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 Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Prévalence et antibiorésistance de souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de produits alimentaires dans la ville de Tizi-Ouzou

Présenté par :

- *Hanane BELKACEMI*
- *Razika ARAB*

Soutenu le 04/07/2018 devant le jury :

- Président : *Melle MEGUENNI. N.,* MCB à l'UMMTO
- Encadreur : *Mr TITOUCHE. Y.,* MAA à l'UMMTO
- Examinateur : *Mr SEBBANE. H.,* MAA à l'UMMTO
- Examinatrice : *Melle DERMECHE, S.,* MAA à l'UMMTO

Promotion : 2017/2018

Remerciements

Nous tenons à remercier notre encadreur Mr TITOUCHE Y. de nous avoir orienté, soutenu et accompagné durant notre parcours, nous le remercions également pour toute aide et conseils.

Melle MEGUENNI N., d'avoir accepté de présider le jury.

Mr SEBBANE H. et Melle DERMECHE S. d'avoir accepté d'être examinateurs dans notre jury.

Mme ALI AHMED de nous avoir aidé dans notre travail, et à toute personne qui nous ont aidé de près ou de loin.

Dédicaces

DIEU merci,

Je dédie ce modeste travail à mon cher papa SAID et ma chère maman ZOHRA pour leur aide et leur soutien tout au long de mes études.

A ma grand-mère YAMINA

A la mémoire de ma grand-mère DEHBIA

A mon très cher ami NADIR

A mes chères sœurs DALILA, LILA, NAIMA, RYMA et DONNA

A mon binôme et amie HANANE

A mes camarades avec lesquelles j'ai partagé mes meilleurs moments : YOUSRA, LYDIA, NAIMA, REBIHA, FATIMA, DEHBIA et SIHEM

RAZIKA

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
Merci papa

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
Merci maman

A mes frères : Salim et Hachimi

A mon cher cousin Mr FETHI Mokrane

A la mémoire de mes grands parents

A mon binôme Razika

A mes amies avec lesquelles j'ai partagé mes meilleurs moments :

Dehvia, Radia, Lwiza, Sihem, Sabrina, Yasmine, Mohcine, Mahmoud et MOUMOUH

Aux membres du laboratoire Dr. SAID KHELLIL

HANANE

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie bibliographique 3

Chapitre I : Généralités 3

1. Historique 3

2. Taxonomie 3

3.1. Habitat 4

3.2. Epidémiologie 5

4. Caractères bactériologiques 5

4.1. Caractères morphologiques 5

4.2. Caractères culturaux 6

4.3. Caractères biochimiques 7

Chapitre II : Facteurs de virulence 8

1. Les composants de la paroi 8

1.1. Peptidoglycane 8

1.2. Acide teïchoique 8

1.3. Capsule 8

2. Les protéines de surface 9

2.1. MSCRAMMs 9

2.2. Protéine A 9

2.3. SERAM 9

3. Les toxines et les enzymes 10

3.1. Les toxines 10

3.1.1. Alpha-hémolysine 10

3.1.2. Bêta-hémolysine 10

3.1.3. Gamma-hémolysine 10

3.1.4. Delta-hémolysine 11

3.1.5. Leucocidine de Panton Valentine 11

3.1.6. Exfoliatine 11
3.1.7. Entérotoxines Staphylococciques 11
3.1.8. Toxine du syndrome de choc toxique 14
3.2. Les enzymes 14
3.2.1. Coagulase libre 14
3.2.2. Lipase 15
3.2.3. Phosphatase 15
3.2.4. Hyaluronidase 15
3.2.5. Nucléase 15
3.2.6. Protéolysine 15
3.2.7. Lysozyme 15
3.2.8. Staphylokinase 15
4. Physiopathologie 16
5. Pouvoir pathogène 16
6. Traitement et prophylaxie 18
Chapitre III : Résistance aux antibiotiques 20
1. Historique 20
2. Définition 20
3. Classification 20
4. Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action 21
5. Mode d'action des antibiotiques et mécanismes de résistance chez *S. aureus* 22
5.1. Résistance aux β-lactamines 22
5.2. Résistance aux Glycopeptides 23
5.3. Résistance aux Aminosides 24
5.4. Résistance aux Quinolones 25
5.5. Résistance aux Macrolides, Lincosamides et Streptogramines 26
5.6. Autres résistances 27
Partie expérimentale 29
Chapitre I : Matériel et méthodes 29
1. Matériel 29
2. Méthodes 30
2.1. Durée et lieu d'étude 30
2.2. Nature et nombre des échantillons 30
2.3. Préparation de suspensions mères 31

2.4. Ensemencement sur milieu sélectif 31
2.5. Etude microscopique 32
2.6. Identification biochimique 32
2.7.Antibiogramme standard par méthode de disque 34
2.8. Conservation des souches 37
2.9. Analyse statistique 37
Chapitre II : Résultats et Discussion 39
Conclusion 52
Références bibliographiques
Annexes

Liste des abréviations

ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
BHIB	Brain Heart Infusion Broth
BP	Baird Parker
CASFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPA	Cellule Présentatrice d'Antigène
DHF	Acide Dihydrofolique
DHPS	Dihydroptéroate Synthétase
EPA	Extracellular Adhesion Protein
FAME	Fatty Acid Modifying Enzym
GISA	Glycopeptid Intermediate *Staphylococcus aureus*
HCL	Acide Chlorohydrique
ISO	International Orgnization of Standardization
MSCRAMM	Microbial Surface Componenets Recognizing Adhesive Matrix Molecules
MLS	Macrolides, Lincosamides, Streptogramines
MH	Muller Hinton
NR	Nitrate Réductase
PLP	Proteines Liants la Pénicilline
PAB	Para-Amino Benzoique
SARM	*Staphylococcus aureus* Résistant à la Méticilline
SASM	*Staphylococcus aureus* Sensible à la Méticilline
SCP	Staphylocoques Coagulase Positive
SCN	Staphylocoques Coagulase négative
SERAM	Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules
SE	Staphylococcal Enterotoxin
TCR	Cellule T Réceptrice d'antigène
TSST	Toxic Shock Syndrom Toxin
TSYEA	Trypton Soja Yeast Extract Agar
TIA	Toxi-Infection Alimentaire
VP	Voges Proskauer
LPV	Leukocidin Panton Valentine
VRSA	Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus*
VISA	Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus

Liste des figures

Figure 1 *Staphylococcus aureus* avec coloration de Gram (Gx1000) 6

Figure 2 Colonies caractéristiques de *S. aureus* sur milieu Baird Parker 6

Figure 3 Mécanisme d'action de l'entérotoxine staphylococcique 14

Figure 4 Un diagramme du corps montrant les deux sites communs d'infection de et de maladie à *S. aureus* 18

Figure 5 Résistance aux β-lactamines 23

Figure 6 Résistance aux Glycopeptides chez *S. aureus* 24

Figure 7 Résistance aux Quinolones par modification de cible 26

Figure 8 Mécanisme de résistance lié au mode d'action de l'antibiotique..... 28

Figure 9 Screening à l'Oxacilline..... 36

Figure 10 Schéma récapitulatif de la recherche de *S. aureus* dans les aliments 38

Figure 11 Aspect des colonies de *S. aureus* sur Baird Parker..... 39

Figure 12 Profil de résistance d'une souche SARM (souche alimentaire) 45

Figure 13 Profil de résistance d'une souche SASM (souche alimentaire) 45

Figure 14 Test de screening de *S. aureus*..... 46

Figure 15 Profil de résistance d'une souche SARM (souche hospitalière) 49

Liste des tableaux

Tableau I Différenciation des espèces et sous espèces de Staphylocoques à coagulase positive et/ou à clumping factor positif 7

Tableau II Caractéristiques des entérotoxines staphylococciques 13

Tableau III Liste des molécules d'antibiotiques testés 35

Tableau IV Prévalence de *S. aureus* dans les aliments 40

Tableau V Résistance des ouches de *S. aureus* vis-à-vis des antibiotiques testés 42

Tableau VI Phénotypes de résistance des souches de *S. aureus* isolées 47

Tableau VII Prévalence des souches hospitalières de *S. aureus* selon leur origine..... 48

Tableau VIII Résistance des souches hospitalières de *S. aureus* aux antibiotiques testés 48

Tableau IX Phénotypes de résistance des souches hospitalières de *S. aureus* isolées..... 50

Tableau X Phénotype global de multirésistance des souches de *S. aureus* 50

Résumé

L'objectif principal de cette étude est d'estimer la prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* dans divers produits alimentaires, d'évaluer par la suite leur profil de résistance vis-à-vis quelques molécules d'antibiotiques, afin de le comparer à celui des souches d'origine hospitalières.

Pour cela, 140 échantillons renfermant plusieurs types de produits alimentaires (viande hachée, pâtisseries, sandwichs,…..) ont été collectés à travers plusieurs points de vente de la wilaya de Tizi-Ouzou. L'isolement de *S. aureus* a été effectué sur gélose Baird Parker et l'identification des isolats a été réalisée par les tests biochimiques … Quant au profil de résistance, il a été étudié par la technique standard de diffusion sur gélose.

La prévalence total de *S. aureus* était faible (7.85%). Néanmoins, 50 souches caractéristiques étaient isolées, parmi lesquelles 34 ont été identifiées comme étant de *S. aureus*. Une forte résistance à la pénicilline a été observée pour l'ensemble des souches alimentaires et hospitalières. Quatre souches SARM ont été isolées, ce qui fait une prévalence de 11.76% sur l'ensemble des souches isolées.

La prévalence et la remontée de la résistance de *S. aureus* d'origine alimentaire constitue un problème de santé publique. Pour cela, la mise d'une stratégie efficace est nécessaire pour garantir la sécurité microbiologique des aliments.

Mots clés : *S. aureus*, produits alimentaires, résistance aux antibiotiques, prévalence.

Summary

The main objective of this study is to estimate the prevalence of *Staphylococcus aureus* strains in various food products, then evaluate their resistance profile to some molecules of antibiotics, in order to compare it to that of strains of hospital origin.

For this, 140 samples containing several types of food products (minced meat, pastries, sandwiches…) were collected through several points of sale in the town of Tizi-Ouzou. The isolation of *S. aureus* was carried out on Baird Parker agar and the identification of the isolates was performed by biochemical tests. As for the resistance profile, it was studied by the standard agar diffusion technique.

The total prevalence of *S. aureus* was low (7.85%). But, 50 characteristic strains were isolated, of which 34 were identified as *S. aureus*. High resistance to penicillin was observed

for all food and hospital strains. Four strains of MRSA were isolated, giving a prevalence of 11.76% for all isolated strains.

The prevalence and the rise of foodborne *S. aureus* resistance is a public health problem. For this, the implementation of an effective strategy is necessary to ensure the microbiological safety of food.

Key words: *S. aureus*, food products, antibiotic resistance, prevalence.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

Les aliments ne peuvent jamais être indemnes de microorganismes. En effet, la sécurité alimentaire est toujours menacée par de nombreux agents pathogènes responsables d'une variété de maladies (BELENEVA, 2011).

Les intoxications alimentaires sont considérées comme l'une des principales causes de maladies d'origine alimentaire. Elles ont un impact majeur sur la santé public dans le monde entier. Parmi les bactéries les plus impliquées dans ces maladies, *Staphylococcus aureus* qui est reconnu comme un agent polyvalent à l'homme et à l'animal. Il est responsable d'une variété importante de maladies, allant de simples (furoncle) à de graves infections (syndrome du choc toxique) (MC COMICK *et al.*, 2001 ; LE LOIR *et al.*, 2003).

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 des agents antimicrobiens a mené vers l'émergence de souches multi-résistantes, un problème de grande ampleur notamment pour les pays développés (HOSEIN *et al.*, 2014 ; RAD *et al.*, 2015).

Les infections Staphylococciques sont observées dans de multiples situations cliniques, aussi bien en pathologie communautaire qu'en pathologie nosocomiale. Globalement, le staphylocoque est le germe le plus souvent incriminé dans les infections nosocomiales (15.7%) (BRUN-BUISSON et BRUCKER, 2013).

Staphylococcus aureus est le pathogène étiologique le plus commun de la mammite bovine. Les souches résistantes rendent la maladie difficile à guérir (SREDNIK *et al.*, 2018)

Dès l'introduction de la pénicilline G en thérapeutique, il a été signalé que des staphylocoques sont capables de détruire cet antibiotique par production de pénicillinase. En effet, plus de 90% de souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline G et à l'ampicilline. La proportion des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la Méticilline (SARM) atteint 40% dans de nombreux hôpitaux français, particulièrement dans certains secteurs : chirurgie, réanimation, service de brulés, oncologie, soin de suites, longs séjours (PILLY, 2008).

Le phénomène de résistance survient dans tous les pays du monde. En Europe, il existe un véritable gradient nord-sud avec des taux plus faibles dans les pays du nord. La propagation de *Staphylococcus aureus* résistant à la Méticilline varie, par exemple, de moins de 1% en Norvège à plus de 25% en Espagne (INSERM, 2015)

En Algérie, cette surveillance n'est pas encore structurée autour d'un programme national. Au niveau de l'établissement Hospitalier et Universitaire d'Oran, le système de surveillance des infections nosocomiales aux bactéries multi-résistantes est basé sur les données du laboratoire de microbiologie et repose exclusivement sur le mode de surveillance passive. La proportion des souches résistantes au sein de l'espèce est le principal indicateur mesuré (PARKER *et al.,* 2008 ; MA MY *et al.,* 2013).

Chez la volaille, des travaux ont eu lieu en 2008 et en 2009 en Belgique, faisant décrire des cas de présence de SARM (CUNY *et al.,* 2010). Chez le porc, des cas de circulation du clone ST398 a été rapporté aussi bien au niveau des élevages, mais aussi chez les éleveurs en contact avec ces animaux (LEFEVRE *et al.,* 2012).

Une telle situation nous a convaincu à étudier l'état actuel de ce microorganisme, étant donné qu'en Algérie, peu de publications sont réalisées sur ce sujet, notamment dans le domaine alimentaire. Dans ce contexte notre travail a été réalisé afin d'évaluer et d'apprécier la salubrité et la qualité de divers produits. L'objectif de notre étude est :

- Isoler et identifier des souches de *S. aureus* dans divers produits alimentaires prêts à manger, viande hachée, pâtisseries et le lait acidifié. Provenant de divers Fast Food, pizzeria, boucheries, les pâtisseries, les cafétérias et crémeries de la ville de Tizi-Ouzou ;
- Déterminer la prévalence de ce germe dans les différents produits analysés ;
- Evaluer la sensibilité des souches de *S. aureus* vis-à-vis de certaines familles d'antibiotiques ;
- Comparer le profil de résistance de ces souches alimentaires aux souches de *S. aureus* provenant du milieu hospitalier.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités

1. Historique

Les premières descriptions des Staphylocoques (bactérie en forme de coque) isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871, mais ce n'est que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, ROBERT KOCK en Allemagne et LOUIS PASTEUR en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (FASQUELLE, 1974).

Plus tard, en 1883 OGSTON crée le nom « Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irrégulier à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). OGSTON différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* (SPICER, 2003 ; BERCHE *et al.*, 1988 ; STEPHEN *et al.*, 2006).

En 1884, en Allemagne ROSENBACH donne la première description du germe *Staphylococcus* en obtenant des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide. Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies (blanches ou dorées) (AVRIL *et al.*, 2000).

En 1885, ZOPF a placé les staphylocoques et les micrococques dans le genre *Micrococcus* séparé par la suite par FLUGGE *et al.*, (1995) qui classent les cocci anaérobies facultatifs et aérobies dans le genre *Staphylococcus* et *Micrococcus*, respectivement. Cette classification est basée sur leur action vis-à-vis de la gélatine et le test d'oxydation-fermentation du glucose. Une nette distinction basée sur la composition de l'ADN entre les deux genres a été proposée par SILVESTRI et HILLEN (1965). Le pourcentage en base G+C des micrococques est de 63-73%, comparé à celui des staphylocoques qui est de 30-39% indiquant qu'il n'existe pas de relation entre ces deux genres (STEPHEN *et al.*, 2006).

Plus tard, vers les années **1970** il y a eu apparition de *S. aureus* résistant à la Méticilline (SARM) qui est la première cause d'infection nosocomiale. Actuellement, de nouveaux SARM sont responsables aux Etats Unis d'une épidémie d'infection bactérienne ont été apparus (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

2. Taxonomie

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*

Staphylococcus est phylogénétiquement proche du genre *Enterococcus*, 35 espèces dont certaines sont subdivisées en sous espèces sont actuellement décrites dans le genre *Staphylococcus*. L'espèce de *S. aureus* a été subdivisée en deux sous espèces *S. aureus Subsp.aureus* et *S. aureus Subsp.anaerobius*. Cette dernière est peu connue, en conséquence, seule *S. aureus* est traité dans pas mal de travaux (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

Les espèces du genre *Staphylococcus* sont classées en deux groupes selon qu'elles produisent ou non une coagulase libre active sur le plasma oxalaté de lapin.

- Les *Staphylocoques* à coagulase positive (SCP) renferment les espèces suivantes : *S. aureus, S. intermedius, S. hyiucus.*
- Les *Staphylocoques* à coagulase négative (SCN) : ce groupe comprend quelques espèces d'origine humaine différenciables par leur biotype et sérotype *: S.epidermidis, S.saprophyticus, S. cohnii, S. xylosus, S. haemolyticus, S. hominis, S. warneri, S. capitis,* et *S. simulans* (LE LOIR et GAUTIER, 2010)

3.1. Habitat

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif, ubiquitaire, résiste aux mécanismes d'épurations et génère des mutations viables ; elle s'est cependant adaptée à divers niches écologiques et des biotypes ont été décrits chez les différentes espèces animales. C'est un germe pathogène difficile à éliminer du fait qu'il est un habitant presque commensal, il colonise la surface et les glandes de la peau, ainsi que les muqueuses de ses hôtes. Chez l'homme, il est principalement présent au niveau du tractus respiratoire supérieur, en particulier, dans les fausses nasales, au niveau du cuir chevelu et des mains. Egalement présent chez les

animaux à sang chaud (réservoir principal), dans l'air, l'eau et le sol (réservoir secondaire) (WATSON *et al.,* 2006).

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) (AMIR *et al.,* 2006), 24 à 36 % au niveau de la bouche (SMITH *et al.,* 2001), 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 (WILLIAMS, 1963).

3.2. Epidémiologie

Ubiquitaire, les Staphylocoques sont présents sur de nombreux sites. Ils sont capables de vivre :

- En saprophytes dans l'environnement extérieur.
- En commensaux sur les épithéliums de l'homme et des animaux.

S. aureus (ou staphylocoque doré) est retrouvé chez 15 à 30 % des individus sains au niveau des fosses nasales et de la gorge, il est également présent (en faible quantité) dans le tube digestif et le périnée. A partir du rhinopharynx, la bactérie est disséminée sur la peau (mains et visage) par aérosols et est souvent présente sur les vêtements et dans les squames (qui font partie de la poussière de tout local habité). Comme les staphylocoques résistent bien à la dessiccation, la transmission peut être non seulement directe (surtout par les mains du personnel soignant dans les hôpitaux), mais aussi indirecte par les objets et poussières. *S. aureus* est la première cause d'infection bactérienne à travers le monde (WEEMS, 2001).

L'incidence annuelle des infections invasives à *S. aureus* est de 28 cas pour 100 000 habitants en Amérique du Nord (LAUPLAND et CONLY, 2003). *S. aureus* est impliqué dans 19 à 25 % des bactériémies, 20 à 25 % des pneumonies, 32 à 44 % des infections cutanées et des tissus mous (DIEKEMA *et al.,* 2001).

S. aureus est la première cause de pneumopathies nosocomiales et d'infections postopératoires (35%), presque les deux tiers sont en chirurgie cardiaque et orthopédique et la deuxième cause de bactériémie nosocomiale (EMORI et GAYNES, 1993).

4. Caractères bactériologiques

4.1. Caractères morphologiques

A l'examen microscopique, *S. aureus* se présente sous l'aspect de coques immobiles. Il est regroupé en amas formant des grappes de raisin. C'est des cocci mesurant de 0.8 à 1 µm de

diamètre, non sporulés. *S.aureus* est isolé en diplocoque ou en très courte chainette (3 à 5 éléments) (LE LOIR et GAUTIER, 2010). Après une coloration de Gram, ils se révèlent être des cocci Gram positif. La majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture (ROBERT, 2013).

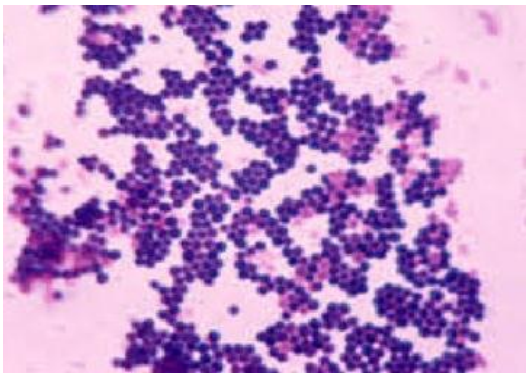

Figure 1 : *Staphylococcus aureus* avec coloration de Gram au grossissement 10x100. (Fernandez et Turner, 2017)

4.2. Caractères culturaux

S. aureus est facilement cultivable sur milieux ordinaires, il a donc une bonne croissance sur milieux usuels à 37 °C pendant 18 à 24h dans un bouillon hypersalé à 7% à ph = 7,2. Il est thermosensible du fait qu'il est ralenti par le froid et tué par des températures élevées (détruit à 58°C pendant 60 minutes). Sur milieu solide, les colonies de *S.aureus* sont lisses, rondes, opaques, colorées en jaune doré ou blanches, leur diamètre est compris entre 1 et 3mm. Sur milieu liquide, il présente un trouble homogène abondant avec dépôt et voile en surface (LE MINOR et VERON, 1982). Il faut préciser que, les colonies cultivables sur gélose au sang peuvent être bêta-hémolytiques (ROBERT, 2013).

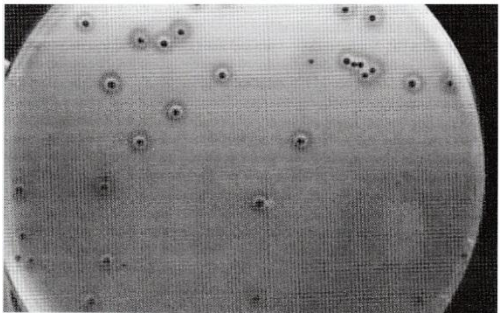

Figure 2 : Colonies caractéristiques de *S.aureus* sur milieu de Baird Parker. (DE BUYSER et SUTRA, 2005)

4.3. Caractères biochimiques

S. aureus est un germe aéro-anaérobie facultatif capable de produire la catalase ainsi que l'acétoine, l'ADH, l'hémolyse et la thermonucléase. En effet, il métabolise plusieurs sucres tel que : l'amidon, glucose, fructose, galactose, ribose, lactose … Le test phosphatase alcaline est positif pour *S.aureus*. Ce germe a la capacité de réduire les nitrates en nitrites (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

Tableau I : Différenciation des espèces et sous espèces de Staphylocoques à coagulase positive et ou à clumping factor-positif (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

Caractères	***S. aureus***	***S. aureus susp. anaerobius***	***S. delphini***	***S. hyicus***	***S. intermedius***
Pigmentation de la colonie	+	-	-	-	-
Croissance anaérobie	+	+	+	+	+
Croissance aérobie	+	()	+	+	+
Staphylocagulase	+	+	+	d	+
Clumping factor	+	-	-	-	d
thermonucléase	+	+	-	+	+
Hémolyse	+	+	+	-	d
Catalase	+	-	+	+	+
Uréase	D	ND	+	d	+
beta glucosidase	+	-	ND	d	d
production d'acétoine	+	-	-	-	-
Réduction des nitrites	+	-	+	+	+
Hydrolyse de l'esculine	+	-	ND	-	-

Symboles : +, concerne 90% ou plus des souches ; -, 90% ou plus des souches sont négatives ; d, 11 à 89% des souches sont positives ; ND, non déterminé. () Indique une réaction retardé

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

La virulence des souches de *S.aureus* impliquées dans les infections humaines ou animale est liée à la production d'une grande variété de composés. Ces derniers sont soit associés à la paroi de la bactérie (adhésines telles que la protéine A...) soit secrétés dans l'environnement (toxines, enzymes…) (BRUN et BES, 2000)

1. Les composants de la paroi

1.1. Le peptidoglycane ou mucopeptide

Le peptidoglycane est un élément constant de la paroi bactérienne et assure sa rigidité. C'est une énorme molécule réticulée faite de chaînes polysaccharidiques reliées entre elles par de courts peptides. Les chaînes polysaccharidiques sont faites de l'alternance de N-acétylglucosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM). Sur les résidus d'acide N-acétylmuramique sont fixés des tétrapeptides faits de l'alternance d'acides aminés (NAUCIEL et VILDÉ, 2005). Chez *S. aureus* la production de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infection locale (abcès, infections articulaires) provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et libération de cytokines (IL-1, 6, 8, et TNFα) qui, en grande quantité, provoquent les lésions tissulaires et hyperthermie (GARRITY *et al*., 2007 ; AVRIL *et al*., 2003).

1.2. Acide teïchoique (polysaccharide A)

C'est un glycopolymère qui forme le peptidoglycane par liaison covalente. L'acide teïchoique de *S. aureus* est un glycopolymère de la paroi cellulaire, peut être défini comme le ribitol phosphate substitué par α- ou β-ON-acétyle-D-glucosamine (GlcNAc) et D-alanine. Ce polymère dont les molécules (40-50) sont constituées d'unités répétitives de ribitol-phosphate permet à *S. aureus* d'adhérer de manière spécifique aux membranes muqueuses, et donc à la muqueuse nasale. L'acide teïchoique est responsable de la résistance aux lysosomes et aux peptides antimicrobiens ainsi que de l'évasion de la réponse immunitaire de l'hôte. Outre la fermeté et l'élasticité de la paroi cellulaire, le peptidoglycane et l'acide teïchoique ont d'autres activités biologiques telles que l'activation du complément, inhibition de la chimiotaxie et stimulation de la production d'anticorps (BILJANA *et al.*, 2015).

1.3. Capsule

Environ 90% des souches de *S. aureus* produisent une capsule polysaccharidique, on retrouve dans sa composition des dérivés osidiques (galactose, fructose, mannose...) ainsi que

des acides aminés. La production des enzymes nécessaires à la synthèse des polysaccharides de la capsule de *S. aureus* est fortement dépendante des conditions du milieu. Plusieurs études s'accordent à dire que la production de la capsule est maximale en phase post-exponentielle **(**VIEU, 2014).

2. Les protéines de surface

2.1. MSCRAMMs

Staphylococcus aureus est capable d'exprimer de nombreuses protéines qui vont permettre l'adhésion lors de la formation du biofilm. Ces adhésines sont regroupées sous l'appellation de MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules), elles ont la capacité de lier de nombreuses protéines humaines comme la fibronectine ou le fibrinogène ce qui permet à *S. aureus* de se lier de manière covalente aux surfaces biotiques et abiotiques **(**VIEU, 2014).

2.2. Protéine A

La paroi cellulaire de *S. aureus* contient une protéine A unique qui a la capacité de se lier à la région Fc de l'immunoglobuline G (IgG). La protéine A est liée au peptidoglycane de la paroi cellulaire bactérienne, mais elle est libérée dans le milieu de culture au cours de la croissance. Cette protéine inhibe l'opsonisation et la phagocytose des microorganismes par les cellules polynucléaires et l'activation du complément (BILJANA *et al.*, 2015). En plus de cela, la protéine est un immunogène, stimule les lymphocytes B et est responsable de la formation d'anticorps qui se trouvent chez les patients atteints d'infections sévères à *S. aureus* (KOBAYASHI et DELEO, 2013).

2.3. SERAM

C'est une protéine d'adhérence extracellulaire (EPA) qui est presque omniprésente chez les souches de *S. aureus,* et semble jouer un rôle de déterminant de la virulence dans des infections chroniques à *S. aureus* (LEE *et al.,* 2002). Une caractéristique unique des SERAM dans la pathogenèse de *S. aureus* est que ces molécules semblent utiliser leurs propriétés adhésives non seulement pour ancrer la cellule bactérienne à une surface cible, mais aussi pour interférer avec les mécanismes de défense de l'hôte tels que la coagulation et l'immunité (CHAVAKIS *et al.,* 2005).

3. Les toxines et les enzymes diffusibles de *S. aureus*

Toutes les souches de *S. aureus* produisent des protéines extracellulaires et sont douées soit d'une activité toxique, soit d'une activité enzymatique. Mais certaines d'entre elles restent fixées à la membrane cytoplasmique.

3.1. Les toxines

3.1.1. L'alpha-toxine ou alpha-hémolysine

Synthétisée par 80-90% des souches, son poids moléculaire (PM) est de 26000-30000Da. Elle est de nature protéique, thermostable, active sur le sang de mouton. Et exprime des activités cytocides (qui tue les cellules) sur un plus large éventail de types de cellules, y compris les cellules polynucléaires humaines. Elle est capable de lyser les globules rouges de plusieurs espèces animales différentes. La toxine provoque une nécrose du derme lorsqu'elle est administrée par voie sous-cutanée. Pour les animaux, elle est létale lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse. C'est aussi une neurotoxine puissante. Cette toxine est responsable de la formation de la zone hémolytique autour d'une colonie de certains types de *S. aureus* sur une gélose au sang. (BILJANA *et al.*, 2015)

3.1.2. La bêta-hémolysine

Elle est plus fabriquée par les souches animales que par les souches humaines. Il s'agit d'une phospholipase de type C, thermolabile, son PM est de 26000-38000Da. Elle est particulièrement active sur les hématies du mouton en provoquant une hémolyse partielle qui augmente considérablement à 4°C, d'où la dénomination «chaud-froid». Cette toxine est plus fréquemment produite par les souches de *S. aureus* d'origine alimentaires (DINGES *et al.*, 2000)

3.1.3. La gamma-hémolysine

C'est une toxine produite par 50 % des souches, comporte deux facteurs I et II agissant en synergie de PM de 29000 et 26000Da, respectivement. La ϰ-hémolysine a pour effet d'hémolyser les érythrocytes de lapin, de mouton et celles de l'homme, ce qui provoque une rupture lysosomiale. Elle est antigénique chez l'homme (LE MINOR et VERON, 1982).

3.1.4. La delta-hémolysine

Cette toxine est de PM de 103000Da composée de petites sous unités, thermostable, contient des acides aminés hydrophobes et hydrophiles, et elle est faiblement antigénique. Elle agit comme un détergent sur la membrane cytoplasmique sans spécificité et inhibe la respiration mitochondriale et la phosphorylation. Et est également capable d'activer l'adénylcyclase provoquant la production de c-AMP (LE MINOR et VERON, 1982 ; BILJANA, 2015)

3.1.5. Leucocidine de Panton Valentine (LPV)

La LPV est une exotoxine qui se compose de deux protéines : LukS-pv et LukF-pv (20 à 27% d'homologie entre elles). Ces deux composants sont secrétés séparément puis s'assemblent en octamère à la surface des cellules cibles, ce qui provoquera la formation d'un pore au niveau de la membrane cellulaire. Cette exotoxine induit la lyse de plusieurs types cellulaires comme les polynucléaires, les neutrophiles, les monocytes et les macrophages (GENESTIER *et al.*, 2005).

3.1.6. Exfoliatine ou épidermolysine

Deux principales formes sérologiques d'exfoliatine, désignées ETA et ETB, ont été liées à des infections humaines. Une troisième exfoliatine (ETC) a été caractérisée et purifiée à partir d'un isolat de *S. aureus* obtenu d'un cheval. Une nouvelle exfoliatine appelée ETD a été identifiée comme étant un nouveau sérotype de toxine exfoliative avec des similitudes de séquences de 40% avec ETA, 59% avec ETB, et 13% avec ETC (PODBIELSKA *et al.*, 2011). Les souches productrices d'ETA et/ou d'ETB sont responsables du syndrome de la peau échaudé. Ces deux toxines sont antigéniques et stimulent les anticorps de l'hôte (BILJANA *et al.*, 2015).

3.1.7. Entérotoxines Staphylococciques

Les entérotoxines staphylococciques sont des exotoxines gastro-intestinales puissantes synthétisées par *S. aureus* tout au long de la phase exponentielle de la croissance ou durant la transition de cette phase à la phase stationnaire. Elles sont actives en faible quantité (ARGUDIN *et al.,* 2010). Ces exotoxines ont été traditionnellement subdivisées en type classique SEA à SEE et de nouveau type SEG à SEV2 ont été apparu (HANNEKINE *et al.*, 2010). Actuellement, plus de 21 types d'entérotoxine ont été décrits. Entérotoxine A (SEA), SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED, SEE, SEG, SHE, SEI, et SElJ, (BALABAN et RASOOLY, 2000), SElK (ORWIN *et al.*, 2001), SElL, SElM, SElN, et SElO (JARRAUD *et al.*, 2001), SElP (OMOE *et al.*, 2005),

SElQ (ORWIN *et al.*, 2002), SER (OMOE *et al.*, 2003), SES et SET (ONO *et al.*, 2008), SElU (LETERTRE *et al.*, 2003), SElU2 et SElV (THOMAS *et al.*, 2006). Cette nomenclature stipule que si la toxine possède une activité émétique prouvée elle est appelée SE. Dans le cas contraire, elle est désignée SEl (Staphylococcal Enterotoxin-like) (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

Cinq d'entre elles sont les plus impliquées dans les TIA (SEA, SEB, SEC, SED, SEE). Ces SE agissent directement sur l'épithélium intestinal et sur le nerf vague provoquant une stimulation du centre émétique et du transit intestinal (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

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

L'activité superantigénique résulte de l'interaction directe des SEs avec des cellulesT réceptrice d'antigène (TCR) et le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) des cellules présentatrice d'antigène (CPA). Cette liaison entraine l'inactivation non spécifique et la prolifération des cellules T ainsi qu'une sécrétion massive d'interleukines qui semble être impliquée dans le mécanisme de la toxicité des SEs (PODBIELSKA *et al.*, 2011).

Les caractéristiques des entérotoxines staphylococciques sont représentées dans le tableau ci-dessous (Tableau II).

Tableau II : Caractéristiques des entérotoxines staphylococciques

(HENNEKINE *et al.*, 2010)

Toxines	PM (Da)	Localisation génétique	Activité superantigénique	Activité émétique
SEA	27,1	prophage	+	+
SEB	28,336	chromosome, plamside, ilot de pathogénicité	+	+
SEC1-2-3	~27,500	plasmide	+	+
SED	26,36	plasmide (pIB485)	+	+
SEE	26,425	prophage	+	+
SEG	27,043	chromosome	+	+
SEH	25,21	transposon	+	+
SEI	24,928	chromosome	+	+
SElJ	28,565	plasmide (pIB485)	+	nd
SEK	25,539	ilot de pathogénicité	+	nd
SElL	24,593	ilot de pathogénicité	+	-
SElM	24,842	chromosome	+	nd
SElN	26,067	chromosome	+	Nd
SElO	26,777	chromosome	+	Nd
SElP	26,608	prophage (Sa3n)	+	Nd
SElQ	25,076	ilot de pathogénicité	+	-
SER	27,49	plasmide (pIB485)	+	+
SES	26,217	plasmide (pIB485)	+	+
SET	22,614	plasmide (pIB485)	+	+
SElU	27,192	chromosome	+	Nd
SElU2	26,672	chromosome	+	Nd
SElV	24,997	chromosome	+	Nd
nd : non déterminé				

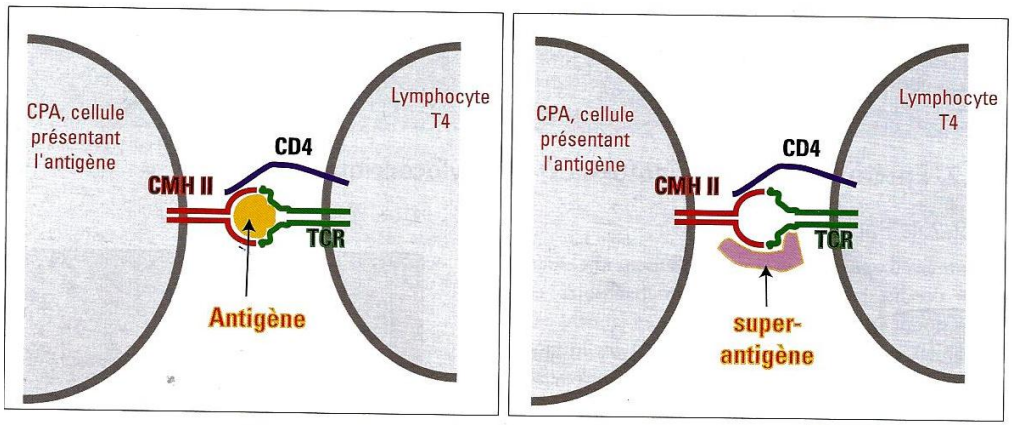

Figure 3 : Mécanisme d'action de l'entérotoxine Staphylococcique (à gauche fonctionnement normal, à droite fonctionnement avec superantigène) (LEYRAL et VIERLING, 2007)

3.1.8. Toxine du syndrome de choc toxique (TSST)

Comme son nom l'indique, elle conduit au syndrome de choc toxique. Bien que cette toxine à une large gamme d'activités biologiques, son rôle dans la formation du syndrome de choc toxique reste peu clair. Le syndrome du choc toxique est une maladie multi-systémique caractérisée par : fièvre, hypotension, érythrodermie, vomissement, diarrhée, insuffisance rénale, céphalée et conjonctivite. La maladie a été observée chez les femmes utilisant tampons hyper-absorbants pendant leurs périodes. Par la suite, la maladie a été trouvée chez les deux sexes patients atteints d'abcès staphylococciques, ostéomyélite, après la chirurgie des infections de la plaie, et pneumonie (BILJANA *et al.*, 2015). Ces symptômes sont dus à la synthèse par les Staphylocoques d'une exotoxine appelée toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) à activité superantigène. TSST-1 provoque une activation polyclonale des lymphocytes T, suivie d'une réponse inflammatoire caractéristique de l'activité superantigène (MADIGAN et MARTINKO, 2007).

3.2. Les Enzymes

3.2.1. Coagulase libre

S. aureus fabrique une substance capable de coaguler en quelques heures le plasma humain ou le plasma de lapin citraté, hepariné ou oxalaté. C'est une substance thermostable fabriquée en phase exponentielle de la croissance. Elle parait être d'origine chromosomique qui agit en présence d'un facteur qui est une Globuline voisine ou identique à la Prothrombine (BRUN *et al.*, 2003).

3.2.2. Lipase

Quatre-vingt pour cent des souches de *S. aureus* expriment des lipases et une enzyme modifiant les acides gras bactéricides, nommés FAME (Fatty Acid Modifying Enzym). Ces enzymes favorisent la pénétration de la bactérie à travers la barrière cutanéo-muqueuse. Les lipases clivent les acides gras de la peau, qui sont secondairement inactivé par l'enzyme FAME. (LONG *et al.*, 2010)

3.2.3. Phosphatase

Localisée sur la membrane ou sur l'acide teïchoique, où se trouvent les phosphatases alcalines et acides dont le rôle physiologique n'est pas connu (LE MINOR et VERON, 1982)

3.2.4. Hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile de PM = 80000Da, capables de dégrader l'acide hyaluronique et joue un rôle pathogène en favorisant la diffusion de *Staphylocoque* dans le tissu conjonctif (LE MINOR et VERON, 1982). Sont produites par un certain nombre de bactéries Gram-positif pathogènes qui initient des infections au niveau de la peau ou à la surface des muqueuses (PODBIELSKA *et al.*, 2011).

3.2.5. Nucléase

La nucléase (DNase) de *S.aureus* (thermonucléase) est thermostable, alors que celle des autres bactéries est thermolabile. L'activité enzymatique est mise en évidence sur milieu à base d'ADN avec du bleu de Toluidine (halo rosé) (AVRIL *et al.*, 2000).

3.2.6. Protéolysines

De nombreuses enzymes protéolytiques ont été isolées et purifiées chez *S.aureus* : élastases, gélatinases, caseinases … (LEMINOR et VERON ,1982)

3.2.7. Lysozyme

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

3.2.8. Fibrinolysine ou Staphylokinase

De nombreuses souches de *S. aureus* expriment un activateur de plasminogène appelé staphylokinase. Ce facteur lyse la fibrine. Un complexe formé entre la staphylokinase et

plasminogène qui active l'activité protéolytique de type plasmine ce qui provoque la dissolution des caillots de fibrine. Cette enzyme contribue à la propagation bactérienne (PODBIELSKA *et al*., 2011).

4. Physiopathologie

S. aureus peut devenir pathogène à la suite de diverses circonstances :

Pénétration du germe dans l'organisme, le plus souvent après rupture de la barrière cutanée (blessures, interventions chirurgicales, brûlures, dermatoses, injections, cathéters,….) ou au niveau d'un follicule pileux. Rupture de l'équilibre hôte-bactérie à la suite de circonstances favorisant l'infection : virose (grippe, rougeole), antibiothérapie sélectionnant une souche *S. aureus*, déficits immunitaires, diabète, alcoolisme… Il s'en suit une multiplication bactérienne avec production d'enzymes et de toxines correspondant à l'expression de la virulence du germe. Ceci explique l'extension de l'infection qui peut aboutir à une septicémie. Schématiquement, plusieurs étapes peuvent se succéder dans lesquelles sont impliquées diverses substances d'origine staphylococcique :

- Envahissement local : hyaluronidase, exfoliatine.
- Nécrose cellulaire : protéases, lipases, estérases, DNases, phosphatases, toxines.
- Diminution des défenses locales : leucocidine, capsule, protéine A.
- Foyer de thrombophlébite régionale : coagulase.
- Embols septiques : fibrinolysine.

En raison de ses nombreuses toxines et enzymes, *S. aureus* détruit les cellules de l'organisme et produit du pus. Il est ainsi le type même du germe pyogène (AVRIL *et al.*, 2000).

5. Pouvoir pathogène

Parasite habituellement inoffensif de l'homme et de l'animal. *S. aureus* peut être responsable, dans certaines conditions, de pathologies prenant des formes cliniques très diverses et plus au moins grave chez ses hôtes (DE BUYSER et SUTRA, 2005)

Chez l'homme, *S. aureus* est responsable d'infections suppuratives, de septicémies et de maladies liées à la production de toxines (BRUN et BES, 2000)

Les infections suppuratives localisées de la peau et des muqueuses sont fréquentes, les infections cutanées peuvent affecter par exemple les follicules pilo-sébacés (folliculite, furoncles) ou les ongles (panaris). Les infections des muqueuses sont essentiellement des angines, des sinusites et des conjonctivites.

Les septicémies correspondent à la multiplication et la dissémination de *S.aureus* dans la circulation sanguine. Elles résultent le plus souvent soit d'une infection cutanéo-muqueuse (furoncle, plaie infectée) mal soignée, soit en milieu hospitalier, de l'entrée de *S.aureus* dans la circulation sanguine suite à l'implantation d'un cathéter veineux, d'une sonde ou d'une prothèse. Elles s'accompagnent très souvent d'infection viscérale (endocardite) ou osseuse (ostéomyélite).

Les maladies liées à la production de toxines, principalement :

- Le syndrome de la peau ébouillantée qui se traduit par un décollement bulleux des couches superficielles de l'épiderme lié à des toxines exfoliatines produites *in vivo* à partir d'un site de colonisation ou d'infection. L'impétigo bulleux est une forme mineure de cette maladie.
- Le syndrome du choc toxique (TSS) infection staphylococcique grave, caractérisée par une fièvre élevée, une éruption, des vomissements et une diarrhée. Le choc toxique a été initialement identifié chez des femmes en période menstruelle, associé à l'usage de tampons hautement absorbant. Le sang et le mucus des menstruations peuvent contenir des souches de *S.aureus* en provenance de la peau. La présence d'un tampon concentre les bactéries et constitue une niche à l'abri de laquelle les souches de *S.aureus* peuvent se multiplier. les symptômes du TSS sont dus à la synthèse d'une exotoxine appelée « *Toxine Du Choc Toxique Staphylococcique* » (TSST-1) à activité superantigène. La TSST-1 provoque une activation polyclonale des lymphocytes T, suivie d'une réponse inflammatoire caractéristique de l'activité superantigène. **(**MADIGAN et MARTINKO**,** 2007).
- Les toxi-infections (TIA) à *S.aureus* sont en réalité des intoxications dues à l'ingestion d'aliment dans lequel des toxines sont préformées et non à une colonisation digestive par une bactérie entéropathogène. Les symptômes les plus fréquemment observés lors des intoxications sont des vomissements violents et répétés, des nausées, des diarrhées aqueuses et des douleurs abdominales. Ces symptômes surviennent après une période d'incubation courte entre 2 et 4 heures en moyenne après la consommation du repas contaminé, et disparaissent spontanément après 18 à 24 heures (DE BUYSER et SUTRA, 2005).

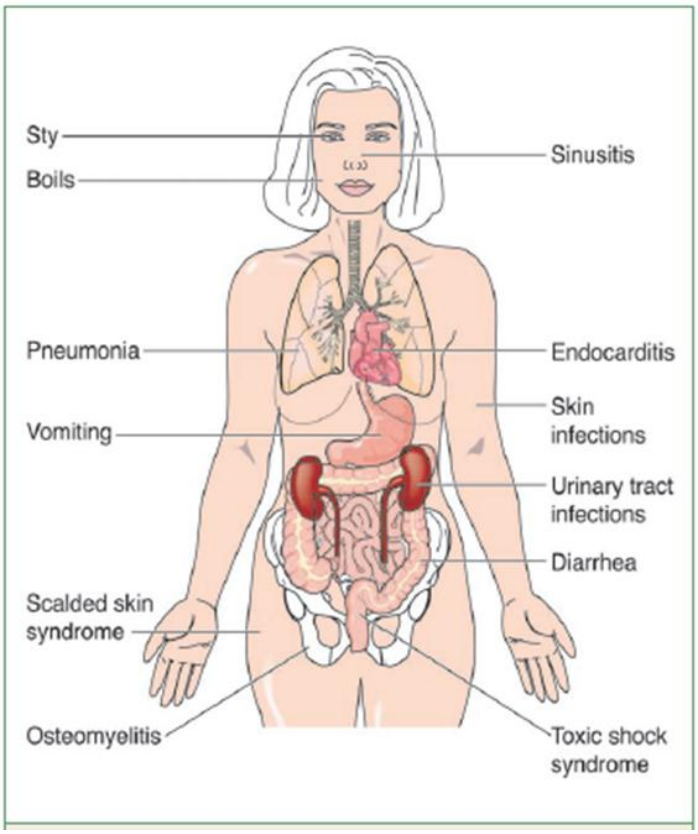

Figure 4 : Un diagramme du corps montrant les deux sites communs d'infection et de maladie que cause *S. aureus* (FREEMAN-COOK et FREEMAN-COOK, 2006)

6. Traitement et prophylaxie

- Traitement

L'utilisation intensive des antibiotiques a entraîné la sélection de souches résistantes de *S. aureus* et *S. epidermidis*. Les infections nosocomiales dues à des Staphylocoques multirésistants aux antibiotiques surviennent chez des patients dont les défenses immunitaires sont affaiblies. La transmission de ces souches résistantes peut se faire par l'intermédiaire du personnel hospitalier, lui-même porteur sain asymptomatique. Le choix d'une antibiothérapie est donc un problème majeur à l'hôpital. Bien que quelques infections staphylococciques puissent être traitées par l'Amoxicilline, la sensibilité aux antibiotiques de chaque isolat de *S.aureus* pathogène doit être testée par un antibiogramme (MADIGAN et MATINKO, 2007).

- Prophylaxie

La gravité des localisations systémiques des Staphylocoques rend indispensable une prophylaxie efficace. Le portage sain ne constitue pas un danger pour le sujet lui-même. Mais,

chez un sujet porteur de furonculose chronique, il faut le traiter. Cependant, lors d'une lésion staphylococcique évolutive il faut éviter une septicémie. L'utilisation de vaccins cellulaires inactivés et d'anatoxines est préconisée. La surveillance et le contrôle des toxi-infections par les entérotoxines sont basés sur les mesures principales suivantes : suppression des infections croisées, éducation du personnel, retour au respect absolu des règles relatives à l'asepsie, rationalisation de l'emploi des antibiotiques à titre curatif et préventif. Des indications précises sur le rôle du laboratoire de microbiologie dans la lutte contre les infections hospitalière ont été publiées récemment (AVRIL *et al.,* 2000)

En outre, les principales mesures comprennent des procédures de traite appropriées, la désinfection des trayons après la traite, la ségrégation des animaux infectés ou leur réforme, et la prévention de l'introduction d'animaux infectés pour le renouvellement du troupeau. Pour éviter la propagation des infections dans le troupeau, il est important de diagnostiquer rapidement les quartiers infectés par S. aureus, afin de les traiter, d'isoler les animaux infectés ou de les réformer (SOMRHAUSER *et al.,* 2010)

Chapitre III : Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*

1. Historique

S. aureus est un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle. En 1941, les staphylocoques résistants à la Pénicilline sont apparus grâce à l'acquisition d'une pénicillinase plasmidique, enzyme qui dégrade la Pénicilline. Pendant les années 1950, sont apparues les souches de *S. aureus* multi-résistantes. L'introduction en 1959 de la Méticilline pour le traitement des infections staphylococciques a soulevé un grand espoir. Mais à peine un an plus tard en 1960 les premières souches hospitalières de *S.aureus* résistantes à la Méticilline (SARM) sont apparues dans un hôpital en Grande Bretagne (DUMITRESCU *et al.*, 2010).

2. Définition

Les antibiotiques sont des substances chimiques d'origine naturelle, synthétique ou semi-synthétique, n'agissent que sur les bactéries en bloquant leur multiplication (effet bactériostatique) ou en les tuant (effet bactéricide) par différent modes d'action (BARZIC et IOAN, 2015).

3. Classification des antibiotiques Selon BARZIC et IOAN (2015)

3.1. Leur origine

- ✓ Naturelle

Bactérienne : sont produites par des *Bacillus,* bactéries non filamenteuses, bactéries filamenteuses (Actinomycètes) (Céfamycine, Macrolide).

Fongique : sont synthétisées par *Penicillium* (Pénicilline, Céphalosporine).

- ✓ Semi-synthétique

A partir d'une structure de base obtenue par extraction sur laquelle est greffé un radical chimique (Méticilline).

- ✓ Synthétique

Produit entièrement par voie chimique (Sulfamide).

3.2. Leur spectre d'activité

Le spectre d'activité est l'ensemble des germes sensibles à chaque famille d'antibiotique. On trouve des antibiotiques à spectre large, moyen ou étroit.

3.3. Leur mode d'action

Les antibiotiques agissent à l'échelle moléculaire au niveau d'une étape métabolique indispensable à la vie de la bactérie. Ils agissent par :

- Toxicité sélective au niveau de la synthèse de la paroi bactérienne, de la membrane cytoplasmique, de la synthèse des protéines et des acides nucléiques.
- Inhibition compétitive : dans ce cas, l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (exemple des Sulfamides dans la synthèse de l'acide folique).

3.4. Leur structure chimique

Très variable, elle est basée souvent sur une base (exemple : cycle β-lactame) sur laquelle il y a hémi-synthèse, et aussi ils peuvent être classés selon les acides aminés de la matrice suivante : dérivé d'un seul acide aminé (Chloramphénicol) ou de deux acides aminés sous forme de peptide cyclique, complexe glycoprotéique….

4. Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son site d'action propre (NAUCIEL et VILDÉ, 2005).

1.1.Les antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

- β-lactamines
- Glycopeptides
- Fosfomycines

1.2.Les antibiotiques inhibant la synthèse protéique

- Aminosides, Tétracyclines : se fixent sur la sous unité 30S du ribosome
- Chloramphénicol, MLS : se fixent sur la sous unité 50S du ribosome
- Acide fusidique : inhibe le facteur d'élongation G

1.3.Les antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

- Sulfamides et Trimethoprimes
- Quinolones

- Rifamycines

1.4.Les antibiotiques agissant sur les membranes

- Polymyxines
- Nitrofranes

5. Mode d'action des antibiotiques et mécanismes de résistance chez *S.aureus*

5.1. Résistance aux β-lactamines

Toutes les β-lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane (ou mucopeptide, ou muréine), qui est le polymère majeur spécifique de la paroi bactérienne. Ce blocage intervient par inhibition de certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes collectivement appelées PLP, sont insérés dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne. Pour être actives, les β-lactamines vont devoir atteindre leur cible en pénétrant dans la paroi bactérienne et se fixer sur les PLP (CAVALLO *et al.*, 2004)

- **Production de pénicillases**

La sécrétion des pénicillinases est présente chez 70-90% des souches de *S. aureus* (LECLERCQ, 2002). Le mécanisme de résistance à la Pénicilline repose sur la synthèse par la bactérie d'une enzyme appelée β-lactamase ou pénicillinase qui hydrolyse le cycle β-lactame des Pénicillines et les rend inactives. Le gène blaZ qui code pour cette enzyme est porté par un plasmide ou un transposon. La production de β-lactamases est le plus souvent inductible (LOWY, 2003).

- **Meticillino-résistance par modification de cible**

Cette résistance est due à la production d'une PLP additionnelle, la PLP2a, qui se rajoute au PLP « normales » de *S. aureus*. En présence des β-lactamines les PLP sont inhibées, sauf la PLP2a. Cette protéine est codée par le gène mecA, qui est porté par un élément génétique mobile particulier, une cassette chromosomique appelé SCCmec, insérée dans un locus spécifique (LECLERQ et DAUREL**,** 2008).

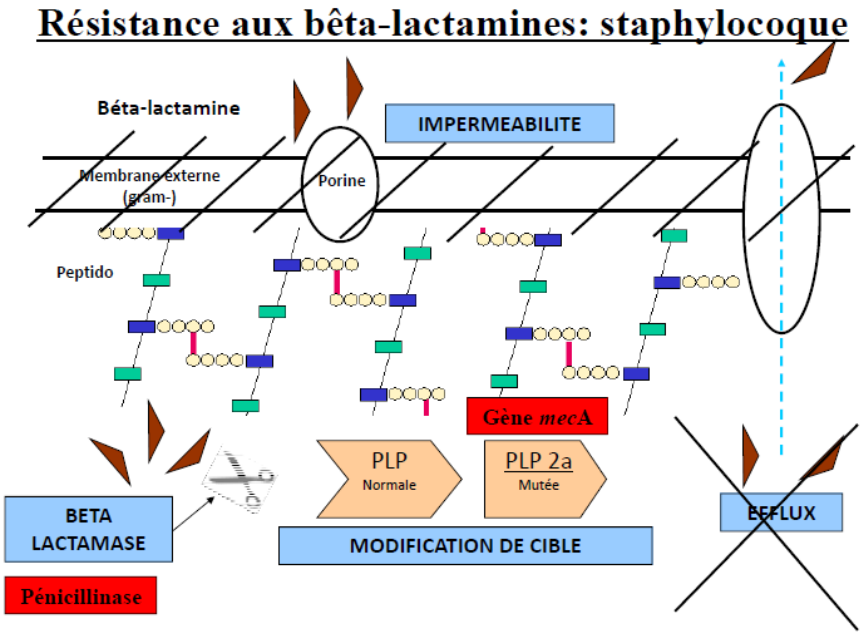

Figure 5 : Résistance aux Bêta-lactamines : *Staphylocoque* (MAINARDI, 2015)

5.2.Résistance aux Glycopeptides

Les glycopeptides (Vancomycine et Teicoplanine) agissent sur la synthèse du peptidoglycane. Ils se lient aux D-ala D-ala terminaux précurseurs à la surface de la bactérie avec une haute affinité bloquant ainsi l'addition des précurseurs de la chaine du peptidoglycane naissant et prévenant les étapes ultérieures de polymérisation. Ces molécules sont lentement bactéricides. (LECLERQ et DAUREL, 2008)

- **VRSA**

Sont des rares souches de *S.aureus* ayant acquis l'opéron de résistance à la Vancomycine vanA porté par des plasmides provenant des souches d'Entérocoques et sont résistantes aux glycopeptides par le même mécanisme qui est la modification de la cible (CLARK *et al.*, 2005).

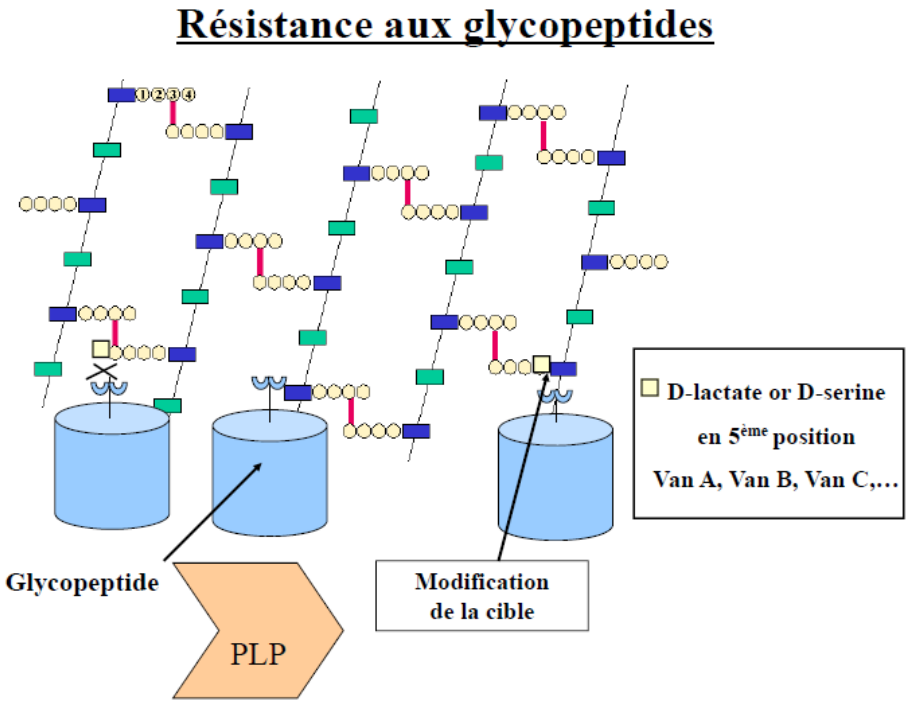

Figure 6 : Résistance au Glycopeptides chez *S.aureus*
(MAINARDI, 2015)

- **VISA / GISA**

Le terme de VISA (Vancomycin Intermediate S.*aureus)* a été le premier utilisé car les souches ainsi nommées, puisqu'intermédiaires à la Vancomycine (CMI=8mg/l), ont été isolées au Japon puis aux Etats Unis où la Vancomycine était le seul glycopeptide utilisé.
Le terme GISA (Glycopeptide Intermediate *S.aureus)* a été ensuite introduit pour tenir compte de la résistance croisée envers la Teicoplanine (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

- **Hétéro VISA**

Ce terme a été introduit par K.HIRAMATSU et COLL. pour définir les souches de *S.aureus* initialement isolées au Japon ayant des CMI de la Vancomycine égales à 2-4mg/l (sensibles) mais présentant des sous populations non sensibles à la Vancomycine (CMI=6-8mg/l) (COURVALIN et LECLERCQ, 2012)

5.3. Résistance aux Aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques à très large spectre. Ils inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien. Ils exercent une activité

bactéricide rapide qui justifie leur association aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi (β-lactamines et Glycopeptides). La résistance aux aminosides est majoritairement liée à l'acquisition des gènes codants des enzymes inactivatrices, mais aussi à l'action d'ARNr 16S methylase (GALIMAND *et al.*, 2003). Les enzymes inactivant les aminosides sont codées par des gènes plasmidiques ayant un fort potentiel de dissémination. Les trois phénotypes engendrés sont (QUINCAMPOIX et MAINARDI, 2001) :

– Phénotype K : résistance de haut niveau à la Kanamycine et à l'Amikacine due à une phosphorylase (APH-3').

– Phénotype KT : résistance de haut niveau à la Kanamycine, l'Amikacine, et à la Tobramycine, due à une adénylase (ANT-4').

– Phénotype KTG : résistance de haut niveau à la Kanamycine, Amikacine Tobramycine, Nétilmicine et gentamicine, induit par la présence d'une enzyme bi-fonctionnelle ayant des activités de phosphorylation et d'acétylation (APH-2''-AAC-6').

5.4. Résistance aux quinolones

Les quinolones sont des molécules entièrement synthétiques, elles ont pour cible des enzymes essentielles qui sont la topo-isomérase de type II dont la gyrase composée de deux sous unités GyrA et GyrB, et la topo-isomérase de type IV composée de deux sous unités ParC et ParE (COURVALIN et LECLERCQ, 2012). Chez *S. aureus*, la résistance aux quinolones est due à deux mécanismes, dont le premier consiste en la modification de la cible, soit de la topo-isomérase IV par mutation des gènes chromosomiques grlA ou grlB, soit des sous unités de la gyrase impliquée dans la synthèse de l'ADN bactérien par mutation du gène gyrA ou gyrB. Le second mécanisme est un système d'efflux actif grâce à une protéine transmembranaire codée par le gène chromosomique norA (QUINCAMPOIX et MAINARDI, 2001).

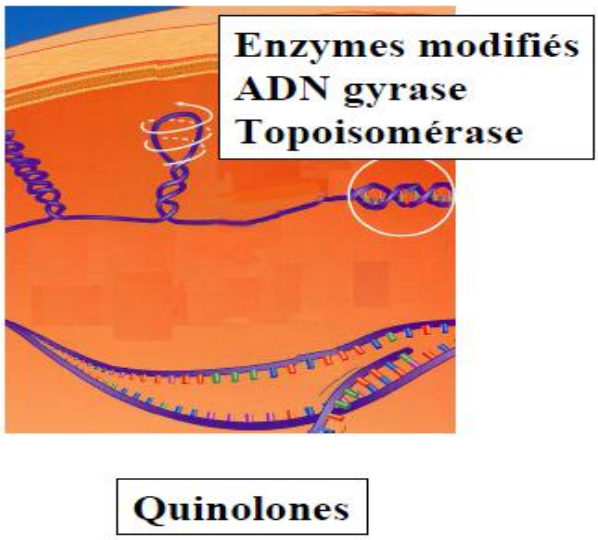

Figure 7 : Résistance aux Quinolones par modification de cible (ARCHAMBAUD, 2009)

5.5. Résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramines « MLS »

Les Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS), appartiennent au même groupe du fait d'un mode d'action proche qui est l'inhibition de la synthèse protéique par fixation sur l'ARN 23S de la sous unité 50S du ribosome bactérien. Leur place dans l'arsenal thérapeutique antistaphylococcique est d'autant plus importante qu'ils sont une alternative en cas d'allergies aux pénicillines. Contrairement aux streptogramines, les macrolides et lincosamides ne sont pas bactéricide pour *S. aureus* (DAUREL et LECLERCQ, 2008). Trois mécanismes de résistance aux MLS sont impliqués :

- **Modification de la cible**

Chez *S. aureus*, le mécanisme repose sur l'action d'une enzyme (methylase) réalisant la méthylation d'une adénine de la sous unité 23s de l'ARN ribosomique. Ces methylases sont codées par les gènes *erm* dont il existe au moins 20 variantes. Le support des gènes *erm* peut être chromosomique ou plasmidique (QUINCAMPOIX et MAINARDI, 2001).

- **Modification de l'antibiotique**

Plusieurs enzymes sont capables d'inactiver les MLS. L'érythromycine peut être inactivée par diverses enzymes dont les estérases ou des phosphotransférases. La résistance aux

streptogramines est expliquée par l'association de gènes codant pour des acétylases et des lyases (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

- **Mécanisme d'efflux actif**

Ce mécanisme ne touche que les antibiotiques de structure apparentée. L'Erythromycine ainsi que les autres macrolides peuvent subir un efflux actif grâce à une pompe ABC transporteur codée par le gène plasmidique msrA, qui a été décrit chez les *Staphylococcus*. Les ABC transporteurs sont ATP dépendants (LECLERQ, 2002).

5.6. Autres résistances

- **Tétracyclines**

Les tétracyclines sont des molécules comprenant un noyau tétracyclique linéaire, elles agissent en se fixant sur la sous unité 30S du ribosome, ce qui empêche l'ARNt de s'y associer et inhibe la synthèse protéique (SPEER *et al.*, 1992).

La résistance est due soit à un mécanisme d'efflux par une protéine membranaire codée par les gènes tetK et tetL qui sont d'origine plasmidique, soit à une protection de la cible par une protéine codée par le gène transposable tetM (COURVALIN et LECLERCQ, 2012)

- **Sulfamides**

Ce sont des analogues structuraux des para-amino-benzoïques (PAB). La résistance est due à une hyperproduction d'acide PAB. Les sulfamides entrent en compétition avec le PAB dans la synthèse de l'acide dihydrofolique (DHF). Ils remplacent les PAB en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS) qui catalyse cette synthèse à partir de PAB, la synthèse se poursuit par l'incorporation d'acide glutamique et la formation de l'acide dihydrofolique couramment appelé l'acide folique. Chez *S. aureus*, la résistance est due à la production des DHPS ayant une affinité réduite à cet antibiotique (GOLDSTEIN, 2012).

- **Acide fusidique** :

C'est un antibiotique naturel isolé à partir de micromycète *Fusidium coccineum,* il est apparenté chimiquement à la Céphalosporine P1. Cet antibiotique est à spectre étroit il est principalement actif sur les bactéries à Gram+. L'acide fusidique est un inhibiteur de la synthèse protidique interférant avec le facteur d'élongation G (EF-G). Cette GTPase est essentielle à la translocation du peptidyl-ARNt du site A ribosomal vers le site P. Après hydrolyse du GTP, le complexe EF-G-GDP est libéré du ribosome, mais en présence de l'acide fusidique, EF-G-GDP est stabilisé au niveau du ribosome bloquant ainsi l'élongation de la

chaine polypeptidique (COURVALIN et LECLERCQ, 2012). Chez *S. aureus*, il existe deux mécanismes de résistance à cet antibiotique : mutation dans le gène fusA codant le facteur d'élongation G ou diminution de la perméabilité (DAUREL et LECLERCQ, 2008).

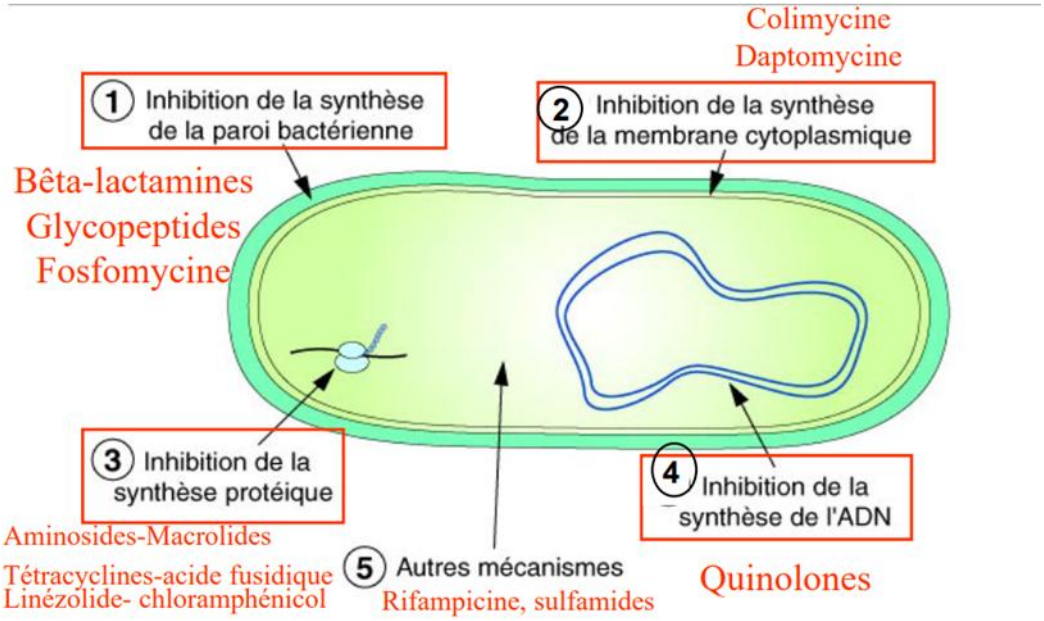

Figure 8 : Mécanisme de résistance lié au mode d'action de l'antibiotique (MAINARDI, 2015)

PARTIE

EXPERIMENTALE

Partie expérimentale

L'objectif principal de notre étude consiste à isoler différentes souches de *S. aureus* à partir de divers produits : prêts à manger, plats cuisinés, pâtisseries, viande hachée fraîche non épicée, et produits laitiers. Ceci, permet d'étudier la prévalence de ce germe dans ces produits alimentaires et d'évaluer par la suite la sensibilité des souches de *S. aureus* isolées. Comme second objectif, est de comparer le profil de résistance de ces souches isolées des produits alimentaires à celui des souches isolées dans le milieu hospitalier.

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel

- Etuve microbiologique (Memmert, Germany)
- Bec Bunsen
- Balance électronique (Denver instrument, USA)
- Spectrophotomètre (Medline, United Kingdom)
- Réfrigérateur (Essalem Electronics, Algérie)
- Vortex (Heidolph, Germany)
- Bain-Marie (Memmert, Germany)
- Autoclave (pbi international, Milano)
- Microscope optique (Ceti, Royaume-Uni)
- Verrerie et outils : boites de Pétri, tubes à essai, pipettes Pasteur, écouvillons, tubes à hémolyse, anses en plastique, anse à boucle, micropipette, embouts (0.1 et 1mL), spatules, cuves de spectrophotomètre, flacons en verre, lame pour microscope, pince bactériologique.

Milieux de culture et réactifs

- Eau peptonée tamponnée (Conda Pronadisa, Spain)
- Bouillon Clark et Lubs (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- Gélose Baird Parker (Conda Pronadisa, Espagne)
- Tellurite de potassium (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- Emulsion de jaune d'œuf
- Gélose Muller-Hinton (Conda Pronadisa, Spain)
- Bouillon cœur-cervelle (Biokar, France)
- Bouillon nitraté (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose à ADN (Conda Pronadisa, Espagne)

- Milieu TSYEA (Conda Pronadisa, Spain)
- Plasma de lapin (bioMérieux SA, France)
- Voges Proskauer I (VPI : NaOH 16%) et II (VPII : α Naphtol 6%) (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- Nitrate réductase 1 (NR1) et 2 (NR2) (Institut Pasteur d'Alger)
- HCL 37% (MERCK, Germany)
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Cosmania, Algérie)
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée stérile
- Violet de Gentiane
- Lugol, alcool, fushine
- Poudre de Zinc
- Antibiotiques utilisés (Liofilchem, Italy)

Matériels biologiques

- Souches de référence : *S. aureus* ATCC 43300 et *S. aureus* MU50 (témoins positifs), *S. aureus* ATCC 25923 (témoin négatif)

La composition et la préparation des milieux de culture (Annexe a).

2. Méthode

2.1. Durée et lieu de l'étude

Le prélèvement des échantillons a été effectué durant la période qui s'écoule entre le mois de Février et le mois de Mai 2018 (4mois). L'étude a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) à l'université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Plusieurs fast food, boucheries, cafétéria ainsi que crémeries ont été retenus pour la collecte de nos échantillons. Les listes complètes de ces points de vente ont été récupérées auprès de la direction de commerce de la wilaya de Tizi-Ouzou, et ont été choisis par la variabilité du type de l'aliment, la situation géographique et les conditions hygiéniques.

2.2. Nature et nombre des échantillons

Au total 140 échantillons ont été analysés :

- 33 échantillons de produits prêts à manger :
- 10 échantillons de pizza

- 9 soufflets à base de poulet et de saucisse
- 10 sandwiches chawarma, poulet et viande hachée
- 1 manchon
- 1 hamburger
- 2 quiches

➢ 2 échantillons de plat cuisiné

- 1 gratin et 1 plat poulet récupéré à la cité universitaire d'Oued Aissi

➢ 40 pâtisseries

➢ 36 échantillons de viande hachée fraîche et 4 échantillons de saucisse

➢ 25 produits laitiers

- 5 échantillons de lait de vache cru
- 5 échantillons de lait de chèvre cru
- 6 échantillons de lben
- 4 échantillons de lait caillé
- 3 échantillons de beurre
- 1 yaourt maison et 1 échantillon de fromage

La récolte des échantillons liquides tels que le lait a été faite dans des flacons stériles, quant au reste des échantillons les prélèvements ont été fait de manière à laquelle le client est servi. L'acheminement des échantillons au laboratoire se fait directement dans une glacière, et l'analyse débute 2 à 3 heures après la collecte.

2.3. Préparation des suspensions mères

Sur une balance électronique, 10g de chaque échantillon sont pesés et sont mis aseptiquement dans un flacon contenant 90ml d'eau peptonée tamponnée stérile. Le mélange est agité énergiquement pour homogénéiser, et laissé à température ambiante pendant un certain temps, afin de revivifier les germes contenus dans l'échantillon. Concernant les produits liquides, à partir de chaque suspension mère (lait), 0.1ml sont prélevés aseptiquement à l'aide d'une micropipette.

2.4. Ensemencement sur milieu sélectif

La recherche de *S. aureus* est faite selon la norme ISO 6888-1 relative à l'isolement et le dénombrement de staphylocoques à coagulase positives. 0.1 ml (100µl) de chaque suspension mère sont ensemencés sur la gélose Baird Parker (BP) additionné de jaune d'œuf et de tellurite de potassium, puis étalés sur cette gélose (inondation en surface). Les boites

sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Après 24-48h d'incubation, une à cinq colonies caractéristiques de *S. aureus* (colonies rondes à bords réguliers, lisses, bombées, noires et ayant un halo translucide) sont prélevées de chaque boite de milieu BP positive, et sont purifiées sur gélose BHI (Brain Heart Infusion) ou TSYEA (Trypton Soja Yeast Extract Agar). Ainsi, des repiquages successifs ont été réalisés jusqu'à avoir une culture pure.

2.5. Etude microscopique

La coloration de Gram (annexe a) est effectuée afin de confirmer la pureté des isolats et d'identifier le genre *Staphylococcus*, elle est effectuée à partir de colonies cultivées sur le milieu BHI ou TSYEA. Les frottis sont observés au microscope optique avec l'objectif à immersion (Gx1000).

2.6. Identification biochimique

2.6.1. Test de la catalase

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

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O + O_2$$

La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif, et permet de différencier les Staphylocoques des Streptocoques.

Mettre une goutte d'eau oxygénée sur une boite de Pétri stérile. Ensuite, déposer, à l'aide de l'anse bouclée en platine, une colonie isolée (ou plusieurs si petites colonies) provenant d'une boite BHI contenant une souche suspecte. La souche est dite catalase positif si des bulles de gaz d'oxygène apparaissent dans la goutte d'H_2O_2.

2.6.2. Test de la coagulase

La coagulase libre est présente chez *S. aureus*, mais aussi produite par *S.intermedius* ou *S. hyicus*. Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur.

La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5 ml (500µl) de plasma humain ou de lapin et quelques colonies pures de *S.aureus* de 24 h. Le mélange est placé à l'étuve à 37°C et est incubé pendant 2-4 heures. Un test positif se traduit

par la formation d'un coagulum. Le témoin positif est réalisé de la même manière en utilisant la souche de référence *S. aureus* MU 50.

2.6.3. Le test Voges Proskauer (VP)

Chez les bactéries anaérobies facultatives la fermentation du glucose conduit à la production d'acétoine par fermentation butanediolique qui est mise en évidence par le test VP par une réaction colorée.

Ensemencer largement le milieu Clark et Lubs par une ou plusieurs colonies pures de 24h issues du milieu BHI. Incuber pendant 24-48h à 37°C. La production de l'acétoine est révélée par ajout de 15 à 20 gouttes d'α Naphtol à 6% (VPI) et le même volume de NaOH à 4N (VPII). Puis, incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation et attendre quelques minutes à 1 heure. La souche est considéré VP positif si une coloration rouge apparait en surface du tube.

2.6.4. Mise en evidence de la Nitrate Réductase (NR)

La nitrate réductase est une enzyme qui est capable de réduire les nitrates en nitrites, selon :

$$NO^-_3 + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow NO^-_2 + H_2O$$

Et cette enzyme est capable de réduire les nitrates jusqu'au stade diazote, selon

$$NO^-_3 + 6H^+ + 5e^- \longrightarrow 1/2N_2 + 3H_2O$$

Ensemencer largement le bouillon nitraté par la souche à tester issue du milieu BHI. Incuber pendant 24h à 37°C. La production des nitrites est révélée par ajout de deux réactifs l'acide sulfamilique (NRI) et α-naphtylamine (NRII), deux gouttes chacun. Puis attendre quelques minutes.

- **Lecture**

Le milieu devient rouge : présence de nitrites. Donc la bactérie possède une nitrate réductase (NR+).

Le milieu reste inchangé : on ajoute alors de la poudre de Zinc qui joue le même rôle que la nitrate réductase vis-à-vis des nitrates.

- Apparition de la coloration rouge : on a donc une transformation des nitrates en nitrites par le Zinc. La bactérie ne possède pas donc cette enzyme (NR-).

- Absence de la coloration rouge : y a eu donc une dénitrification totale, les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites. Elle est dite (NR++).

2.6.5. Mise en évidence de la DNAse

Le test est réalisé sur une boite de Pétri contenant la gélose à ADN. Une colonie, issu du milieu BHI, est ensemencée en strie centrale sur cette gélose à ADN, puis incubée pendant 24 h à 37°C. La mise en évidence de la DNAse est révélée par ajout d'acide chlorhydrique (HCL) à 2N. L'apparition d'une zone claire autour des stries révèle la libération des polynucléotides résultant de l'hydrolyse de l'ADN du milieu, et ainsi le résultat est considéré positif.

2.6.6. Mise en évidence de l'hémolysine

Le test est réalisé sur gélose au sang frais humain, un milieu riche qui permet la croissance des bactéries qui possède une hémolysine. Cette dernière est une substance susceptible de causer une destruction des globules rouges. Sachant que *S. aureus* produit une hémolysine. Faire des stries serrées sur gélose au sang à partir d'une culture jeune issue de BH, puis incubée à 37°C pendant 24h.

- **Lecture**

Présence d'un halo d'éclaircissement complet à bords nets autour des colonies : **hémolyse bêta** (lyse des hématies et digestion totale de l'hémoglobine libérée).

2.7. Antibiogramme standard par méthode de diffusion de disque sur gélose

La sensibilité des souches *S. aureus* isolées a été étudiée conformément aux recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), en appliquant la méthode de diffusion de disque sur gélose Muller Hinton (MH). La sensibilité des souches a été testée vis-à-vis de 15 molécules d'antistaphylocoques listées dans le tableau (III). L'interprétation des résultats a été faite selon le manuel de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CASFM (2017) et les recommandations du CLSI (2017).

- **Technique de l'antibiogramme**

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18h à 37°C sur milieu d'enrichissement BHI ou TSYEA. Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse à boucle en platine, déchargée dans 5ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est homogénéisée au vortex et ajustée à une D.O. comprise

entre 0.08-0.10 lue à 625nm au spectrophotomètre. La suspension bactérienne est ajustée soit en ajoutant de la culture à la suspension soit de l'eau physiologique stérile. Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, l'écouvillon est agité au vortex, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, ensuite frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche de haut en bas en stries serrées.

L'opération est ainsi répétée trois fois en tournant la boite à 60° à chaque fois, sans oublier à faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boites de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (CLSI, 2017).

- **L'application des disques**

Des disques (maximum 4 par boite) sont déposés à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince bactériologique stérile. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé. Les boites sont ensuite immédiatement incubées pendant 24h à 37°C (CLSI, 2017).

Tableau III : Listes des molécules d'antistaphylocoques testées

Familles	Antibiotiques	Abréviation	Charge en µg	Marque
β-lactamines	Pénicilline G	P	10	Liofilchem, Italie
	Oxacilline	OX	1	Liofilchem, Italie
	Céfoxitine	FOX	30	Liofilchem, Italie
Glycopeptide	Vancomycine	VA	30	Liofilchem, Italie
Aminosides	Gentamycine	CN	10	Liofilchem, Italie
	Néomycine	N	30	Liofilchem, Italie
	Tobramycine	TOB	10	Liofilchem, Italie
Macrolides	Erythromycine	E	15	Liofilchem, Italie
	Spiramycine	SP	100	Liofilchem, Italie
Lincosamides	Lincomycine	MY	15	Liofilchem, Italie
	Clindamycine	CD	2	Liofilchem, Italie
Quinolone	Ofloxacine	OFX	5	Liofilchem, Italie
Tétracycline	Tétracycline	TE	30	Liofilchem, Italie
Phénicol	Chlorampénicol	C	30	Liofilchem, Italie
Inhibiteur de synthèse de l'acide folique	Triméthoprime-Sulfamethoxazole	SXT	25	Liofilchem, Italie

2.7.1. Recherche de *S. aureus* résistants à la Méticilline (SARM)

Toutes les souches ayant exprimées une résistance vis-à-vis de la Cefoxitine (≤21mm) et de l'oxacilline (≤10mm), ou bien une sensibilité réduite vis-à-vis de la Cefoxitine et une résistance à l'encontre de l'oxacilline ont été soumises au test screening.

- Mode opératoire

Préparation de la solution à l'Oxacilline

Dans 10 ml d'eau distillée stérile, 6 mg d'oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1g) sont dissous, une dilution au dixième dans l'eau distillée stérile est réalisée. La solution obtenue est répartie à raison de 2ml par tube. Dans une boite de Pétri de 90mm de diamètre, 2ml de cette dilution sont déposés, 18ml de gélose Mueller Hinton additionnée de 4% de NaCl sont ensuite ajoutés. Dans une boite de pétri déposer 2ml de cette dilution additionnée de 18ml de milieu Muller Hinton + 4% NaCl (CLSI, 2017). Faire des mouvements en huit pour bien homogénéiser le milieu, puis laisser sécher les boites sur paillasse et les garder dans l'étuve.

Après 24h, Une boite de Pétri contenant le milieu MH+4% de NaCl + oxacilline est divisée en quatre quadrants. Le premier quadrant est ensemencé par la souche à tester, le deuxième par une souche de référence sensible à l'Oxacilline (*S. aureus* ATCC 25923) et le troisième quadrant par une souche de *S. aureus* résistante à l'Oxacilline (*S. aureus* ATCC43300 ou bien *S. aureus* MU50). Enfin, le quatrième quadrant est non ensemencé. Les boites sont ensuite incubées à 37°C/24 h.

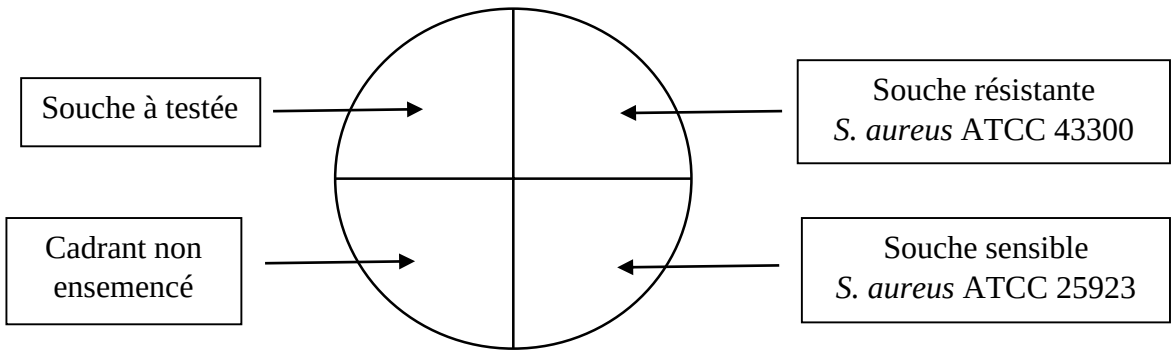

Figure 9 : Screening à l'oxacilline

2.8. Conservation des souches

Une fois que toutes les souches sont identifiées elles sont conservées dans des cryotubes à -20°C contenant le bouillon cœur-cervelle (BHIB) additionné de Glycérol (30% V/V) qui est un cryoprotecteur.

2.9. Analyse statistique

Une analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel Rx643.0.2. Le test ANOVA à un facteur nous a permis de vérifier le rapport entre la composition de l'aliment et sa contamination par *S. aureus.*

Une deuxième analyse est réalisée afin de comparer le profil de résistance des souches alimentaires à celui d'origine hospitalière, en utilisant le test de student de conformité unilatéral sur le logiciel Rx643.0.2.

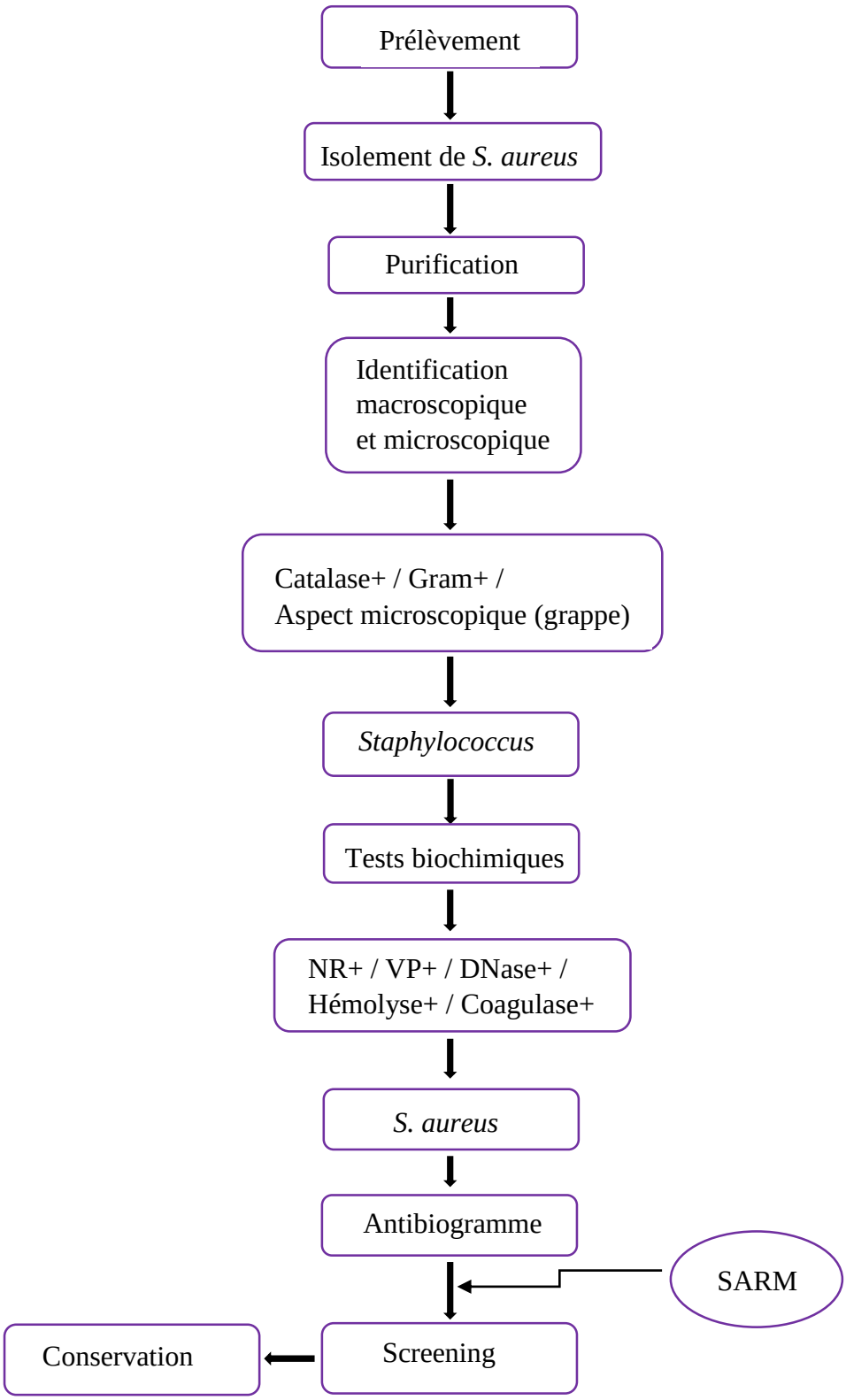

Figure 10 : Schéma récapitulatif de la recherche de *S. aureus* dans les aliments.

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Prévalence de *S. aureus* dans les alimentes

Durant cette étude, 140 échantillons de produits alimentaires (aliments prêts à manger, viande hachée, pâtisseries, lait cru et ses dérivés) sont prélevés à travers 100 points de vente répartis dans la ville de Tizi-Ouzou. Sur ce nombre total des échantillons, 11 se sont révélés positifs, dont 5 échantillons de pâtisseries et 6 autres de produits laitiers, ce qui fait une fréquence globale de contamination de l'ordre de 7.85% (Tableau IV)

Après isolement sur gélose Baird Parker, 50 colonies caractéristique du genre *Staphylococcus* (figure 11) ont été purifiées et soumises aux différents tests biochimiques. Ces derniers nous ont permis de confirmer 34 souches de *staphylococcus aureus*.

Figure11 : Aspect des colonies de *S. aureus* sur Baird Parker

Tableau IV : Prévalence de *S. aureus* dans les produits alimentaires

Produits	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons positifs	Nombre de souches de *S.aureus*	Prévalence (%)
Prêts à manger et plats cuisinés	35	0	0	0
Viande hachée	40	0	0	0
Pâtisseries	40	5	13	12.5
Lait et dérivés	25	6	21	24
Total	140	11	34	7,85

La fréquence de contamination des aliments analysés est faible. Elle est de 7.85% sur un total de 140 échantillons. Cette contamination est absente au niveau des produits prêts à manger et la viande hachée fraiche. Le taux de contamination enregistré au sein de nos échantillons est moins important que celui rapporté par CHAALAL *et al.,* (2018), qui ont annoncé une contamination de l'ordre de 30.9% sur un total de 495 échantillons. Sachant que, l'étude de CHALLAL *et al.,* est la seule faite en Algérie dans le domaine alimentaire.

La fréquence de contamination des échantillons de viande hachée est absente. Ce résultat est totalement différent de ceux obtenus par plusieurs auteurs, qui soulignent que la viande est un produit alimentaire susceptible d'être contaminée par *S. aureus*. En effet, CHAALAL *et al.* (2018) ont observé un taux de contamination de 29.4%, sur un total de 117 échantillons de viande fraiche. Une prévalence de 27.8%, sur un total de 3290 échantillons, a été rapportée par THAPALIYA *et al.,* (2017) dans une étude concernant la prévalence et la caractérisation moléculaire des souches de *S. aureus* isolées de différents types de viandes aux USA. Des taux de contamination de l'ordre de 27.9%, 16.4%, 10 % et 38% ont été rapportés dans d'autres études (HANSON *et al.,* 2011 ; KHALIFA *et al.,* 2014 ; SHAWISH et AL-HUMAM, 2016 ; GE *et al.,* 2017).

Aucun échantillon de produits prêts à manger (Sandwichs, pizza,….) n'a été contaminé par *S. aureus,* ce qui écarte le risque sanitaire associé à la consommation de ce type de produits alimentaires. En revanche, CHAALAL *et al.,* (2018)) ont annoncé une contamination de l'ordre de 13.7% sur un total de 21 plats cuisinés analysés. Une prévalence relativement faible, qui est de l'ordre de 12.5%, dans les produits prêts à manger commercialisés en Chine (YANG *et al.,* 2016). SEYDI et DIOUF (1993) ont trouvé une prévalence de non-conformité dans les sandwiches qui est de 85% à Dakar. Quant aux plats cuisinés à base de viandes, ILBOUDO *et*

al., (2009) ont eu une fréquence de 96.6 % de non satisfaction concernant les Staphylocoques dans trois restaurants universitaires d'Ouagadougou. Ces données sont très loin des nôtres.

Dans cette présente étude, la prévalence de *S. aureus* dans les pâtisseries est de 12.5%. Notre résultat rejoint celui de CHAALAL *et al.*, (2018), où ils ont annoncé un taux de contamination de 13.5%. Une valeur plus élevée de l'ordre de 48.68% a été rapportée par SHARIFZADEH *et al.,* (2016), dans une étude menée en Iran.

Staphylococcus aureus est généralement vulnérable à la destruction par des procédés thermiques et par des agents désinfectants, par conséquent, sa présence dans les aliments transformés est généralement indicative d'une mauvaise hygiène (BENETT et LANCET, 2001). En effet, le portage asymptomatique de *S. aureus* est considéré comme un facteur important dans la contamination croisée et la survenue des toxi-infections alimentaires (GRAHAM *et al.,* 2006). Plusieurs études ont montré que les manipulateurs en contact avec les denrées alimentaires sont souvent des porteurs sains de *S. aureus*, notamment au niveau des mains et des fosses nasales (KAMAL *et al.,* 2013 ; TAN *et al.,* 2014 ; CASTRO *et al.*, 2016). De plus, les équipements et les surfaces environnementales peuvent être considérés comme des sources de contamination non négligeables par *S. aureus* (CASTRO *et al.*, 2016).

Quant aux produits laitiers, une fréquence de contamination de l'ordre de 24% est observée. Une faible prévalence de *S. aureus* a été rapportée par CHAALAL *et al.,* (2018), de l'ordre de 9.1% dans les échantillons du lait pasteurisé. En revanche, des hautes prévalences dans le lait cru et produits laitiers ont été observée dans plusieurs pays (KAMAL *et al.*, 2013 ; JAMALI *et al.*, 2015 ; GIACINITI *et al.,* 2017 ; JOHLER *et al.*, 2017 ; PAPADOPOULOS *et al.,* 2018). La contamination de produits laitiers par *S. aureus* pourrait être due à la contamination du lait cru, nécessaire pour l'élaboration de produits à base du lait cru, mais aussi à des contaminations croisées lors des processus de fabrication. En effet, *S. aureus* est la cause majeure de mammites cliniques et sub-cliniques et par conséquence la cause principale pour le traitement antimicrobien des vaches laitières (JAMALI *et al.,* 2015). En plus, le portage nasal de *S. aureus* chez les humains constitue un réservoir potentiel de ce germe (TAN *et al.,* 2014 ; CASTRO *et al.,* 2016). La présence de contaminations croisées, l'absence de système de réfrigération continu et l'existence de mauvaise pratique de conservation, telles que la conservation à température ambiante pourraient expliquer la contamination de ce type de produits analysés par *S. aureus*.

L'analyse statistique (**ANOVA à un facteur**) a montré que la composition de l'aliment n'a pas un effet significatif sur sa contamination par *S. aureus* (p=0.68).

2. Antibiorésistance des souches isolées

Les 34 souches de *S. aureus* isolées et identifiées ont été soumises à 15 molécules d'antibiotiques utilisées en médecine humaine et vétérinaire, afin d'étudier leur profil de résistance. Les résultats obtenus révèlent l'existence de résistances, avec des proportions variables selon les différentes familles étudiées. En effet, de fortes résistances à la pénicilline G et à la tétracycline ont été observées, avec des taux de 94.11% et 41.17% respectivement. En outre, des résistances relativement faibles ont été enregistrées pour, la Néomycine, l'Erythromycine, la Cefoxitine et le Chloramphenicol avec des pourcentages de 23.52%, 14.70%, 11.76%, respectivement. Enfin, aucune résistance n'a été observée pour la Vancomycine, l'Oxacilline, l'Ofloxacine, la Gentamycine, la Tobramycine et la Trimethoprime-sulfamethoxazole (Tableau V).

Tableau V : Résistance des souches de *S. aureus* (n=34) vis-à-vis les antibiotiques testés

Antibiotiques	Résistantes	Intermédiaires	Sensibles
	Nombre (%)	Nombre (%)	Nombre (%)
MY	1 (2,94)	0 (0)	33 (97,05)
P	32 (94,11)	0 (0)	2 (5.88)
CD	1 (2,94)	3 (8,82)	30 (88,23)
SP	1 (2,94)	0 (0)	33 (97.05)
E	5 (14,70)	3 (8,82)	26 (76,47)
VA	0 (0)	0 (0)	34 (100)
FOX	4 (11.76)	0 (0)	30 (88.23)
OX	0 (0)	0 (0)	34 (100)
OFX	0 (0)	0 (0)	34 (100)
CN	0 (0)	0 (0)	34 (100)
TE	14 (41,17)	2 (5.88)	18 (52.94)
C	4 (11,76)	0 (0)	30 (88,23)
TOB	0 (0)	0 (0)	34 (100)
N	8 (23.52)	0 (0)	26 (76.47)
SXT	0 (0)	0 (0)	34 (100)

De fortes résistances ont été enregistrées à l'encontre de la pénicilline G et de la tétracycline. Nos résultats concordent avec ceux annoncés par plusieurs auteurs qui signalent que les souches de *S. aureus* résistent vis-à-vis ces deux molécules. CHAALAL *et al.*, (2018) ont annoncé un taux de résistance de 63.3% vis-à-vis la pénicilline concernant des souches isolées de divers produits alimentaires (lait pasteurisé, viande, pâtisseries et plats cuisinés). Un

résultat similaire est observé par YANG *et al.,* (2016), qui ont annoncés une résistance de 98.4%. De fortes résistances vis-à-vis cette molécule d'antibiotique ont été signalées chez des souches de *S. aureus* isolées du lait et de produits laitiers (VISIANO *et al.,* 2014 ; JAMALI *et al.,* 2015 ; PAPADOPOULOS *et al.,* 2018). 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). Quant à la tétracycline, nos résultats se rapprochent de ceux de JAMALI *et al.,* (2015), qui ont annoncé un taux de résistance de 56.2% chez les souches isolées du lait bovin, 58.1% chez les souches isolées du lait ovin et 51% chez les souches isolées de fromages traditionnels.

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).

Les aminosides (gentamicine et tobramycine) ont gardé une bonne activité sur les souches isolées. Nos résultats rejoignent ceux de plusieurs auteurs. CHAALAL *et al.,* (2018) ont rapporté des résistances relativement faibles de l'ordre de 11.1% et 11.7 vis-à-vis la gentamicine et la tobramycine respectivement.

Une faible résistance vis-à-vis le chloramphénicol est enregistrée. Notre résultat concorde avec ceux de plusieurs auteurs dans différents pays, qui confirment que les praticiens vétérinaires ont eu recours à cet antibiotique pour le traitement de diverses pathologies (ROLA *et al.,* 2015a ; ROLA *et al.,* 2015b ; PEREIRA *et al.,* 2009). Sachant que, cet antibiotique est interdit dans les élevages des animaux de rente en union européenne et réservé uniquement pour la médecine humaine. Bien que, des résidus de chloramphénicol ont été détectés dans les tissus d'animaux en Pologne, ce qui suggère son utilisation en pratique vétérinaire (EFSA, 2014).

Aucune résistance vis-à-vis l'association trimethoprime/sulfamethoxazole. Ce résultat est similaire à ceux de JAMALI *et al.,* (2015) et TAN *et al.,* (2014). Tandis que, CHAALAL *et al.,* (2018), ont signalé une faible résistance de l'ordre de 1.9%.

Aucune résistance n'a été enregistrée vis-à-vis la vancomycine, pour l'ensemble des souches isolées. Cette sensibilité s'explique par le fait que cet antibiotique n'est pas utilisé en médecine vétérinaire dans de nombreux pays, y compris l'Algérie. Ces résultats sont encourageants, car la vancomycine est l'un des antibiotiques de choix contre les infections à SARM. Cependant la surveillance de la résistance des SARM vis-à-vis des glycopeptides reste obligatoire, du fait que l'émergence des souches résistantes à la vancomycine (VRSA) a été déjà décrite en milieu hospitalier dans plusieurs pays, en particulier par REBIAHI *et al.,* (2011).

Selon l'antibiogramme, les isolats de *S. aureus* ont montré des résistances élevées notamment vis-à-vis de l'Oxacilline et une sensibilité réduite à la Cefoxitine. En effet, 4 souches ont été qualifiées comme étant des *S. aureus* résistants à la Méticilline (SARM). La présence des SARM dans les aliments a été bien documentée avec les taux suivants rapportés dans différents pays : Canada 6.4% (WEESE *et al.,* 2010), Chine 5.6% (SONG *et al.,* 2015), Italie 3.8% (NORMANO *et al.,* 2007), Espagne 1.6% (LOZANO *et al.,* 2009) et la Corée 2.4% (RHEE et WOO, 2006). Alors que dans la présente étude, nous avons trouvé une fréquence supérieure de 11.76%.

Dans notre étude, la prévalence de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) est de 0.71%, sur un nombre total d'échantillons de 140. En effet, quatre souches SARM ont été isolées du même échantillon (lait acidifié). Toutes ces souches étaient résistantes à la céfoxitine et expriment le même profil de résistance (figure12). Un screening à l'oxacilline (figure 14) est réalisé pour confirmer la résistance vis-à-vis l'oxacilline.

La prévalence des SARM dans notre étude est faible. Quatre souches sur les 34 souches étaient des SARM, ce qui fait une fréquence de 11.76%. Cette fréquence d'isolement semble moins importante que celle annoncé par CHAALAL *et al.,* (2018), qui ont rapporté une prévalence de 21.56%, sur un total de 153 souches. Des études réalisées en Malaisie, en Egypte et en Turquie révèlent une prévalence de 2%, 5.3% et 4.7%, respectivement (JAMALI *et al.,* 2015 ; KAMAL *et al.,* 2013 ; ARAS *et al.,* 2012). En Italie, plusieurs études ont été réalisées concernant la présence des souches SARM dans le lait et autres produits alimentaires destinés à la consommation à l'état cru ou cuit. Néanmoins, les taux enregistrés diffèrent d'une étude à une autre. Six souches SARM ont été isolées (0.4%), sur un total de 1634 échantillons du lait et de fromages. Des prévalences variant de 0.7% à 8.3% ont été rapportées dans d'autres études (BASANISI *et al.,* 2015 ; CARFORA *et al.,* 2015 ; CORTIMIGLIA *et al.,* 2015 ; CARUSO *et al.,* 2016 ; BASANISI *et al.,* 2017 ; GIACINITI *et al.,* 2017). La présence des SARM dans les aliments a été bien documentée dans différents pays, avec les taux suivants : Canada 6.4% (WEESE *et al.,* 2010), Chine 5.6% (SONG *et al.,* 2015), Espagne 1.6% (LOZANO *et al.,* 2009) et la Corée 2.4% (RHEE et WOO, 2010). Cette différence entre ces données pourrait s'expliquer par la diversité et la non homogénéité des méthodes appliquées pour la détection des SARM.

Beaucoup d'études menées à travers le monde montrent l'invasion des souches SARM dans les denrées alimentaires. Ceci, pourrait être lié aux transmissions entre l'animal, l'homme et les matrices alimentaires. Des voies de transfert des SARM ont été décrites, incluant le contact direct avec les animaux, qui sont des porteurs potentiels de ces souches, la

contamination environnementale et la consommation ou la manipulation de denrées alimentaires contaminées (PETINAKI et SPILIOPOULOU, 2012).

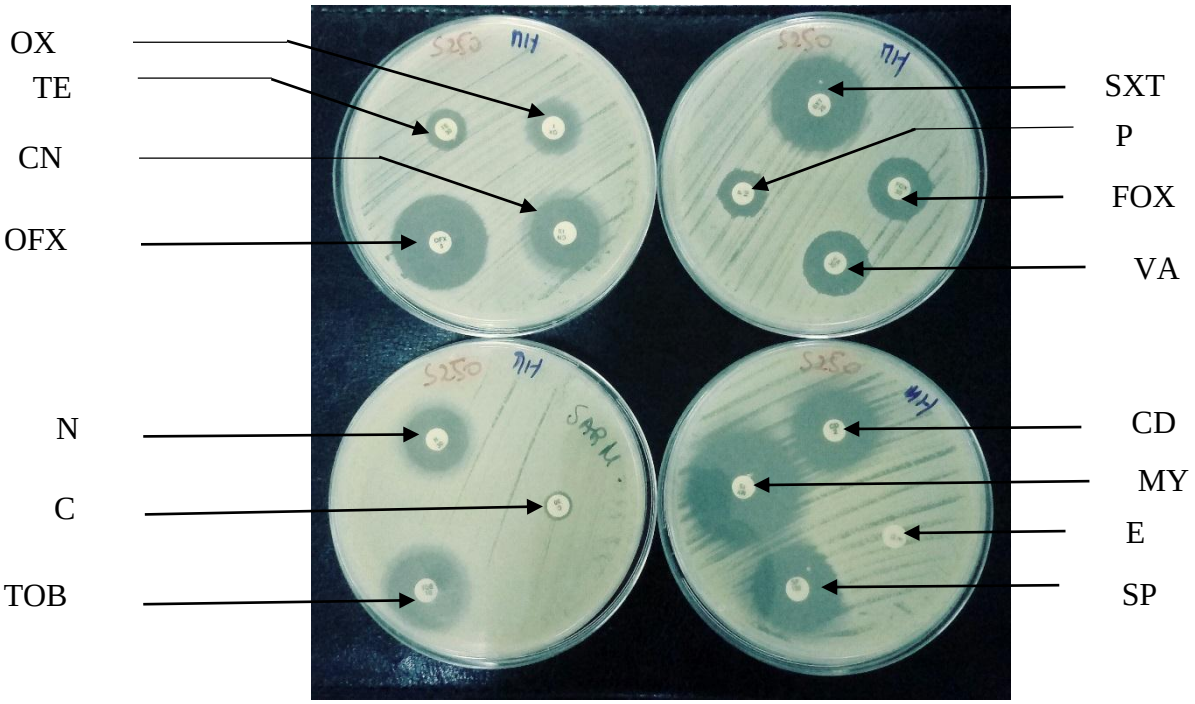

Figure 12 : Profil de résistance d'une souche SARM (souche alimentaire)

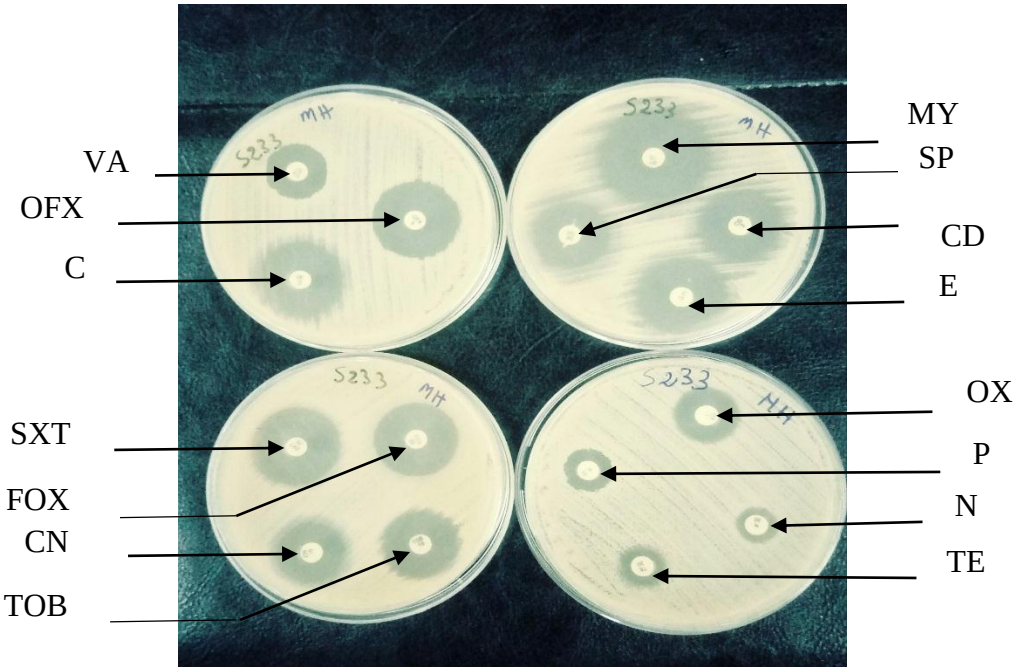

Figure 13 : Profil de résistance d'une souche SASM (souche alimentaire)

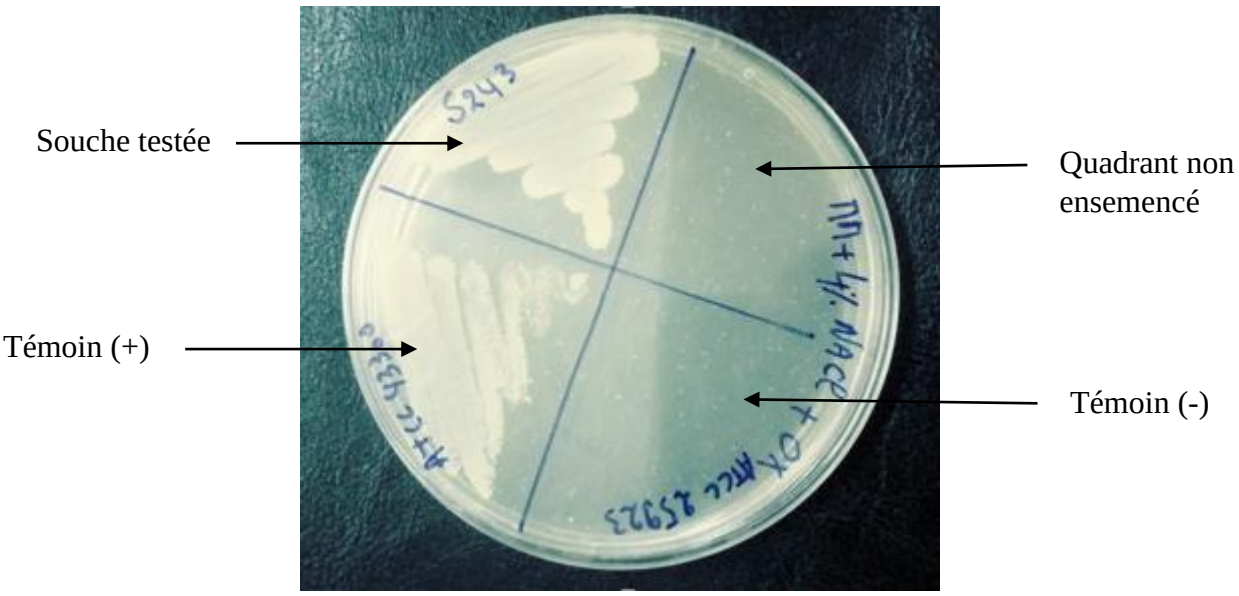

Figure 14 : Test de screening de *S. aureus*

Dix-neuf souches (55.88%) présentent une résistance à un seul antibiotique, quatorze souches (41.17%) expriment une multirésistance pour trois antibiotiques ou plus. Les phénotypes de résistance de souches isolées sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau VI).

Tableau VI : Phénotypes de résistances des souches de *S. aureus* (souches alimentaires)

Souches	Phénotype de résistance	Souches	Phénotype de résistance
S213	P	**S231**	P
S214	P	**S232**	P/TE/N
S215	P	**S233**	P/TE/N
S216	P	**S234**	P
S217	P	**S235**	P/TE/N
S218	P	**S236**	P/TE/N
S219	P	**S237**	P/TE/N
S220	P	**S238**	P
S221	P	**S239**	P/TE/N
S222	P	**S240**	P/MY/CD/SP/E/TE
S223	P	**S241**	P/TE/N
S224	P	**S242**	P/TE/N
S225	P	**S246**	P/E/TE/C/FOX
S227	/	**S247**	P/E/TE/C/FOX
S228	P	**S248**	P/TE/N
S229	P	**S249**	P/E/TE/C/ FOX
S230	P	**S250**	P/E/TE/C/FOX

Au total, trois profils de multirésistance ont été détectés. Nos résultats ne rejoignent pas ceux annoncés par CHAALAL *et al.,* (2018) et AL ASHMAWY *et al.,* (2016), qui ont annoncé que 33.3% et 84.1% des souches étaient multi-résistantes.

En plus des souches d'origine alimentaires, nous nous sommes intéressés à l'étude de la résistance des souches d'origine hospitalière. Pour cela, 15 souches caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été récupérées au sein de quelques établissements hospitaliers de la wilaya de Tizi-Ouzou. Les souches ainsi récupérées ont été soumises à une purification, puis à une identification biochimique, ce qui nous a permis de confirmer 9 souches de *S. aureus*.

Tableau VII : Classification des souches hospitalières de *S. aureus* (n=9) selon leur origine

Origine	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons positifs
Pus	8	6
Prélèvement vaginal	3	2
Infections	4	1
Total	15	9

Les souches que nous avons récupérées sont isolées de pus (pied d'un diabétique infecté, malade hospitalisé qui subit une hémodialyse), de prélèvements vaginaux (femmes enceintes) et de personnes souffrant d'infections post-opératoires.

Tableau VIII : Résistance des souches hospitalières de *S. aureus* (n=9) vis-à-vis les antibiotiques testés

Antibiotiques	Résistantes	Intermédiaires	Sensibles
	Nombre (%)	Nombre (%)	Nombre (%)
MY	0 (0)	0 (0)	9 (100)
P	8 (88,88)	0 (0)	1 (11,11)
CD	0 (0)	1 (11,11)	8 (88,88)
SP	0 (0)	0 (0)	9 (100)
E	1 (11,11)	1 (11,11)	7 (77,77)
VA	1 (11,11)	0 (0)	8 (88,88)
FOX	1 (11.11)	0 (0)	8 (88.88)
OX	2 (22.22)	0 (0)	7 (77.77)
OFX	1 (11,11)	0 (0)	8 (88,88)
CN	1 (11.11)	0 (0)	8 (88.88)
TE	0 (0)	1 (11,11)	8 (88,88)
C	0 (0)	0 (0)	9 (100)
TOB	1 (11.11)	0 (0)	8 (88.88)
N	1 (11,11)	1 (11.11)	7 (77.77)
SXT	1 (11,11)	0 (0)	8 (88,88)

Au regard des résultats obtenus, ces souches hospitalières ont exprimé une forte résistance vis-à-vis la pénicilline G. Notre résultat concorde avec ceux de REBIAHI *et al.*,

(2011), BACHIR-PACHA *et al.*, (2014) et BOUAKHATEM *et al.*, (2015), qui ont annoncé des taux de résistances de 96.81%, 100% et 84.61%. En effet, *S. aureus* a développé des résistances vis-à-vis plusieurs agents antimicrobiens. Plus de 80% des souches de *S. aureus* produisent des pénicillinases (OUIDRI, 2018).

De faibles résistances ont été observées vis-à-vis les aminosides (gentamicine et tobramycine). Des valeurs relativement plus élevées ont été enregistrées par REBIAHI *et al.*, (2011) vis-à-vis la gentamicine et la tobramycine, qui sont de l'ordre de 24.54% et 28.18%, respectivement. Une seule souche (11.11%) est résistante vis-à-vis l'association trimethoprime/sulfamethoxazole. Une valeur plus élevée a été rapportée par BOUKHATEM *et al.*, (2015). Aucune souche n'est résistante vis-à-vis de la vancomycine, la spiramycine, la tétracycline, le chloramphénicol, la clindamycine et de la lincomycine. De faibles résistances ont été attribuées à l'encontre de l'erythromycine, de la cefoxitine et de l'oxacilline. Des résistances relativement élevées vis-à-vis de l'oxacilline et de l'érythromycine ont été rapportées par REBIAHI *et al.*, (2011) et qui sont de 75% et 45.45%.

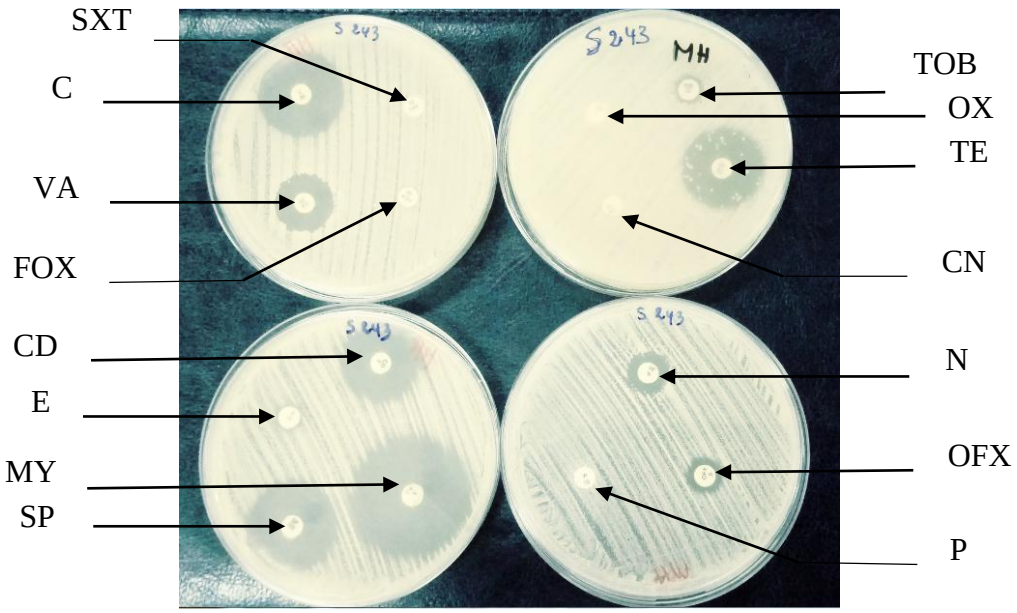

Figure 15 : Profil de résistance d'une souche SARM (souche hospitalière)

Sur les neuf souches hospitalières étudiées, un seul profil de multirésistance est observé (tableau IX). En effet, une seule souche est confirmée comme étant un SARM, ce qui fait une prévalence de 11.1%. Des incidences relativement importantes sont rapportées par ANTRI *et al.* (2010), REBIAHI *et al.*, (2011), BACHIR-PACHA *et al.*, (2014), ALIOUA *et*

al., (2014) et RAMDANI *et al.,* (2016) qui sont de 52%, 48.7%,62.2 %, 33.2% et 22.1%. En effet, les hôpitaux algériens sont confrontés à une augmentation des infections à SARM. Dans une étude réalisée à l'hôpital Mustapha Bacha d'Alger, ANTRI *et al.,* (2010) ont rapporté la diffusion d'un clone nommée ST80-MRSA-SCC mecIV, qui pourrait être d'origine communautaire. Le même clone a été isolé à l'hôpital d'Oran (BEKKOUCHA *et al.,* 2009) et à l'hôpital de Didouche Mourad d'Alger (OUCHENANE *et al.,* 2010). L'augmentation récente des infections à SARM suggère fortement une transmission horizontale entre les patients. Selon RAMDANI *et al.,* (2016), la propagation des infections à SARM au sein des enceintes hospitalières pourrait être due au portage nasal chez les patients à l'admission et aux personnels impliqués dans les soins. En effet, les fosses nasales représentent le site important du portage. D'autres réservoirs existent incluant, la peau, le pharynx, et autres sites. Pour cela, le dépistage de porteurs de SARM à l'admission est considéré comme un facteur déterminant dans la prévention contre les contaminations croisées (OUIDRI, 2018).

Tableau IX : Phénotypes de résistance des souches hospitalières isolées

Souches	Phénotypes
S226	/
S243	P/E/FOX/OX/OFX/CN/TOB/N/SXT
S244	P
S245	P/OX
S251	P
S252	P
S253	P
S254	P
S255	P

Tableau X : Phénotype globale de multirésistance des souches de *S. aureus*

Phénotype	Nombre	Origine
P/TE/N	9	Alimentaire
P/E/TE/C/FOX	4	Alimentaire
P/MY/CD/SP/E/TE	1	Alimentaire
P/E/FOX/OX/OFX/CN/TOB/N/SXT	1	Hospitalière

L'analyse statistique comparative de profil d'antibiorésistance des deux types de souches (alimentaires et hospitalières) en utilisant le test de student à un échantillon unilatéral a montré un profil d'antibiorésistance presque similaire vis-à-vis quatre molécules d'antibiotiques (Pénicilline, Erythromycine, Cefoxitine, et Néomycine), et une faible similitude vis-à-vis la Clindamycine et la Spiramycine. Enfin, aucune similitude de vis-à-vis le reste de molécules. Voir les valeurs des p-values dans l**'annexe f**.

Conclusion

Vivant entre le commensalisme et la pathogénicité, *S. aureus* est bien désigné comme un agent pathogène clinique et épidémiologique. Il a été démontré que le rôle de *S. aureus* comme un pathogène d'origine alimentaire ne doit pas être négligé.

Durant les quatre mois de cette étude, des souches d'origine alimentaires (n=34) et hospitalières ont été isolées et soumises à une caractérisation phénotypique. Les résultats obtenus indiquent que la prévalence de *S. aureus* au sein des produits alimentaires analysés est variable. En effet, elle est plus importante dans les produits laitiers (24%), contrairement aux autres produits analysés (pâtisseries, viandes hachée, sandwichs,….). L'étude de la résistance des isolats montre de fortes résistances vis-à-vis la pénicilline G, que ce soit pour les souches alimentaires et les souches hospitalières. 4 souches SARM ont été confirmées, soit une prévalence de 11.76%.

La dissémination progressive de l'antibiorésistance doit être considérée comme une menace majeure pour l'homme, en absence d'une politique claire et restrictive visant à réduire l'usage des agents antimicrobiens non seulement chez l'homme, mais aussi chez l'animal. Aujourd'hui, plus que jamais, la prévention de la contamination des denrées alimentaires par *S. aureus* repose sur l'instauration de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication, sur l'application de règles dictées par le système HACCP et le contrôle de toutes les procédures post-production.

Pour finir, il faut dire que l'actualisation des données locales sur le profil épidémiologique de ce germe pourra jouer un rôle important dans la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques et dans la détermination d'une stratégie efficace pour le contrôle de toute contamination.

En perspective, les résultats obtenus au cours de notre travail restent préliminaires et méritent d'être complété par d'autre études, c'est-à-dire : élargir le champ d'étude sur plusieurs hôpitaux et sur un très grand échantillon de la population et intégrer l'étude de la clonalité des souches par les méthodes de biologie moléculaire (séquençage, profil de macrorestriction, MLST,…) afin de caractériser les isolats de SARM. D'autres investigations doivent être réalisées afin d'identifier les aliments à forte risque sanitaire et de prévoir l'existence des souches de *S. aureus* multirésistantes. La manipulation sécuritaire des aliments consiste à adopter des comportements très simples : les aliments crus doivent idéalement être séparés des aliments cuits afin d'éviter toute contamination croisée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **AL-ASHMAWY M.A., SALLAM K.I., ABD-ELGHANY S.M., ELHADIDY M.** et **TAMURA T.** (2016). « Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from milk and dairy products ». *Foodborne Pathogens Disease,* **13,** 156–162.
- **ALIOUA M.A., LABID A., AMOURA K., BERTINE M., GACEMI-KIRANE D.** et **DEKHIL, M.** (2014). « Emergence of the European ST80 clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a cause of health care-associated infections in Eastern Algeria ». *Medecine et Maladies Infectieuses, ELSEVIER MASSON,* **3479,** 4.
- **AMIR LH., GARLAND SM.** et **LUMLEY, J.** (2006). « A case-control study of mastitis: nasal carriage of *Staphylococcus aureus* ». *BMC Family Practice,***11, 7** :p57.
- **ANTRI K., ROUZIC N., DAUWALDER O., BOUBEKRI I., BES M., LINA G., VANDENESCH F., TAZIR M., RAMDANI-BOUGUESSA N.** et **ETIENNE J.** (2010). « High prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus clone ST80-IV in hospital and community settings in Algiers ». *Clinical Microbiology and Infection,* **17,** 526–532
- **ARAS Z., AYDIN I.** et **KAV K.** (2012). « Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from caprine mastitis cases ». *Small Ruminant Research,* **102**, 68-73.
- **ARCHAMBAUD M.** 2009. « Les antibiotiques et leur principales familles ». Laboratoire Bactériologie-Hygiène. CHU Rangeueil Toulouse.
- **ARGUDÍN M.A., MENDOZA M.C.** et **RODICIO M.R.** (2010). « Food poisoning and *Staphylococcus aureus* pnterotoxins ». *Toxins,* **2,** 1751-1773.
- **AVRIL, J.L., DABERNAT, H., DENIS, F.** et **MONTEIL, H. (**2000). « Les cocci à gram positif », In «Bactériologie Clinique », *Ellipses*, Paris
- **AVRIL J.L., DABERNAT H.** et **DENIS F.** (2003). « Bactériologie clinique ». *Ellipses,* Paris ; 602p.
- **BACHIR-PACHA M., BOUYOUCEF A., TRIKI-YAMANI R.R., KHALED H., TEGGAR F.** et **TACHET, F.** (2014). « Antibio-resistance study of *Staphylococcus aureus* strains isolated in Algerian hospitals ». *Agriculture Science and Practice,* **3-4,** 91-92.

- **BALABAN N.** et **RASOOLY A.** (2000). « Staphylococcal enterotoxins ». *International Journal of Food Microbiology*, **61**, 1-10.
- **BARZIC A.T.** et **IOAN S.** 2015. « Antimicrobial drugs from basic concepts to complex therapeutic mechanism of polymer systems ». *Edition Concepts Compounds and the Alternatives of Antibacterials.*
- **BASANISI MG., NOBILI G., LA BELLA G., RUSSO R., SPANO G., NORMANO G.** et **LA SALANDRA G.** (2015). **«** Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from sheep and goat cheeses in Southern Italy ». *Small Ruminant Research*, **135**, 17-19.
- **BASANISI MG., LA BELLA G., NOBILI G., FRANCONIERI I.** et **LA SALANDRA, G**. (2017). « Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in South Italy ». *Food Microbiology*, **62**, 141-146.
- **BEKKOUCHA SN., CADY A., GAUTIER P., ITIM F.** et **DONNIO PY.** (2009). « A portrait of *Staphylococcus aureus* from the other side of the Mediterranean Sea: molecular characteristics of isolates from Western Algeria ». *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **28**, 553-555.
- **BELENEVA I.A. (**2011). «Incidence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from the Japan and South China seas». *Marine Pollution Bulletin*, **62,** 382-387.
- **BENNETT RW.** et **LANCETTE GA.** (2001). « *Staphylococcus aureus*. In: Bacteriological Analytical Mannual Available at: http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm, accessed June 1, 2017.
- **BERCHE P., GAILLARD J.** et **SIMONET M.** (1988). « Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie : bactéries des infections humaines ». *Edition Flammarion Medecine Science*. Paris.
- **BILJANA M.S., DINIC M., ORLOVIC J.** et **BABIC T** (2015). « *Staphylococcus aureus*: immunopathogenesis and human immunity ». *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, **32(4),** 243-257.
- **BOISSET S.** et **VANDENESCH F.** (2010). « Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc*, Paris.

- **BOUKHATEM M.N., FERHAT M.A., HADJ MOHAMMED R.** et **LALAOUI A.** (2015). « Prevalence and antibiotic resistance of Staphylococci isolated from Kolea hospital (Algeria) ». *Journal of Fundamental and Applied Science*, 112-9867.
- **BRUN Y.** et **BES M.** (2000). « Précis de bactériologie clinique ». FRENEY, J., RENAUD, F., HANSEN, W. et BOLLET, C. *Edition ESKA*, Paris, p. 783-830.
- **BRUN Y., BES M.** et **VANDENESCH F.** (2003). « Actualités permanentes en bactériologie clinique» -55-.
- **BRUN-BUISSON C.** et **BRUCKER G.** (2013). In « Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline au CHU du Point G de 2007-2009 ». Thèse Doctorat en Pharmacie. Université Des Sciences, Des Techniques Et Des Technologies De Bamako (USTTB).
- **CARFORA V., CAPRIOLI A., MARRI N., SAGRAFOLI D., BOSELLI C., GIACINITI G., GIANGOLINI G., SORBARA L., DOTTARELLI S., BATTISTI A.** et **AMATISE S.** (2015). « Enterotoxin genes, enterotoxin production, and methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products in Central Italy ». *International Dairy Journal*, **42**, 12-15.
- **CARUSO M., LATORRE L., SANTAGADA G., FRACCALVIERI R., MICCOLUPO A., SOTTILI R., PALAZZO L.** et **PARISI A.** (2016). « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in sheep and goat bulk tank milk from Southern Italy ». *Small Ruminant Research*, **135**, 26-31.
- **CASTRO A., SANTOS C., MEIRELES H., SILVA J.** et **TEIXEIRA P**. (2016). « Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community ». *Journal of Infection and Public Health*, **9**, 153-160.
- **CAVALLO J.D., FABRE R., JEHL F., RAPP C.** et **GARRABE E.** (2004). « Bêtalactamines : Beta-lactam antibiotics ». *Edition ELSEVIER SAS*, **1,** 129-202.
- **CHAALAL W., CHAALAL N., BOURAFA N., KIHAL M., DIENE S.M.** et **ROLAIN J.M**. (2018). « Characterization of Staphylococcus aureus isolated from food products in Western Algeria ». *Foodborne Pathogens and Disease*.
- **CHAVAKIS T., WIECHMANN K., PREISSNER K.T.** et **HERRMANN M**. (2005). « *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: The role of bacterial "secreteable expanded repertoire adhesive molecules" (SERAM) in disturbing host defense systems». *Thrombosis and Haemostasis*, **94,** 278–285

- **CLARK N.C., WEIGEL L.M., PATEL J.B.** et **TENOVER F.C.** (2005). « Comparaison of Tn1546-Like elements in Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Michigan and Pennsylvania». *Antimicorbial Agents Chemotherapy*, **49,** 470-472.
- **CORTIMIGLIA C., BIANCHINI V., FRANCO A, CAPRIOLI A., BATTISTI A., COLOMBO L., STRADIOTTO K., VEZZOLI F.** et **LUINI M.** (2015). « Prevalence of *Staphylococcus aureus* in bulk tank milk from dairy goat farms in Northern Italy ». *Journal of Dairy Science*, **98**, 2307-2311.
- **COURVALIN P.** et **LECLERCQ R.** (2012). « Antibiogramme », 3ème édition, *ESKA*, Paris.
- **CUNY C., FRIEDRICH A., KOZYTSKA S., LAYER F., NUBEL U., OHLSEN K., STROMMENGER B., WALTHER B., WIELER L.** et **WITTE W.** (2010). «Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species». *International Journal of Medical Microbiology*, **300,** 109–117.
- **DAVIES J.** et **DAVIES D.** (2010). « Origins and evolution of antibiotic resistance ». *Microbiology Molecular Biology Review*, **74**, 417–33.
- **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.** et **HEUVELINK A.E.** (2009). « Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat ». *International Journal of Food Microbiology*, **134,** 52-56.
- **DE BUYSER M.L.** et **SUTRA L.** (2005). « *Staphylococcus aureus »*, In « Bactériologie alimentaire : Compendium d'hygiène des aliments », 2ème édition, *ECONOMICA*, Paris.
- **DELARRAS C.** (2007). « Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire ». *Tec et Doc*, Lavoisier. Paris.
- **Diekema D.J., Pfaller M.A., Schmitz F.J., SMAYEVSKY J., BELL J., JONES R.N.** et **BEACH, M.** (2013). « Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus :* son rôle dans l'infection du site opératoire ». Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen.
- **DINGES M.M., ORWIN P.M.** et **SCHLIEVERT, P.M.** (2010). « Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc*, Paris.

- **DUMITRESCU O., DAUWALDER O., BOISSET S., REVERDY M.E., TRISTAN A.** et **VANDENESCH F.** (2010). « Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus* ». *Medecine Science (Paris)*, **26,** 943-949.
- **EFSA.** (2014). « Report for 2012 on the results from the monitoring of veterinary medicinal products residues and other substances in live and animal products ». *EFSA supporting publication*, *EN*-**540**, pp65.
- **EMORI T.G.** et **GAYNES R.P.** (2013). « Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus :* son rôle dans l'infection du site opératoire ». Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen.
- **FARNANDEZ L.G.** et **TURNER M.C.** (2017). « The chronicles of incision management: clinical insights, perspectives, and treatment approaches ». Duke University Medical Center and University of Texas Medical Center. Volume1.
- **FASQUELLE R**. (1974). « Eléments de bactériologie médicale ». 9ème édition. *Flammarion.* Paris.
- **FREEMAN COOK L.** et **FREEMAN COOK K.** (2006). « *Staphylococcus aureus* » In « *Staphylococcus aureus* infections». World Health Organization. Chelsea House Publishers.
- **ILBOUDO A.J., SAVADOGO A., BARRO N., OUEDRAOGO M.,** et **TRAORE A.S.** (2009). « Qualité hygiénique de la viande utilisée en restauration collective dans trois restaurants universitaires de Ouagadougou (Burkina Faso) ». *John Libbey Eurotext,* **19(4).**
- **Institut national de la santé et de la recherche médicale (Iserm),** Résistance à l'antibiotiqueshttp://www.inserm.fr/thermatique/microbiologie-et-maladies-infectieuses/dossiers-d-information/ résistance-aux-antibiotiques (page web consultée le 12/10/2015).
- **GARRITY G.M., LILBURN T.G., COLE J.R., HARRISON S.H. EUZÉBY J**. et **TINDALL B.J.** (2007). « Taxonomic outline of bacteria and archaea release 7.7 Part 9- The bacteria: Phylum "*Firmicutes*" Class "*Bacilli*" »
- **GE B., MUKHERJEE S., HSU C.H., DAVIS J.A., TAN T.T.T., YANG Q., ABBOTT J.W., AYERS S.L., YOUNG S.R., CRAREY E.T., WOMACK N.A., ZHAO S.** et **MCDERMOTT P.F.** (2016). « MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. retail meats, 2010-2011 ». *Food Microbiology YFMIC,* 2654.

- **GENESTIER A.L., MICHALLET M.C., PREVOST G., BELLOT G., CHALABREYSSE C., PEYROL S., THIVOLET F., ETIENNE J., LINA G., VALLETTE F.M., VANDENESCH F.** et **GENESTIER L.** (2010). « Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc*, Paris.
- **GIACINITI G., CARFORA V., CAPRIOLI A., SAGRAFOLI D., MARRI N., GIANGOLINI G., AMORUSO R., LURESCIA M., STRAVINO F., DOTTARELLI S., FELTRIN F., FRANCO A., AMATISTE S.** et **BATTISTI A.** (2017). « Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carring *mecA* or *mecC* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in dairy sheep farms in central Italy ». *Journal of Dairy Science*, **100**, 1-7.
- **GOLDSTEIN F.W.** (2012). « Sulfamides et Trimethoprime », In « Antibiogramme », 3ème édition, *ESKA*, Paris.
- **GRAHAM PL., LIN SX.** et **LARSON EL.** (2006). « A U.S. population-based of *Staphylococcus aureus* colonization ». *Annals of Internal Medecine,* **144(5)**, 318-325
- **HANNEKINE J.A., OSTYN A., GUILLIER F., HERBIN S., PRUFER A.L.,** et **DRAGACCI S.** (2010). « How should staphylococcal food poinsoning outbreaks be characterized? ». *Toxins Review*, **2,** 2106-2116.
- **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),** e10741.
- **JAMALI H., PAYDAR M., RADMEHR B., ISMAIL S.** et **DADRASNIA A.** (2015). « Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products ». *Food Control*, **54**, 383-388.
- **JARRAUD S., PEYRAT M.A., LIM A., TRISTAN A., BES M., MOUGEL C., ETIENNE J., VANDENESCH F., BONNEVILLE M.** et **LINA G**. (2001). « egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus* ». *Journal of Immunology*, **166,** 669–677.
- **JOHLER S., MACORI G., BELLIO A., ACUTIS PL., GALLINA S.** et **DECASTELLI L.** (2017). « Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated along the raw milk cheese production process in artaisan diary in Italy ». *Journal of Dairy Science*, **101(4)**, 2915-2920

- **KAMAL RM., BAYOUMI MA.** et **ABD EL AAL S. F. A.** (2013). « MRSA detection in raw milk; some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey ». *Food Control*, **33**, 49-53.
- **KHALIFA S.M., ABDEL-RAHMAN H.S.H., ABDEL GALIL KH., HABIB E.** et **BARWA R.** (2014). « Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* in meat and meat products marketed in Mansoura, Egypt ». *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, **23(3).**
- **LAUPLAND K.B.** et **CONLY J.M.** (2013). « prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus :* son rôle dans l'infection du site opératoire ». Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen.
- **LECLERQ R.** (2002). « Résistance des *Staphylocoques* aux antibiotiques». Editions *Scientifiques et Médicales Elsevier SAS,* **21,** 375-383.
- **LECLERQ R.** (2002). « Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications». *Clinical Infectious Diseases,* **15,** 482-492.
- **LECLERQ R.** et **DAUREL C.** (2008). « L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus* ». *Elsevier Masson SAS*, N°407.
- **LEE L.Y., MIYAMOTO Y.J., MCINTYRE B.W., HOOK M., MCCREA K.W., MCDEVITT D.** et **BROWN E.L.** (2002). « The *Staphylococcus aureus* map protein is an immunomodulator that interferes with T cell-mediated responses». *Journal of Clinical Investigation,* **110,** 1461–1471.
- **LEFEVRE A., RUIMY R.,** et **ANDREMONT A.** (2012). « Recherche des souches de *Staphylococcus aureus* et *pseudintermedius* Résistant à la Méticilline 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.
- **LE LOIR Y., BARON F.** et **GAUTIER M.** (2003). « *Staphylococcus aureus* and food poisoning ». *Genetic and Molecular Research,* **2,** 63-76.
- **LE LOIR Y.** et **GAUTIER M.** (2010). « Monographie de la microbiologie : *Staphylococcus aureus* ». *Tec et Doc*, Lavoisier, Paris.
- **LE MINOR L.** et **VERON M.** (1982). « Bactériologie Médicale », 1ère édition, *Flammarion*, Paris.

- **LEYRAL G.** et **VIERLING E.** (2007). « Microbiologie et Toxicologie des Aliments : Hygiène et Sécurité Alimentaire », 4ème édition, Paris.
- **LONG J.P., HART J., ALBERS W.** et **KARPAL F.A.** (2010). « Les Facteurs de Virulence Autres que les Entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc*, Paris.
- **LOWY F.D.** (2003). « Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*». *The Journal of Clinical Investigation*, **111 (9),** 1265-1273.
- **LOZANO C., LOPEZ M., GOMEZ-SANZ E., RUIZ-LARREA F., TORRES C.** et **ZARAZAGA M.** (2009). « Detection of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* ST398 in food samples of animal origin in Spain ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **64(6),** 1325-1326
- **LETERTRE C., PERELLE S., DILASSER F.** et **FACH P.** (2003). « Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus* ». *Journal of Applied Microbiology*, **95,** 38–43.
- **MA M.Y., XU J., Yu N.,** et **HUANG G.M.** (2013). « Analysis of drug resistance of *Acinetobacter baumannii* and its related factors in ICU ». **25 (11),** 686-689.
- **MADIGAN, M.** et **MARTINKO, J.** (2007). « Biologie des microorganismes », 11ème édition, *BROCK*, Paris.
- **MAINARDI J.L.** (2015). « Mécanisme d'action et de résistance aux antibiotiques/ session interactive autour de l'antibiogramme». Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges POMPIDOU et Faculté de Medecine Paris René DESCARTES.
- **MC COMICK J.K., YARWOOD J.W.** et **SCHLIEVERT P.M.** (2001). « Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update ». *Annual Review of Microbiology*, **55,** 77-104.
- **MORONI P., PISONI G., ANTONINI M., VILLA R., BOETTCHER P.** et **CARLI S.** (2006). « Short communication: Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy ». *Journal of Dairy Science*, **89**, 2973-2976
- **NAUCIEL C.** et **VILDÉ J.L.** (2005). « Bactériologie Médicale », 2ème édition, *Masson*, Paris.
- **NORMANO G., LA SALANDRA G., DAMBROSIO A., QUAGLIA NC., CORRENTE M., PARISI A., SANTAGADA G., FIRINU A., CRISETTI E.** et

CELANO GV. (2007). **«** Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products ». *International Journal of Food Microbiology*, **115**, 290-296.

- **OMOE K., HU D.L., TAKAHASHI-OMOE H., NAKANE A.** et **SHINAGAWA K.** (2003). « Identification and characterization of a new staphylococcal enterotoxin-related putative toxin encoded by two kinds of plasmids ». *Infection and Immunity*, **71,** 6088–6094.
- **OMOE K., IMANISHI K., HU D.L., KATO H., FUGANE Y., ABE Y., HAMAOKA S., WATANABE Y., NAKANE A., UCHIYAMA T.** et **SHINAGAWA K**. (2005). « Characterization of novel staphylococcal enterotoxin-like toxin type P ». *Infection and Immunity*, **73,** 5540–5546.
- **ONO H.K., OMOE K., IMANISHI K., IWAKABE Y., HU D.L., KATO H., SAITO N., NAKANE A., UCHIYAMA T.** et **SHINAGAWA K.** (2008). « Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins types S and T ». *Infection and Immunity*, **76,** 4999–5005.
- **ORWIN P.M., LEUNG D.Y., DONAHUE H.L., NOVICK R.P.** et **SCHLIEVERT P.M.** (2001). « Biochemical and Biological properties of staphylococcal enterotoxin k ». *Infection and Immunity*, **69,** 360–366.
- **ORWIN P.M., LEUNG D.Y.M., TRIPP T.J., BOHACH G.A., EARHART C.A., OHLENDORF D.H.** et **SCHLIEVERT P.M.** (2002). « Characterization of a novel staphylococcal enterotoxin-like superantigen, a member of the group V subfamily of pyrogenic toxins ». *Biochemistry*, **41,** 14033–14040.
- **OUCHENANE Z., SMATI F., ROLAIN JM.** et **RAOULT D.** (2010). « Molecular characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates in Algeria. *Pathology and Biology*, **59**,129- 132.
- **OUIDRI M.A.** (2018). « Screening of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during admission of patients to Frantz Fanon Hospital, Blida, Algeria ». *New Microbe and New Infection*, *ELSEVIER*, **23,** 52–60
- **PAPADOPOULOS P., PAPADOPOULOS T., ANGELIDIS A.S., BOUKOUVALA E., ZDRAGAS A., PAPA A., HADJICHRISTODOULOU C.** et **SERGELIDIS D.** (2018). « Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) along the production chain of dairy products in north-western Greece ». *Food Microbiology* **69**, 43-50.

- **PARKER C.M., KUTSOGIANNIS J., MUSCEDERE J., COOK D., DODEK P., DAY A.G.** et **HEYLAND D.K.** (2008). « Ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant organisms or *Pseudomonas aeruginosa*: prevalence, incidence, risk factors, and outcomes ». *Journal of Clinical Care*, **23 (1),** 18-26.
- **PEREIRA V., LOPES C., CASTRO A., SILVA J., GIBBS P.** et **TEIXEIRA P.** (2009). « Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal ». *Food Microbiology*, **26**, 278-282.
- **PETINKI E.** et **SPILLIOPOULOU.** (2012). « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food chain animals: impacts of human contacts ». *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **18**, 626-634.
- **QUINCAMPOIX J.C.** et **MAINARDI J.L.** (2001). « Mécanismes de résistance des cocci à gram positif ». *Editions Scientifiques et Médicales ELSEVIER SAS*, **10,** 267-275.
- **RAD J.S., ALFATEMI S.M.H., RAD M.S.** et **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.
- **RAMDANI-BOUGUESSA N., BES M., MEUGNIER H., FOREY F., REVERDY M.E., LINA G., VANDENESCH F., TAZIR M.** et **ETIENNE, J.** (2006). « Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the panton-valentine leukocidin genes in an Algiers hospital ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50 (3),** 1083-1085.
- **REBIAHI SA., ABDELOUAHID DE., RAHMOUN M., ABDELALI S.** et **AZZAOUI H.** (2011). « Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West-Algeria) ». *Médecine et Maladies Infectieuses*, **41**, 646-665.
- **REMDANI-BOUGUESSA N., BES M., MEUGNIER H., FOREY F., REVERDY M.E., LINA G.** et **VANDENESCH F.** (2016). « Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the panton-valentin leukocidin genes in an Algiers hospital ». *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, **50(3),** 1083-1085.

- **RHEE CH.** et **WOO GJ.** (2010) « Emergence and characterization of foodborne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Korea ». *Journal of Food Protection*, **73,** 2285–2290.
- **ROBERT D.** (2013). « *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive ». Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université d'ANGERS Des Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé, France.
- **ROLA JG., KORPYSA-DZIRBA A., CZUBKOWSKA A.** et **OSEK J.** (2015a). « Prevalence of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci recovered from cow milk ». *Journal of Dairy Science*, **98**, 4273-4278.
- **ROLA J., SOSNOWSKI M., OSTOROWSKA M.** et **OSEK J.** (2015b). « Prevalence and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci isolated from raw goat milk ». *Small Ruminant Research,* **123**, 124-128.
- **SEYDI M.G.** et **DIOUF F.** (1993). « Qualité hygiénique des aliments vendus dans la voie publique à Dakar et sa banlieue ». *Medecine et Maladies Infectieuses*, **23,** 913-918.
- **SHARIFZADEH A., HAJSHARIFI S.M.** et **GHASEMI D.P.** (2016). « Evaluation of microbial contamination and chemical qualities of cream-filled pastries in confectioneries of Chaharmahal Va Bakhtiari province (Southern Iran) ». *Centers of disease Control and Prevention*, **7(6),** 346-350.
- **SHAWISH R.R.** et **AL-HUMAM N.A.** (2016). « Contamination of beef products with Staphylococcal enterotoxins in Egypt and Saudi Arabia ». *GMS Hygiene and Infection Control,* **11:** Doc8.
- **SMITH A.J., JACKSON M.S.** et **BAGG J**. (2001). « The ecology of staphylococcus species in the oral cavity ». *Journal of Medecine of Microbiology*, **50**, p940-946.
- **SOBIRAJ A.** et **FAILING K.** (2010) « Prophylaxie et moyen de lutte », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc*, Paris.
- **SONG M., BAI Y., XU J., CARTER M.Q., SHI C.** et **SHI X**. (2015). « Genetic diversity and virulence potential of Staphylococcus aureus isolates from raw and processed food commodities in Shanghai ». *International Journal of Food Microbiology*, **195**, 1–8.

- **SPEER B.S., SHOEMAKER N.B.** et **SALYERS A.A.** (1992). « Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical Significance ». *Clinical Microbiology Reviews*, **5 (5),** 387-399.
- **SPICER W.J.** 2003. « Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie ». Edition *Flammarion Medecine Sciences*. Paris.
- **SREDNIK ME., USONGO V., LEPINE S., JANVIER X., ARCHAMBAULT M.** et **GENTILINI ER.** (2018). « Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from mastitis bovine milk in Argentina ». *Journal of Dairy Research,* **85,** 57-63
- **STEPHEN H. GILLESPIE** et **HAWKEY P. M.** (2006). « Principles and Practice of Clinical Bacteriology ». 2ème édition. Wiley Office England, pp. 586.
- **TAN SL., LEE HY.** et **MAHYUDIN NA.** (2014). « Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from food handler's hands ». *Food Control,* **44**, 2013-207.
- **TAPALIYA D., FORSHEY B.M., KADARIYA J., QUICK M.K., FARINA S., O'BRIEN A., NIAR R., NWORIE A., HANSON B., KATES A., WARDYN S.** et **SMITH T.C.** (2017). « Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in commercially available meat over a one-year period in Lowa, USA ». *Food Microbiology*, **65,** 122-129.
- **THOMAS D.Y., JARRAUD S., LEMERCIER B., COZON G., ECHASSERIEAU K., ETIENNE J., GOUGEON M.L., LINA G.** et **VANDENESCH F.** (2006). « Staphylococcal enterotoxin-like toxins U2 and V, two new staphylococcal superantigens arising from recombination within the enterotoxin gene cluster ». *Infection and Immunity*, **74,** 4724–4734.
- **VIEU G.** (2014). « Diversité génétique des isolats de *S. aureus* producteur de toxine de panton valentine isolés au CHU de Toulouse ». Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Toulouse III, PAUL SABATIER, France.
- **VISCIANO P., POMILIO F., TOFALO R., SACCHINI L., SALETTI MA., TIERI E., SCHIRONE M.** et **SUZZI G.** (2014). « Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cow farms ». *Food Control*, **46**, 532-538.
- **WASTON K., CARVILLE K., BOWMAN J., JACOBY P., RILEY TV., LEACH AJ.** et **LEHMANN D**. (2006). « Upper respiratory tract bacterial carriage in aboriginal and non-aboriginal children in a semi-arid area of Western Australia ». *Pediatry infectious Diseases Journal*, **25,** 782-790.

- **WEEMS J.J. JR.** (2001). « The many faces of *Staphylococcus aureus* infection recognizing and managing its life threatening manifestations ». *Postgraduate Medecine*, **110(4),** 24-26, 29-31, 35-26.
- **WEESE JS., REID-SMITH R., ROUSSEAU J.** et **AVERY B.** (2010). « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of retail pork». *The Canadian Veterinary Journal*, **51(7),** 749-752
- **Williams RE.** (1963). « Healthy carriage of Staphylococcus aureus: its prevalence and importance ». *Bacteriology Review*, **27,** 56-71.
- **YANG S., PEI X., YANG D., ZHANG H., CHEN Q., CHUI H., QIAO X., HUANG Y.** et **LIU Q.,** (2016). « Microbial contamination in bulk ready-to-eat meat products of China ». *Food Control*, JFCO 6041.

ANNEXES

Annexes a : Préparation et composition des milieux de culture utilisés

- **Eau peptonée tamponnée**

Composition en g/l
Tryptone…….10
Chlorure sodique……5.0

PH du milieu prêt à l'emploi 7.2 +/- 0.2 à 25°C

Préparation : mettre en suspension 15g du milieu dans 1l d'eau distillée. Faire dissoudre le milieu complétement. Répartir dans des récipients appropriés puis stériliser en autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- **Gélose de Baird Parker**

Composition en g/950ml
Tryptone……10
Extrait de viande……5
Extrait de levure…….1
Pyruvate de sodium……....10
Glycine……...12
Chlorure de lithium……5
Agar agar bactériologique……..15

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C 7.2 +/- 0.2

Préparation : mettre en suspension 58g de milieu BP déshydraté dans 950ml d'eau distillée. Porter à ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète, puis répartir en flacons en raison de 95ml par flacon. Stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

- Préparation du jaune d'œuf

- Utiliser l'œuf frais de poule dont la coquille n'est pas endommagée
- Nettoyer les œufs à l'aide d'un torchant mouillé
- Aseptiquement, casser chaque œuf et séparer le blanc du jaune
- Recueillir les jaunes dans un Becher stérile contenant 4 fois leur volume d'eau distillée
- Homogénéiser fermement
- Chauffer le mélange à 45-47°C pendant 2 heures
- Entreposer au réfrigérateur pendant 24 heures pour laisser le temps de formation d'un précipité
- Recueillir le surnageant stérilement constituant l'émulsion

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
Agar……...15

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

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

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.

- **Gélose au sang**

Composition en g/l
Mélange spécial de peptones…….23
Amidon……..1
NaCl……...5
Agar……...10
Sang humain……50ml

Ph final = 7.3

Préparation :

- Liquéfier la base au bain marie bouillant
- Attendre son refroidissement à 45°C (milieu en surfusion)

- Y ajouter stérilement, à l'aide d'une pipette Pasteur une goutte (0.05ml) la quantité de sang nécessaire pour obtenir une concentration finale en sang de 5%

NB : le sang ne doit pas être sorti au dernier moment du réfrigérateur, sinon il y a prise en masse du milieu au moment de l'addition du sang.

- Homogénéiser en faisant rouler le tube entre les mains, en évitant la formation de bulles.
- Couler les boites de Pétri en évitant la formation de bulles

Mode opératoire de la coloration de Gram

Préparation des frottis :

- Préparer une lame stérile dégraissée à l'alcool
- Mettre une goutte d'eau distillée stérile sur la lame
- Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur, la délayer dans la goutte puis l'étaler sur la lame
- Fixation du frottis à la chaleur

Coloration :

- Recouvrir la lame avec la solution de violet de Gentiane pendant 1 minute
- Déverser la solution pour éliminer l'excès du colorant
- Recouvrir de nouveau la lame avec la solution de Lugol pendant 2x45 secondes
- Décolorer par l'alcool goutte à goutte jusqu'à l'apparition de la première goutte qui tombe incolore 30 secondes
- Laver à l'eau immédiatement pour arrêter l'action de l'alcool
- Recouvrir la lame de la Fushine pendant 1 minute
- Rincer à l'eau
- Sécher la lame légèrement devant le bec bunsen
- Observer au microscope optique avec l'objectif à immersion (Gx1000)

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

	Catalase	Coagulase	DNase	VP	NR	Code
P29Gn (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S213
P29Gn (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S214
P29Gn (3)	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P33Gn (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S218
P33Gn (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S219
P33Gn (3)	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P33Gn (4)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S215
P33Gn (5)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S220
P34Gn (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S216
P34Gn (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S221
P34Gn (3)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S217
P34Gn (4)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S222
P66Gn (1)	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P66Gn (2)	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P66Gn (3)	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P66Gn (4)	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P66Gn (5)	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P67Gn (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S223
P67Gn (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S224
P74Gn (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S225
Pus 1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S226
P86LC (1)	(+)	(-)	(+)	(-)	NT	/
P86LC (2)	(+)	(-)	(-)	(-)	NT	/
P86LC (3)	(+)	(-)	(-)	(-)	NT	/
P88Lben (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S227
P88Lben (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S228
P88Lben (3)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S229
P89LC (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S230
P89LC (2)	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P89LC (3)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S231
P90Lben (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S232
P90Lben (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S233
P90Lben (3)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S234
P90Lben (4)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S235
P90Lben (5)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S236
P93Beurre (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S237
P93Beurre (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S238
P93Beurre (3)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S239
Fromage	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/

Suite de l'**annexe b** :

P93Beurre (4)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S240
P92LC (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S241
P92LC (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S242
P94LV (1)	(+)	(-)	(+)	NT	NT	/
P94LV (2)	(+)	(-)	NT	NT	NT	/
P94LV (3)	(+)	(-)	NT	NT	NT	/
P94LV (4)	(+)	(-)	NT	NT	NT	/
Pus 2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S243
PV 1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S244
PV 2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S245
Pus 3	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
P97LC (1)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S246
P97LC (2)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S247
P97LC (3)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S248
P97LC (4)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S249
P97LC (5)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S250
Infection 1	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
Pus 4	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S251
Pus 5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S252
PV 3	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
Pus 6	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S253
Pus 7	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S254
Infection 2	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
Infection 3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	S255
Pus 8	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/
Infection 4	(+)	(-)	(-)	NT	NT	/

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

P, Prélèvement ; **Gn,** Génoise ; **LC,** Lait caillé ; **LV,** Lait de vache ; **PV,** Prélèvement vaginal

Annexes c : 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	≥ 29	-	≤ 28	CLSI 2017
	Oxacilline	≥ 13	11-12	≤ 10	CLSI 2007
	Céfoxitine	≥ 22	-	≤ 21	CLSI 2017
Aminoglycoside	Gentamycine	≥ 15	13-14	≤ 12	CLSI 2017
	Néomycine	≥ 17	-	< 15	CASFM 2013
	Tobramycine	≥ 15	13-14	≤ 12	CLSI 2017
Macrolides	Erythromycine	≥ 23	14-22	≤ 13	CLSI 2017
	Spiramycine	≥ 20	-	< 20	CASFM 2017
Lincosamides	Lincomycine	≥ 21	-	< 17	CASFM 2017
	Clindamycine	≥ 21	15-20	≤ 14	CLSI 2017
Glycopeptide	Vancomycine	≥ 15	-	-	CLSI 2007
Tétracyclines	Tétracycline	≥ 19	15-18	≤ 14	CLSI 2017
Quinolones	Ofloxacine	≥ 18	15-17	≤ 14	CLSI 2017
Phénicols	Chloramphénicol	≥ 18	13-17	≤ 12	CLSI 2017
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Trimétoprim-Sulfamethoxazole	≥ 16	11-15	≤ 10	CLSI 2017

Annexe d : Résultats détaillés de l'antibiogramme pour chaque souche de *S. aureus* isolée (Souches alimentaires et hospitalières)

	MY	P	CD	SP	E	VA	FOX	OX	OFX	CN	TE	C	TOB	N	SXT
S213	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S214	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S215	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S216	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S217	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S218	S	R	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S219	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S220	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S221	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
S222	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S223	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S224	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S225	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S226	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S227	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S228	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
S229	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S230	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S231	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S232	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
S233	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
S234	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S235	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
S236	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
S237	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
S238	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S239	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
S240	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
S241	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
S242	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
S243	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R
S244	S	R	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
S245	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S

Suite **annexe d** :

S246	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S
S247	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S
S248	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
S249	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S
S250	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S
S251	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S252	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S253	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
S254	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S255	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Souches hospitalières

Annexe e : Valeurs des diamètres d'inhibition (en mm) des souches de *S. aureus* isolées (alimentaires et hospitalières)

	MY	P	CD	SP	E	VA	FOX	OX	OFX	CN	TE	C	TOB	N	SXT
S213	32	22	23	24	26	19	28	24	24	20	29	25	23	17	26
S214	31	12	23	22	25	16	28	29	24	19	30	25	21	17	24
S215	30	13	25	23	25	18	27	18	23	21	31	29	24	19	24
S216	32	13	25	22	25	19	28	18	24	20	29	23	20	19	24
S217	32	15	25	24	26	17	28	18	24	19	28	23	22	19	25
S218	28	11	18	22	22	16	25	18	22	20	26	22	20	27	22
S219	30	12	22	21	25	16	26	18	27	19	27	25	22	17	25
S220	32	25	26	22	22	18	24	15	24	23	25	18	23	20	29
S221	33	13	24	22	24	17	30	18	25	18	18	24	22	17	24
S222	30	13	22	23	25	16	27	16	23	19	25	23	20	17	24
S223	37	11	27	25	28	20	26	20	30	20	32	25	20	19	25
S224	34	12	25	23	26	17	25	17	24	20	26	25	22	19	22
S225	30	13	22	22	17	18	25	18	26	21	29	25	23	19	23
S226	30	45	23	28	28	11	30	23	23	20	26	25	24	18	26
S227	31	40	24	25	26	28	27	29	26	22	33	25	20	21	25
S228	30	28	21	22	23	21	29	19	23	18	18	23	21	18	19
S229	32	22	23	22	25	17	30	22	26	20	30	25	22	20	25
S230	32	16	22	24	26	17	28	21	26	21	29	26	21	19	19
S231	30	15	22	23	28	18	26	20	26	19	28	25	22	19	28
S232	30	11	20	20	25	16	27	16	25	21	11	25	22	10	27
S233	29	12	23	21	25	18	23	18	24	21	11	26	23	10	24
S234	31	37	22	22	27	18	28	22	26	21	28	26	23	18	27
S235	33	13	23	22	25	18	26	16	26	20	10	26	22	10	27
S236	32	12	24	23	27	18	24	16	25	20	10	25	21	11	26
S237	31	11	24	23	26	17	24	15	24	20	10	25	21	11	26
S238	32	00	23	24	27	16	28	20	25	21	25	25	24	17	21
S239	33	00	25	26	27	17	27	18	25	21	11	25	21	10	21
S240	00	00	00	00	00	16	26	17	25	18	09	21	20	17	24
S241	29	14	21	22	25	18	28	18	25	20	08	25	24	19	21
S242	31	13	22	23	27	18	26	16	27	21	10	25	22	11	27
S243	35	00	25	26	00	18	00	00	09	00	24	26	09	12	00
S244	29	10	20	20	22	17	31	14	23	17	25	24	19	16	25
S245	35	24	25	25	26	19	24	10	22	26	30	26	29	25	27

Suite de l'**annexe e** :

S246	30	13	21	22	00	16	17	15	25	19	10	00	20	17	26
S247	31	14	26	26	00	19	17	13	26	19	11	00	20	18	26
S248	30	13	20	22	24	17	26	17	25	19	10	24	22	12	25
S249	29	13	21	23	00	18	16	13	24	17	10	00	21	18	25
S250	29	13	23	21	00	17	17	15	25	19	09	00	19	17	27
S251	34	00	26	24	30	17	25	21	26	22	27	22	22	19	24
S252	30	00	25	25	26	18	25	30	25	26	25	26	25	22	33
S253	33	00	22	26	25	18	25	25	30	30	17	25	30	28	25
S254	31	00	30	25	28	19	30	23	26	25	30	26	30	25	28
S255	33	00	25	22	25	18	30	15	26	26	26	30	30	24	25

Souches hospitalières

Annexe f : Résultats des p-values du test statistique de student à un échantillon unilatéral concernant la comparaison d'antibiorésistance des souches alimentaires aux souches hospitalières

	Souches alimentaires	**Souches hospitalières**
Antibiotiques	**P-value**	**P-value**
MY	1	1
P	**$6.55x10^{-15}$**	**$7.57x10^{-5}$**
CD	1	1
SP	0.9971	0.9998
E	1	0.9955
VA	1	0.9872
FOX	0.9997	0.8439
OX	1	0.9841
OFX	1	0.999
CN	1	0.9933
TE	1	1
C	1	1
TOB	1	0.9996
N	0.9996	0.9746
SXT	1	0.999