Boettcher, P., Carli, S. 2006.** Short communication: Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. *Journal of Dairy Science*, 89, 2973-2976.

N

- **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>.
- **Neela, V., Ghaznavi-Rad, E., Ghasemzadeh- Moghaddam, H., Nor Shamsudin, M., Belkum, A., Karunanidhi, A. 2013.** Frequency of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the noses of Malaysian chicken farmers, and their chicken. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, 14, 226-231.
- **Nemati, M., Hermans, K., Lipinska, U., Denis, O., Deplano, A., Struelens, M. 2008.** Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry : first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrob Agents Chemother*; 52(10); 3817-3819.
- **Nemeghaire, S., Sophie, R., Angeles, M., Haesebrouckand, F., Butaye, P. 2013.** Characterization of methicillin -resistant *Staphylococcus aureus* from health carrier chickens. *Avian Pathology* -vol. 4: 342-346.
- **Novick, R.P. 2003.** Mobile genetic elements and bacterial toxinoses: the superantigenencoding pathogenicity islands of *Staphylococcus aureus*. *Plasmid*, 49(2), 93-105.

O

- **Ogawara, H. 1981.** Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics. *Microbial. Rev.* 45(4), 591-619.
- **Ono, H.K., Omoe, K., Imanishi, K., Iwakabe, Y., Hu, D.L., Kato, H., Saito, N., Nakane, A., Uchiyama, T., Shinagawa, K. 2008.** Identification and characterization of two novel *staphylococcal* Enterotoxins, types S and T. *Infect Immun*, 76 (11): p. 4999-5005.

P

- **Pantosti, A. 2012.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Associated with Animals and Its Relevance to Human Health. *Front. Microbiol.* 3.
- **Peacock, S.J., Moore, C.E., Justice, A., Kantzanou, M., Story, L., Mackie, K. 2002.** Virulent combinations of Adhesin and Toxin Genes in Natural Population of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*.doi:10.1128/IAI. 70, 9, 4987-4996.
- **Peacock, S.J., Paterson, G.K. 2015.** Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Biochem.* 84, 577-601.
- **Périchon, B., Courvalin, P. 2009.** VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* ; 53:4580–7. doi:10.1128/AAC.00346-09.

- **Persoons, D., Van Hoorebeke, S., Hermans, K., Butaye, P., De Kruif, A., Haesebrouck, F., Dewulf, J. 2009.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry. *Emerg Infect Dis.* 15, 452-453.
- **Petersson, K., Petersson, H., Skartved, N.J., Walse, B., Forsberg, G. 2003.** *Staphylococcal* enterotoxin H induces V alpha-specific expansion of T cells. *J Immunol*, 170(8) : p. 4148-54.
- **Petinaki, E., Spiliopoulou, I. 2012.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food-chain animals: impact of human contacts. *Clin Microbiol Infect.* 18, 626-634.
- **Peton, V., Le Loir, Y. 2014.** *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. 21: 602-15. Doi : 10.1016/j.meegid.2013.08.011. Epub 2013 Aug 23.
- **Pöhlmann-Dietze, P., Ulrich, M., Kiser, K.B., Döring, G., Lee, J.C., Fournier, J.M., Botzenhart, K., Wolz, C. 2000.** Adherence of *Staphylococcus aureus* to endothelial cells: influence of capsular polysaccharide, global regulator agr, and bacterial growth phase. *Infect Immun*, 68(9) : p. 4865-4871.

R

- **Rad, J.S., Alfatemi, S.M.H., Rad, M.S., Iriti, M. 2015.** In vitro antioxidant and antibacterial activities of *Xanthium strumarium* L. extracts on methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ancient Science of Life*, 33, 107-11.
- **Ross Fitzgerald, J. 2012.** Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin, evolution and public health threat; 20(4):192-8. Doi: 10.1016/j.tim.2012.01.006. Epub 2012 Mar 1.

S

- **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.
- **Seidl, K., Bischoff, M., Berger-Bachi, B. 2008.** CcpA mediates the catabolite repression of *tst* in *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* ; 76:5093-5099.
- **Smith, A.J., Jackson, M.S., Bagg, J. 2001.** The ecology of *staphylococcus* species in the oral cavity. *Journal of Medecine of Microbiology*, 50, p940-946.
- **Stefani, S., Chung, D.R., Lindsay, J.A., Friedrich, A.W., Kearns, A.M., Westh, H., Mackenzie, FM. 2012.** Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *Int J Antimicrob Agents.* 39, 273-282. Doi: 101128/j.ijantimicag.2011.09.030.
- **Stephen, H., Gillespie, P.M. 2006.** Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2ème édition. Wiley Office England, pp. 586.
- **Suleiman, A., Zaria, L.T., Grema, H.A., Ahmadu, P. 2013.** Antimicrobial resistant coagulase positive *Staphylococcus aureus* from chickens in Maiduguri, Nigeria. *Suleiman /Sokoto Journal of Veterinary Sciences* (2013). 11(1): 51-55.

T

- **Tanner, A.C.** Antimicrobial drug use in poultry. In: **Prescott, J.F., Baggot, J.D., Walker, R.D.**, editors. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. Ames: Iowa State University Press; 2000, p. 637-655.
- **Tavares, A., Nielsen, J.B., Boye, K., Rohde, S., Poulo, A.C., Westh, H.** 2014. Insights into Alpha-Hemolysine (Hla) Evolution and Expression among *Staphylococcus aureus* Clones with Hospital and Community Origin. Zitzgerald, J.R. PLoS ONE .2014, 9: 98634. Doi: 10. 1371 / Journal, pone.0098634.
- **Thomas, D.Y., Jarraud, S., Lemercier, B., Cozon, G., Echasserieau, K., Etienne, J., Gougeon, M.L., Lina, G., Vandenesch, F.**2006. *Staphylococcal* enterotoxin-like toxins U2 and V, two new *staphylococcal* superantigens arising from recombination within the enterotoxin gene cluster. Infect Immun, 74(8) : p. 4724-34.

V

- **Vandenesch, F., Lina, G., Henry, T.** 2012. *Staphylococcus aureus* hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: a redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors? Front Cell Infect Microbiol ; 2,12.
- **Vincenot, F., Saleh, M., Prévost, G.** 2008. Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Revue francophone des laboratoires ; 407:61-69.
- **Vossenkuhl, B., Brandt, J., Fetsch, A., Käsbohrer, A., Kraushaar, B., Alt, K., Tenhagen, B. A.** 2014. Comparison of spa types, SCCmec types and antimicrobial resistance profiles of MRSA isolated from turkeys at farm, slaughter and from retail meat indicates transmission along the production chain. PLoS One 9, 96308.

W

- **Wang, J.L., Tang, H.J., Hsieh, P.H., Chiu, F.Y., Chen, Y.H., Chang, M.C.** 2012. Fusidic acid for the treatment of bone and joint infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents 40 ; 103–7. doi:10.1016/j.ijantimicag.2012.03.010.
- **Watts, A., Ke, D., Wang, Q., Pillay, A., Nicholson-Weller, A., Lee, J.C.** 2005. *Staphylococcus aureus* strains that express serotype 5 or serotype 8 capsular polysaccharides differ in virulence. Infect Immun, 73(6): p. 3502-11.
- **Wendlandt, S., Kadlec, K., Fessler, A.T., Mevius, D., Van Essen-Zandbergen, A., Hengeveld, P.D., Bosch, T., Schouls, L., Schwarz, S., Van Duijkeren, E.** 2013. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates on broiler farms. Vet. Microbiol .27; 167(3-4) 632-627.
- **White, D.G., Ayers, S., Maurer, J.J., Thayer, S.G., Hofacre, C.** 2003. Antimicrobial susceptibilities of *Staphylococcus aureus* isolated from commercial broilers in Northeastern Georgia. Avian Dis; 47: 203-210.
- **Wilk, G.A., Buberck Wardenburg, J.** 2010. Role of a disintegrin and metalloprotease 10 in *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin-mediated cellular injury. Proc Natl Acad Sci USA, 107, 13473-13478. doi :10.1073/pnas.1001815107.

- **Winston, L.G., Chambers, H.F. 2009.** Antimicrobial Resistance in *Staphylococci*: Mechanisms of Resistance and Clinical Implications. Mayers D.L. Antimicrobial Drug Resistance, Volume 2, Clinical and Epidemiological Aspects. Humana Press, New York. P: 735-748.
- **Wu, G., Abraham, T., Rapp, J., Vastey, F., Saad, N., Balmir, E. 2011.** Daptomycin: evaluation of a high-dose treatment strategy. *Int J Antimicrob Agents*; 38:192–6. doi:10.1016/j.ijantimicag.201103.006.

Annexes

Annexes 01 : Matériels utilisés

1-Matériels

- Bec bunsen
- Glacière
- Etuve microbiologique (Mettler, Allemagne)
- Vortex (VELP SCIENTIFICA, Italie)
- Autoclave (pbi international, Italie)
- Balance électronique (Denver Instrument, Etats unis)
- Spectrophotomètre (Medline, Grande Bretagne)
- Réfrigérateur (Maxipower, Algérie)
- Bain-Marie (Mettler, Allemagne)
- Seringue de 5 ml (Industries medico-chirurgicales, Algérie)
- Verrerie et outils : boîtes de Pétri, tubes à essai, pipettes Pasteur, cotons tiges stériles, tubes à hémolyse, anse à boucle, Micropipettes, embouts (0.1 et 1mL), spatules, béchers, cuves de spectrophotomètre, flacons en verre, pince bactériologique, écouvillons.

1-1-Matériels biologiques

Souches de référence utilisées : *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* MU50.

2-Milieus de culture et réactifs

- Gélose Baird Parker (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose à ADN (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose Muller-Hinton (Conda Pronadisa, Espagne)
- Milieu TSYEA (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose Chapman (Conda Pronadisa, Espagne)
- Bouillon Chapman (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose BHI (Conda Pronadisa, Espagne)
- Bouillon BHIB (Conda Pronadisa, Espagne)
- Tellurite de potassium (Institut Pasteur d'Alger)
- Emulsion de jaune d'œuf
- Bouillon Clark et Lubs

-Agar bactériologique (Conda Pronadisa, Espagne)

-Plasma humain

-Voges Proskauer I (VPI : NaOH à 16%) et II (VPII : α Naphtol 6%)
(Institut Pasteur d'Alger)

-Glycérol (Biochem Chemopharma, France)

-Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

-Eau physiologique stérile

-Eau distillée stérile

- Disques d'antibiotique (Liofilchem, Italy)

La composition et la préparation des milieux de culture sont détaillées dans l'annexe 01.

Annexes 02 : Milieux de culture utilisés et leur composition**❖ Gélose de Baird-Parker**

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

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

• Préparation de l'émulsion de jaune d'œuf

Utiliser des œufs frais de poule dont la coquille est intacte.

Nettoyer les œufs avec une brosse et un détergent liquide, puis rincer à l'eau courante.

Désinfecter l'œuf en le plongeant dans une solution d'éthanol à 70% pendant 30s, puis 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

❖ Gélose BHI (Brain Heart Infusion)

Composition en g/l

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

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

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

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

❖ Milieu TSYEA (Trypton Soja Yeast Extract Agar)

Composition en g/l

Tryptone.....	17.0
Chlorure de sodium.....	5.0
Peptone de soja.....	3.0
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

Composition en g/l

Peptone de viande.....	20
Acide désoxyribonucléique.....	02
Chlorure de sodium.....	05
Agar.....	18

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

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

❖ Milieu Mueller Hinton

Composition en g/l

Amidon.....	1.5
Infusion de bœuf.....	2.0
Agar bactériologique.....	17.0
Peptone de caséine acide.....	17.5

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

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

Annexes 03 : Résultats des tests biochimiques sur l'ensemble des colonies caractéristiques

	Catalase	Coagulase	DNase	VP	Code
C1PcB06	(+)	(+)	(+)	(+)	S262
C1PcB09	(+)	(+)	(+)	(+)	S259
C1PcB16	(+)	(+)	(+)	(+)	S264
C1PcB17	(+)	(-)	(-)	NT	/
C1PcB19	(+)	(+)	(+)	(+)	S279
C2PcB19	(+)	(+)	(+)	(+)	S265
C1PcB20	(+)	(+)	(+)	(+)	S281
C1(2) PcB20	(+)	(+)	(+)	(+)	S276
C1PcB21	(+)	(-)	(-)	NT	/
C1PcB29	(-)	(-)	(-)	NT	/
C1PcB32	(+)	(+)	(+)	(+)	S256
C1PcB33	(+)	(+)	(+)	(+)	S258
C1PcB37	(+)	(+)	(+)	(+)	S257
C1PcB39	(+)	(-)	(-)	NT	/
C1PcB40	(+)	(+)	(+)	(+)	S260
C2PcB40	(+)	(+)	(+)	(+)	S261
C1PcB42	(+)	(-)	(-)	NT	/
C1PcB43	(+)	(+)	(+)	(+)	S280
C2PcB43	(+)	(+)	(+)	(+)	S278
C1(1) PcB47	(+)	(+)	(+)	(+)	S277
C1(2) PcB47	(+)	(-)	(-)	(-)	/
C1(2) PcB47	(+)	(-)	(-)	(+)	/
C1PcB48	(+)	(+)	(+)	(+)	S263
C1PcB56	(+)	(-)	(-)	NT	/
C1PcB58	(+)	(+)	(+)	(+)	S282
PcA69	(+)	NT	(-)	NT	/
PcA71	(+)	NT	(-)	NT	/
PcA72	(+)	NT	(-)	NT	/
PcA73	(+)	NT	(-)	NT	/
PcA74	(+)	NT	(-)	NT	/
PcA75	(+)	(-)	(-)	(-)	/
PcA77	(+)	(-)	(-)	(-)	/
PcA82	(+)	NT	(-)	NT	/
DT94	(+)	(-)	(-)	(-)	/
DT96	(+)	(-)	(-)	(-)	/
C1DA128	(+)	(-)	(-)	(-)	/
DA103	(+)	(-)	(+)	(-)	/
DA118	(+)	(-)	(+)	(-)	/
PcM136	(+)	(-)	(+)	NT	/

Suite de l'annexe 03 :

C1PcM144	(+)	(+)	(+)	(+)	S305
C2PcM144	(+)	(+)	(+)	(+)	S328
PcM147	(+)	NT	(-)	NT	/
PcW154	(+)	(+)	(+)	(+)	S324
C1PcW166	(+)	(+)	(+)	(+)	S307
C2PcW166	(+)	(+)	(+)	(+)	S306
PcO172	(+)	NT	(-)	NT	/
C1PcO174	(+)	(+)	(+)	(+)	S308
C2PcO174	(+)	(-)	(+)	NT	/
PcO178	(+)	(-)	(-)	NT	/
C1PcO179	(+)	(+)	(+)	(+)	S323
C2PcO179	(+)	(-)	(+)	NT	/
PcO181	(+)	(+)	(+)	(+)	S327
PcO183	(+)	NT	(-)	NT	/
PcO184	(+)	(-)	(+)	NT	/
C1PcO185	(+)	(+)	(+)	(+)	S326
C2PcO185	(+)	(+)	(+)	(+)	S325
PcO188	(+)	NT	(-)	NT	/
PcT192	(+)	(-)	(-)	NT	/
PcT193	(+)	(+)	(+)	(+)	S405
C1PcT196	(+)	(+)	(+)	(+)	S407
C2PcT196	(+)	(+)	(+)	(+)	S400
C3PcT196	(+)	(+)	(+)	(+)	S404
C1PcT197	(+)	(-)	(+)	(-)	/
C2PcT197	(+)	(-)	(+)	(+)	/
C1PcT198	(+)	(+)	(+)	(+)	S408
C2PcT198	(+)	(+)	(+)	(+)	S402
C3PcT198	(+)	(+)	(+)	(+)	S401
PcT201	(+)	(-)	NT	NT	/
PcT205	(+)	(-)	(-)	NT	/
Pc T206	(+)	(-)	(+)	(+)	/
C1PcT206	(+)	(+)	(+)	(-)	S403
C2PcT206	(+)	(-)	(+)	(+)	/
PcT207	(+)	(-)	(-)	NT	/
PcT208	(+)	(-)	(-)	NT	/

(+), test positif ; (-), test négatif ; **NT**, non testé

C, colonie ; **PC**, poulet de chair ; **B**, Boumerdes ; **PcA**, Ait oumalou ; **DT**, dinde Tadjenante ; **DA**, dinde Azefoun ; **O**, Ouadia ; **W**, Ouaguenoun ; **M**, Mekla ; **PcT**, Tigzirt

Annexes 04 : Valeurs des diamètres de zone d'inhibition selon le CLSI et la CASFM.

Famille	Antibiotique	Diamètre critique			Références
		Sensible	Intermédiaire	Résistant	
β-lactamines	Pénicilline G	≥ 26	-	< 26	CASFM 2019
	Céfoxitine	≥ 22	-	< 22	CASFM 2019
Aminoglycoside	Gentamycine	≥ 15	13-14	≤ 12	CLSI 2018
	Néomycine	≥ 17	-	< 15	CASFM 2018
Macrolides	Erythromycine	≥ 21	-	< 18	CLSI 2018
Tétracyclines	Tétracycline	≥ 19	15-18	≤ 14	CLSI 2018
Quinolones	Ofloxacine	≥ 18	15-17	≤ 14	CLSI 2018
Phénicol	Chloramphénicol	≥ 18	13-17	≤ 12	CLSI 2018
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	≥ 16	11-15	≤ 10	CLSI 2018

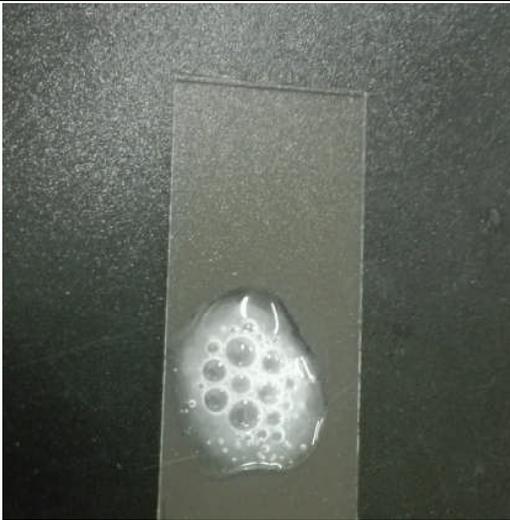
Annexe 05 : Résultats détaillés de l'antibiogramme pour chaque souche de *S. aureus* isolée

Souches	P	FOX	TE	C	SXT	E	CN	N	OFX
C₁PcB32-S256	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB37-S257	R	S	R	S	S	R	S	S	I
C₁PcB33-S258	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB09-S259	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB40-S260	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₂PcB40-S261	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB06-S262	S	S	S	S	R	R	S	S	S
C₁PcB48-S263	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB16-S264	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₂PcB19-S265	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁(2) PcB20-S276	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB47-S277	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₂PcB43-S278	R	S	R	S	S	R	S	S	R
C₁PcB19-S279	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB43-S280	R	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB20-S281	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcB58-S282	S	S	R	S	S	R	S	S	S
C₁PcM144-S305	R	S	R	S	S	R	S	S	R
C₂PcW166-S306	R	S	S	S	S	S	S	S	S
C₁PcW166-S307	R	S	S	S	S	S	S	S	S
C₁PcO174-S308	R	R	R	S	I	R	S	S	R
C₁PcO179-S323	R	S	R	S	S	S	S	S	R
PcW154-S324	R	S	R	S	S	S	S	S	R
C₂PcO185-S325	R	S	R	S	S	S	S	S	R
C₁PcO185-S326	R	R	R	S	S	S	S	S	R
PcO181-327	R	S	R	S	R	R	S	S	R
C₂PcM144-S328	R	S	R	S	S	S	S	S	R
C₂PcT136-S400	R	R	R	R	S	R	S	S	S
C₃PcT138-S401	R	R	R	R	S	R	S	S	S
C₂PcT138-S402	R	R	R	R	S	R	S	S	S
C₁PcT146-S403	R	S	R	S	S	S	S	S	S
C₃PcT136-S404	R	R	R	R	S	R	S	S	S
PcT133-S405	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C1PcT136-S407	R	R	R	R	S	R	S	S	S
C1PcT138-S408	R	R	R	R	S	R	S	S	S

Annexe 06 : Valeurs des diamètres d'inhibition des souches de *S. aureus* isolées

Souches	P	FOX	TE	C	SXT	E	CN	N	OFX
C₁PcB32-S256	28	23	11	24	26	06	21	20	26
C₁PcB37-S257	10	25	11	31	30	06	24	19	17
C₁PcB33-S258	32	27	10	23	26	06	20	19	25
C₁PcB09-S259	29	25	11	27	27	06	20	19	25
C₁PcB40-S260	29	24	10	25	26	06	19	18	30
C₂PcB40-S261	32	26	11	26	25	06	21	19	28
C₁PcB06-S262	35	28	26	26	06	06	26	22	23
C₁PcB48-S263	30	23	10	23	25	06	21	19	26
C₁PcB16-S264	30	26	12	25	26	06	21	19	23
C₂PcB19-S265	30	25	10	26	29	06	22	20	26
C₁(2) PcB20-S276	31	26	11	26	22	06	20	18	26
C₁PcB47-S277	32	29	12	26	28	06	22	21	27
C₂PcB43-S278	09	26	10	26	28	06	19	18	10
C₁PcB19-S279	32	27	11	24	25	06	20	18	29
C₁PcB43-S280	19	24	10	25	27	06	20	19	30
C₁PcB20-S281	30	25	10	22	25	06	20	17	27
C₁PcB58-S282	35	28	12	27	27	06	22	20	24
C₁PcM144-S305	11	23	10	24	21	06	24	17	08
C₂PcW166-S306	11	23	27	28	27	23	20	22	25
C₁PcW166-S307	11	23	31	24	30	24	19	18	26
C₁PcO174-S308	11	21	10	24	11	06	25	18	06
C₁PcO179-S323	09	29	10	24	27	25	23	22	08
PcW154-S324	11	27	09	24	25	25	18	27	09
C₂PcO185-S325	08	27	10	29	23	26	18	17	09
C₁PcO185-S326	11	21	10	23	30	26	22	22	09
PcO181-327	20	29	09	27	06	06	23	20	06
C₂PcM144-S328	12	24	11	24	26	25	19	18	08
C₂PcT136-S400	15	19	11	08	26	06	21	20	26
C₃PcT138-S401	12	18	11	08	27	06	22	22	26
C₂PcT138-S402	13	18	11	08	25	06	20	20	21
C₁PcT146-S403	23	29	11	30	20	32	25	18	23
C₃PcT136-S404	15	21	12	08	27	06	20	18	28
PcT133-S405	40	30	30	31	22	30	25	23	30
C₁PcT136-S407	14	18	11	08	25	06	17	19	24
C₁PcT138-S408	14	21	13	07	26	06	22	19	29

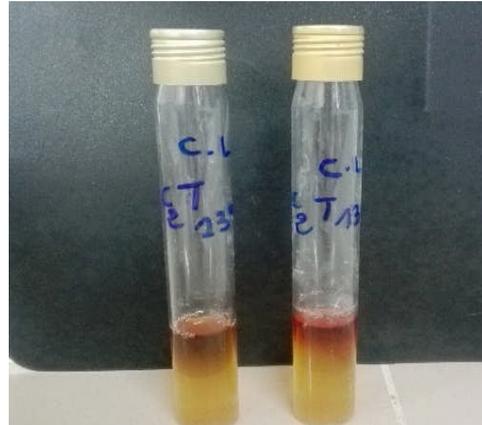
Annexe 07 : Tests biochimiques utilisés pour l'identification de *S. aureus*

	
<p>Virage du bouillon Chapman</p>	<p>Colonies caractéristiques de <i>S. aureus</i> sur milieu Baird Parker</p>
	
<p>Colonies de <i>S. aureus</i> sur milieu BHI</p>	<p>Colonies de <i>S. aureus</i> sur milieu TSYEA</p>
	
<p>Test de la catalase</p>	<p>Test de l'ADNase</p>

Suite de l'annexe 07 :



Test de la coagulase



Test de Vogs Proskower