

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



**Département de Biochimie et Microbiologie**

***Mémoire de fin d'étude***

**En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques**

**Option : Microbiologie Appliquée**

**Portage de *Staphylococcus aureus* chez les bovins  
laitiers, éleveurs ainsi que le lait produit de ces  
élevages laitiers et la résistance des isolats aux  
antibiotiques**

**(Région de Tizirt, Tizi Ouzou).**

Présenté par :

*M<sup>elle</sup> Medini lamia*

*M<sup>elle</sup> Mekaoui kamilia*

Soutenu le 10/07/2019 devant le jury :

- **Président** : *M<sup>lle</sup> MEGUENNI. N.*, MCB à l'UMMTO
- **Encadrant** : *M<sup>r</sup> TITOUCHE. Y.*, MCB à l'UMMTO
- **Examinateur** : *M<sup>r</sup> SEBBANE. H.*, MAA à l'UMMTO
- **Examinatrice** : *Mme Ben Ahmed Djilali. A.*, MCA à l'UMMTO

***Promotion : 2018/2019***

# Remerciements

Nous tenons à exprimer nos vifs respects et nos forts remerciements pour notre encadrement Mr TITOUCHE YACINE qui nous a soutenu, orienté, accompagné durant tout au long de notre étude, on le remercie également pour sa patience, sa disponibilité ainsi que le temps qu'il a consacré à nous apporter les outils indispensables à la conduite de notre mémoire. Mr on ne vous remerciera jamais assez.

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

Mr SEBBANE H. et Mme BEN AHMED DJILALI A., d'avoir accepté d'être examinateurs dans notre jury.

A Mr METAHRI et sa famille pour leurs aide durant la réalisation de ce travail.

A toute personne qui nous a aidé de près ou de loin.

# Dédicaces

Dieu merci,

Je dédie ce modeste travail aux êtres les plus chers à mon cœur : mes parents qui m'ont doté d'une éducation digne, Qui m'ont soutenu durant toutes ma vie, qui m'ont aidé durant mes années d'études, qui m'ont appris à aimer le travail et le bon comportement, je souhaite prouver mon grand remerciement, qui ne sera jamais suffisant à eux et que j'espère les rendre fière par ce travail.

A mon frère Mohammed et ma sœur Yasmine pour leurs soutiens.

A ma famille paternelle dont mes chères grands parents Dida Idjouher et Djedi Si Mohammed Ameziane, oncles et tantes et tous mes cousins et cousines.

A ma famille maternelle dont mes chères grands parents Dida Roukaya et Djedi Mohammed, oncles et tantes et tous les cousins et cousines. Et à la mémoire de mon oncle Mohammed Amezian Que Dieu bénisse son âme.

A ma belle famille, et plus spécialement mon fiancé qui ma beaucoup soutenu Madjid.

A ma copine et binôme kamilia.

A toutes mes copines, amies et collègues du laboratoire.

**Lamia,**

# Dédicaces

Dieu merci,

Je dédie ce travail à mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,  
leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A ma sœur Lilia pour sa gentillesse,

A toute ma famille pour leurs précieux encouragements et leur soutien moral,

A ma chère copine et binôme Lamia,

A ma meilleure et chère amie Melissa,

Et à toutes mes copines, amis et aux collègues du laboratoire.

**Kamilia,**

# Sommaire

Liste des abréviations.....	(i)
Liste des figures.....	(ii)
Liste des tableaux.....	(iii)
Introduction.....	1

## Synthèse bibliographique

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

1. Historique.....	3
2. Taxonomie.....	3
3. Habitat.....	4
4. Epidémiologie.....	4
5. Critères d'identification de <i>S. aureus</i> .....	5
5.1. Caractères morphologiques.....	5
5.2. Caractères cultureux.....	6
5.3. Caractères biochimiques.....	6

### Chapitre II : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*

1. Composants de surfaces.....	8
1.1. Constituants de la paroi.....	8
1.2. Protéines de surface.....	9
2. Substances élaborées par <i>S. aureus</i> .....	10
2.1. Enzymes.....	10
2.2. Toxines.....	11
3. Infections staphylococciques.....	15

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

1. Historique.....	17
2. Définition.....	17

3.	Principales familles d'antibiotiques et leurs modes d'action .....	17
3.1.	Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne .....	17
3.2.	Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines .....	17
3.3.	Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique .....	17
3.4.	Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique .....	18
4.	Principaux modes de résistance des bactéries .....	18
4.1.	Phénomène d'imperméabilité .....	18
4.2.	Phénomène d'efflux .....	19
4.3.	Défaut d'affinité .....	19
4.4.	Résistance par modification enzymatique.....	19
5.	Modes d'action des antibiotiques et mécanismes de résistance chez <i>S. aureus</i> .....	19
5.1.	Résistance aux $\beta$ -lactamines .....	19
5.2.	Résistance aux glycopeptides.....	20
5.3.	Résistance aux aminoglycosides.....	21
5.4.	Résistance aux macrolides, lincosamines et streptogramines (MLS).....	21
5.5.	Résistance aux quinolones .....	22
5.6.	Résistance aux tétracyclines.....	22
5.7.	Résistance aux rifampicines.....	22
5.8.	Résistance aux sulfamides.....	23
5.9.	Résistance à la méticilline (SARM).....	23

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : Matériel et méthodes**

1.	Matériel.....	26
2.	Méthodes.....	27
2.1.	Objectifs de l'étude.....	27
2.2.	Durée et lieu de l'étude.....	27
2.3.	Types et nature de prélèvements .....	27
2.4.	Transport et conservation des échantillons.....	29
3.	Analyse des échantillons.....	30
4.	Antibiorésistance des souches isolées.....	30
4.1.	Technique de l'antibiogramme.....	31

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

1. Résultats .....	32
1.1. Prévalence de <i>S. aureus</i> .....	32
1.2. Antibiorésistance des souches isolées .....	33
1.3. Profils de multi-résistances des souches isolées .....	35
1.4. Fréquence d'isolement des SARM.....	35
2. Discussion .....	36
Conclusion.....	40

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## Liste des abréviations (i)

**ADH** : Arginine dihydrolase

**Agr**: Accessory gene regulator

**ATCC**: American Type Culture Collection

**Bap** : Biofilm associated proteins

**BH**: Brain Heart Infusion

**BHIB**: Brain Heart Infusion Broth

**BP** : Baird Parker

**CA-MRSA**: Community-acquired methicillin-resistant *S. aureus*

**CASF** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute

**CPA** : Cellule Présentatrice d'Antigène

**Eap** : Extracellular adherence protein

**Efb**: Extracellular fibrinogen binding protein

**Emp** : Extracellular matrix binding protein

**Erm**: Erythromycin ribosome methylase

**IgG** : l'immunoglobuline G

**LPV** : La leucocidine de panton et valentin

**MDR** : Multiple-drug-resistance

**MLS** : Macrolides, lincosamides et streptogramines

**MLST** : Multi Locus Sequence Typing

**MSCRAMM** : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules

**NAG** : N- acétylglucosamine

**NAM** : N-acétylmuramique

**PAB** : Acide para-amino-benzoïque

**PCR**: polymerase chain reaction

**PFGE**: Pulsed-field gel electrophoresis

**PLP** : Protéines liant les pénicillines

**SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

**SASM** : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline

**SDR** : Specific drug-resistance

**SE** : Staphylococcal enterotoxin

**SEI** : Staphylococcal enterotoxin-like toxin

**SERAM** : Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules

**TSST** : Toxic Shock Syndrome Toxin

**TSYEA**: Trypton Soja Yeast Extract Agar

**VP** : Voges Proskauer

**VRSA** : *S. aureus* résistant à la vancomycine

## Liste des figures (ii)

<b>Figure01</b> : Observation de <i>S. aureus</i> sous microscope électronique à balayage au Gx34000	05
<b>Figure 02</b> : Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> .....	08
<b>Figure 03</b> : Mode d'action des superantigènes .....	14
<b>Figure 04</b> : Différents modes d'action des antibiotiques .....	18
<b>Figure 05</b> : Ecouvillonnage nasal chez le bovin .....	29
<b>Figure 06</b> : Aspect des colonies caractéristiques du genre <i>Staphylococcus</i> sur Baird Parker.	33
<b>Figure 07</b> : souche de <i>S. aureus</i> multi-résistante (SASM multi-résistant).....	35
<b>Figure 08</b> : Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i> .....	36
<b>Figure 09</b> : Souche de <i>S. aureus</i> multi-résistante .....	37

### Liste des tableaux (iii)

<b>Tableau I</b> : Différenciation des espèces et sous espèces de Staphylocoques à coagulase positive .....	07
<b>Tableau II</b> : Quelques facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> .....	15
<b>Tableau III</b> : Infections toxiques staphylococciques .....	16
<b>Tableau IV</b> : Principaux mécanismes de résistance selon la classe pharmacologique .....	25
<b>Tableau V</b> : Informations concernant les fermes visitées et les Prélèvements Effectués ..	28
<b>Tableau VI</b> : Liste des molécules d'antibiotiques testés sur <i>S. aureus</i> isolés .....	32
<b>Tableau VII</b> : Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i> selon le type de prélèvement .....	33
<b>Tableau VIII</b> : Nombre de souches de <i>S. aureus</i> isolées selon le type de prélèvement.....	34
<b>Tableau IX</b> : Résistance des souches de <i>S. aureus</i> (n=32) vis-à-vis les antibiotiques testés .....	35
<b>Tableau X</b> : Phénotypes de multi-résistance de multi résistance des souches de <i>S. aureus</i>	36
<b>Tableau XI</b> : Phénotypes de résistances des souches SARM.....	37

## Résumé

*Staphylococcus aureus* est une bactérie commensale opportuniste, impliquée dans une variété de maladies chez l'humain et l'animal. L'objectif de cette étude est l'isolement de souches de *S. aureus* à partir de portage nasal chez des vaches laitières saines et leur caractérisation phénotypique.

Pour cela, 116 prélèvements à travers quatre élevages laitiers de la région de Tizirt (Tizi Ouzou) ont été réalisés. Ces prélèvements incluent 95 prélèvements de la cavité nasale chez des vaches saines, 4 prélèvements nasaux chez des éleveurs et 17 prélèvements du lait cru.

L'isolement des souches a été réalisé sur la gélose sélective, Baird Parker, suivi d'une identification biochimique des isolats. La résistance aux antibiotiques a été testée selon la méthode de diffusion des disques sur la gélose Mueller-Hinton, en suivant les recommandations du CLSI (2018) et de CASFM (2018). Au total, 32 souches de *S. aureus* ont été isolées, comprenant 26 *S. aureus* sensibles à la méticilline (SASM) et 06 *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM). De fortes résistances à la pénicilline G et à la tétracycline ont été observées pour l'ensemble des souches isolées.

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

**Mots clés :** *S. aureus*, portage nasal, résistance aux antibiotiques, SARM, élevages laitiers

# **Partie bibliographique**

### Introduction

De nombreuses études portent sur les staphylocoques et ceci, par rapport à leurs importances en pathologie infectieuse vétérinaire et humaine, tant par leur fréquence de propagation élevée que par la gravités des infections dont ils sont responsables.

*Staphylococcus aureus* est à la fois un commensal et un agent pathogène chez l'homme et chez de nombreuses espèces animales. Chez l'être humain, *S. aureus* est responsable de diverses maladies, allant d'infections relativement bénignes de la peau et des tissus mous à des bactériémies et des endocardites menaçant le pronostic vital, mais également à des maladies associées aux toxines, telles que le syndrome de choc toxique et l'intoxication alimentaire (Fowle *et al*, 2005; Jans *et al*, 2017). Chez les vaches laitières, *S. aureus* est l'un des agents pathogènes les plus importants associés à des mammites cliniques et subcliniques, entraînant de graves pertes économiques dans le monde entier (Chu *et al*, 2013 ; Lozano *et al*, 2016 ).

La pathogénicité de *S. aureus* est associée à plusieurs facteurs de virulence, incluant des toxines (entérotoxines, exfoliatines,...), des protéines de surface (protéine A) et des enzymes (coagulase, hémolysines,...) (Peacock *et al*, 2002 ; Fournier *et al*, 2008 ).

La découverte des antibiotiques est considérée comme une des plus importantes des avancées thérapeutiques de l'histoire de la médecine. Cependant, les traitements mal conduits, voir inutiles, sont susceptibles de favoriser l'émergence de souches bactériennes multi-résistantes, ce qui pourra entrainer des impasses thérapeutiques non seulement en médecine humaine, mais aussi en médecine vétérinaires (Mereghetti, 2005).

*Staphylococcus aureus*, incluant *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM), est le pathogène commun causant une large gamme de maladies dans les communautés et dans les hôpitaux (Chen et Huang, 2018). L'augmentation du nombre d'infections au SARM communautaire (CA-SARM) chez des individus en bonne santé avait conduit à des recherches sur l'origine des souches et sur leurs facteurs de virulence (Ross Fitzgerald, 2012). *S. aureus* peut coloniser une gamme d'animaux, incluant les animaux domestiques (porc, vaches, volaille,...), les animaux de compagnie (chien, chat,...) et les animaux sauvages. L'émergence des souches SARM associées aux élevages (LA-SARM) parmi les espèces circulant dans les élevages est une question pertinente du point de vue de la santé humaine et de la santé animale (Locatelli et al, 2016). Des transmissions zoonotiques des souches d'élevages (LA-SARM) aux humains, avec des infections graves, ont été rapportées. Néanmoins, il a été démontré que les personnes vivant et travaillant en contact étroit avec les animaux de la ferme sont particulièrement exposées à la colonisation par des SARM, ce qui pourrait contribuer à la diffusion des souches SARM dans la chaîne alimentaire.

La première souche de *S. aureus* résistante à la méthicilline d'origine animal a été isolée en Belgique en 1972, au cours d'une mammite bovine (Cuny *et al*, 2010). La résistance à la méticilline est médiée par le gène *mecA*, qui code une protéine de liaison à la pénicilline modifiée (PLP), appelée PLP2a ou PLP2, avec une affinité diminuée pour presque tous les antibiotiques  $\beta$ -lactames. Le locus *mecA* est un gène hautement conservé qui code pour PIP2a dans les souches résistantes, mais est absent chez des souches sensibles, ce qui en fait un

marqueur moléculaire utile de la résistance aux  $\beta$ -lactamines (Mulligan *et al*, 1993 ; Pinho *et al*, 2001). Récemment, le *mecC*, un nouvel homologue de *mecA*, a été identifié et sa présence a été décrite chez le bétail, les animaux de compagnie, les animaux sauvages ainsi que chez l'homme (Paterson *et al*, 2014). Ainsi qu'une  $\beta$ -lactamase, codée par *blaZ*, est également produite par les souches SARM, responsables de la diminution de l'activité des antibiotiques  $\beta$ -lactames (Ben Said *et al*, 2017).

Ainsi, les objectifs principaux de cette étude est d'estimer le portage nasal de *S. aureus* chez le bovin laitier, de prévoir l'existence des souches SARM et de mettre en évidence leur existence chez les personnes en contact direct avec ces animaux de rente.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons divisé notre travail en deux parties. La première est une synthèse bibliographique, présentant les généralités sur *S. aureus*, les facteurs de virulence ainsi que les mécanismes de résistance de ce germe vis-à-vis les molécules d'antibiotique. La seconde partie décrit la méthodologie de travail, les résultats obtenus et la discussion de ces résultats.

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

### 1- Historique

Le staphylocoque fut découvert à la fin de XIX<sup>ème</sup> siècle, observé par Robert Koch en 1878. Ce dernier l'avait isolé à partir de pus de furoncle. D'après ces études, ces germes sont regroupés en amas. En 1880, Louis Pasteur décrit ce germe comme étant un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis en double, rarement par quatre et très fréquemment associés en petites amas (Le Loir et Gautier, 2010).

Plus tard, en 1882, Alexander Ogston crée le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus*.

En 1884, le chirurgien allemand Anton Rosenbach réussit à les cultiver in vitro et isola deux souches de staphylocoques qu'il nomma *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus albus* par rapport à leur pigmentation sur milieu de culture, la première avait une pigmentation dorée et l'autre était blanche (Kent *et al*, 2009). C'est à ce moment, que le nom de l'espèce « aureus » (or en latin), a été donné pour décrire les colonies jaunes dorées obtenues (Chakraborty *et al*, 2012).

En 1903, Loeb a découvert la staphylocoagulase qui va devenir un critère majeur de l'identification des staphylocoques dorés (Peter *et al*, 2010).

En 1914, Barber découvre que *staphylococcus* produit une toxine qui engendre des intoxications alimentaires (Bhunja, 2008).

### 2- Taxonomie

En 1986, le genre *Staphylococcus* appartenait à la famille des *Micrococcaceae* qui comprenait trois autres genres : *Micrococcus*, *Planococcus* et *Stomatococcus* (De Buyser et Sutrat, 2005). Le genre *Staphylococcus* était classé dans cette famille à cause de certaines similitudes phénotypiques avec le genre *Micrococcus*, à savoir, ce sont des cocci à Gram+, non sporulés, non capsulés, immobiles, formant des amas irréguliers et produisent une catalase. Cependant, il y a une différence majeure dans le métabolisme de ces deux genres. En effet, les *Micrococcus* sont aérobies strictes. Tandis que, les *Staphylococcus* sont des anaérobies facultatifs (Pellerin *et al*, 2010). En plus, l'analyse de la composition chimique de la paroi montre que celle de *Staphylococcus* est caractérisée par la présence de ponts pentaglycines dans le peptidoglycane, ce qu'on ne trouve pas chez les *Micrococcus* (De Buyser et Sutrat, 2005).

Selon la classification de (Garity *et al*, 2007) le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des Firmicutes constitué de quatre classes : Clostridia, Mollicutes, Bacilli, Togobacteria. La classe des Bacilli est constituée de deux ordres : Bacillales et Lactobacillales, dont chacun est divisé en quatre familles. *Staphylococcaceae* constitue la 4<sup>ème</sup> famille des Bacillales. Cette dernière comprend un seul genre : *Staphylococcus*.

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

Domaine :	Bacteria
Embranchement :	Eubacteria
Phylum :	Firmicutes
Classe :	Bacilli
Ordre :	Bacillales
Famille :	Staphylococcaceae
Genre :	<i>Staphylococcus</i>
Espèces :	<i>S. aureus</i> .

D'après Le Loir et Gautier (2010), cinquante espèces et sous espèces ont été identifiées au sein du genre *Staphylococcus* et qui peuvent être classées en fonction de leur capacité à coaguler le plasma de lapin. Certaines sont des hôtes de l'homme, d'autres des animaux, quelques-unes sont rencontrées à la fois chez l'Homme et l'animal (De Buyser et Sutrat, 2005).

Avec l'avènement de la biologie moléculaire et les techniques de séquençage, l'analyse de la composition en (G+C) % du génome des deux genres (30-39% pour *Staphylococcus* et 63-73% pour *Micrococcus*) et la comparaison des séquences de l'ARNr 16S ont confirmé la nécessité de séparer ces deux genres dans deux familles différentes, ce qui s'est réalisé dans la deuxième édition du Bergy's Manual of Systematic Bacteriology (Prescott *et al*, 2002).

### 3- Habitat

*Staphylococcus aureus* est une bactérie à Gram positif, ubiquitaire, résiste aux mécanismes d'épurations et génère des mutations viables (Watson *et al*, 2006). Ce germe présente des capacités importantes de développement, d'adaptation et de résistance au stress (tolérance à la dessiccation, résistance au stress osmotique et aux carences nutritionnelles). Il est présent dans tous les continents et colonise divers milieux. On le trouve dans l'air, l'eau, le sol, les aliments et différentes surfaces. Cependant, le réservoir principal de ce germe est l'Homme et les animaux à sang chaud.

*S. aureus* 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 muqueuses des fosses nasales, mais aussi au niveau du cuir chevelu et des mains et des dents. Chez les vaches, il serait localisé principalement au niveau du mufle et de la peau des trayons (Delbés, 2010).

### 4- Epidémiologie

Chez les individus en bonne santé, le taux de portage de *Staphylococcus aureus* varie de 15% à 35%, avec un risque d'infection de 38%, suivi d'un risque d'infection supplémentaire de 3% lorsqu'il est colonisé avec un *S. aureus* sensible à la méthicilline (SASM) (File, 2008). Certains groupes d'individus sont plus susceptibles à la colonisation par *S. aureus* que d'autres, notamment le personnel de la santé, les habitants de maisons de retraite, les détenus, les recrues de l'armée et les enfants (Cardoso *et al*, 2007 ; Chen *et al*, 2007 ; Ben-David *et al*, 2008 ; Ho *et al*, 2008).

Les fréquences du portage chez l'animal varient selon les espèces considérées. Elle est de 90% chez les volailles (Nagase *et al*, 2002). 29% chez les brebis (Vautor *et al*, 2005) et entre 14% et 23% chez la vache (Roberson, 1994 ; Nagase *et al*, 2002).

Dans une étude de recherche menée en 2007 par l'Université du Witwatersrand et l'Hôpital universitaire de Genève, les agents de santé représentaient 93% des cas de transmission du SARM aux patients (Albrich and Harbath, 2008).

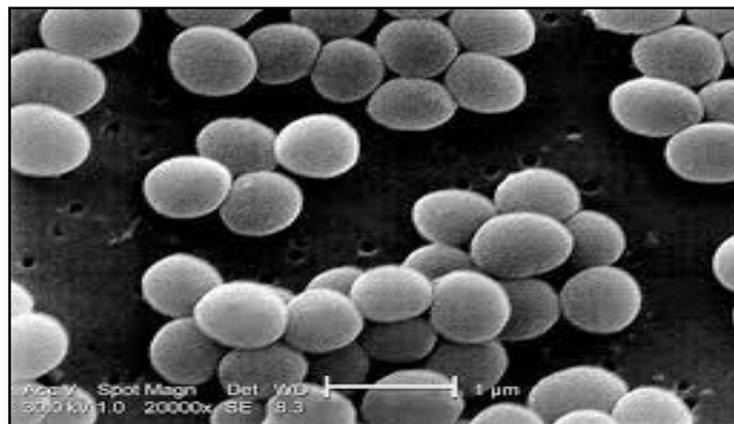
Aux Etats-Unis une étude a permis de retrouver précisément 28,6% de portage nasal de SARM et 1,5% à SARM (Lowy, 2003). Dans des études similaires réalisées dans plusieurs pays du monde, ils ont pu obtenir un taux de portage nasal variable : France (Paris) 18%, Algérie (Tlemcen) 27%, Mali 22%, Moldavie 25%, et Cambodge 12% (Hartmann *et al*, 1997).

Le plus grand réservoir de *S. aureus* est représenté par des narines humaines, tandis que les deuxièmes sont des vaches. La prévalence de *S. aureus* isolé de la mammite bovine est estimée entre 3% et 5% (Lowy, 2003 ; Monecke *et al*, 2013). Étant donné que la population mondiale de vaches laitières est de 1,5 milliard jusqu'à 75 millions de vaches peuvent être infectées dans le monde (van Duijkeren *et al*, 2010).

## 5- Critères d'identification de *Staphylococcus aureus*

### 5-1- Caractères morphologiques

*Staphylococcus aureus* est un cocci à Gram-positif. Son diamètre moyen est d'environ 0,5 à 1µm. Il est immobile, non sporulé (Vos *et al*, 2009). Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin" (Fasquelle, 1974 ; Ferron, 1985). Alors qu'en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en générale de 3 à 5 éléments) (Le Minor et Veron, 1990). La majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture (Robert, 2013), d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudo-capsule (Fauchere et Avril, 2002 ; De Buyser et Sutrat, 2005).



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

### 5-2- Caractères culturels

*Staphylococcus aureus* pousse aisément sur les milieux usuels (ordinaires) en présence ou en absence d'oxygène (milieux aérobies et anaérobies). Sur un milieu solide, il forme des colonies bombées, lisses, luisantes et plus ou moins pigmentées en jaune or ou orange d'où l'appellation de staphylocoque doré. En milieu liquide, il donne un trouble homogène, parfois un dépôt et un voile en surface. *S. aureus* n'a pas d'exigences particulières et tolère de grandes variations de conditions de croissance (Guiraud et Rosec, 2004 ; De Buyser et Sutrat, 2005).

*S. aureus* étant un germe mésophile, il se cultive à des températures de 7°C à 48°C, avec un optimal de 30°C à 37°C et un pH de 4,2 à 9,3 avec un optimal de 7 à 7,5 (Le Loir *et al*, 2003). Il tolère une activité de l'eau ( $a_w$ ) exceptionnellement basse pour une bactérie, puisque sa croissance est inhibée à partir de valeurs comprises entre 0,95 et 0,91 et qu'il est capable de survivre sans se multiplier à des valeurs proches de 0,85 (De Buyser et Sutrat, 2005)

*S. aureus* est un germe halotolérant, qui peut se multiplier en présence de concentration élevée en chlorure de sodium (jusqu'à 20%) (De Buyser et Sutrat, 2005). Son isolement se fait sur des milieux hyper-salés comme le milieu Chapman (7.5% de NaCl), ou des milieux contenant de puissants inhibiteurs, comme le milieu Baird Parker ou le milieu plasma de lapin au fibrinogène (Joffin C et JoffinJ-N, 2010). La plupart des souches de *S. aureus* sont lipolytiques, produisant une zone opaque lorsqu'elles sont cultivées dans des milieux contenant le jaune d'œuf (Ananthanarayan et Paniker, 2006).

### 5-3- Caractères biochimiques

*Staphylococcus aureus* est chimioorganotrophe de type respiratoire, anaérobie facultatif (Larpen, 2000). Il est capable de produire la catalase ainsi que l'acétoïne, l'ADH, l'hémolyse et la thermonucléase (Le Loir et Gautier, 2010).

*S. aureus* possède un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques (Ferron, 1984).

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

**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	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> <i>susp.</i> <i>anaerobius</i>	<i>S. delphini</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. intermedius</i>
<b>Pigmentation de la colonie</b>	+	-	-	-	-
<b>Croissance anaérobie</b>	+	+	+	+	+
<b>Croissance aérobie</b>	+	()	-	-	-
<b>Staphylocagulase</b>	+	+	+	d	+
<b>Oxydase modifiée</b>	-	-	-	-	-
<b>Thermonucléase</b>	+	+	-	+	+
<b>Hémolyse</b>	+	+	+	-	d
<b>Catalase</b>	+	-	+	+	+
<b>Uréase</b>	d	ND	+	d	+
<b>Beta glucosidase</b>	+	-	ND	d	d
<b>production d'acétoïne</b>	+	-	-	-	-
<b>Réduction des nitrates</b>	+	-	+	+	+
<b>Hydrolyse de l'esculine</b>	+	-	ND	-	-

(+) : Concerne 90% ou plus de souches ;(-) : Concerne 90% des souches ou plus négatives ;  
(d) : Concerne 11à89% des souches positives ; (ND) : Non déterminé ;() : Indique une réaction retardée.

Chapitre II : Facteurs de virulences de *Staphylococcus aureus*

La virulence des souches de *Staphylococcus aureus* impliquées dans les infections humaines ou animales est liée à la production d'une grande variété de composés. Sa pathogénicité est principalement liée aux composés de la paroi bactérienne, sa capacité invasive et à la sécrétion des toxines et des enzymes dans l'environnement de la bactérie (Kurkdjian et Bingen, 2003 ; Carforaet al, 2015).

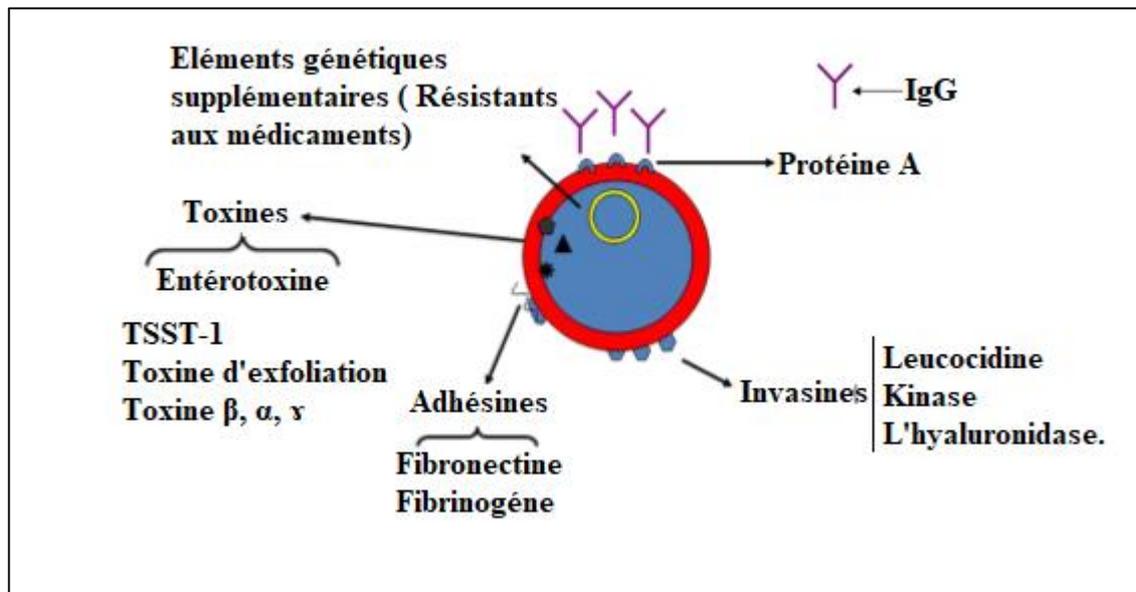


Figure 02 : Facteurs de virulence de *S. aureus* (Li, 2010)

## 1- Composants de surface

### 1-1 - Constituants de la paroi

#### 1-1-1 Peptidoglycane

La paroi cellulaire de *S. aureus* est composée d'une couche épaisse de peptidoglycane, qui contribue à la virulence de la bactérie (Lowy, 1998). 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) (Nauciel et Vildé, 2005). Sur l'acide N-acétylmuramique (NAM) se fixe un térapeptide, des ponts penta ou hexa-glycines unissent la lysine d'un térapeptide à l'alanine du suivant (Bosgiraud, 2003).

Chez *S.aureus*, le relargage de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infection locale provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines (Chaby, 2010), ce qui entraîne l'activation du système du complément et l'agrégation plaquettaire (Lowy, 1998).

### 1-1-2- L'acide teichoïques (polysaccharide A)

Ce sont des polymères linéaires de ribitol ou de glycérol, représentant environ 40% du poids de la paroi bactérienne (Bosgiraud, 2003). Les acides teichoïques jouent un grand rôle dans les interactions entre les bactéries et les cellules et dans la fixation des bactériophages. Ils sont impliqués dans l'activation du complément et l'adhésion aux surfaces muqueuses (Aly et Levit, 1987). Ils contribuent à la colonisation nasale en se liant aux cellules épithéliales (Bhunia, 2008) et peuvent entraîner une hypersensibilité (Le Minor et Veron, 1982). L'acide teichoïque est responsable de la résistance aux lysozymes et aux peptides antimicrobiens ainsi que de l'évasion de la réponse immunitaire de l'hôte. Outre que la fermeté et l'élasticité de la paroi cellulaire, le peptidoglycane et l'acide teichoïque ont d'autres activités biologiques telles que l'activation du complément et la stimulation de la production d'anticorps (Biljana *et al*, 2015).

### 1-1-3- La capsule

Constituée d'un polymère de nature polysaccharidique, codée par le gène *cap* (Smeltzer, 2009 ; Boisset et Vandenesch, 2010). Ces polysaccharides permettent aux *S. aureus* de résister à la phagocytose et empêchent l'opsonisation par les neutrophiles (Thakker *et al*, 1998). Environ 90% des souches de *S. aureus* produisent cette capsule, on retrouve dans sa composition des dérivés osidiques (galactose, fructose, mannose...), ainsi que des acides aminés. Plusieurs études s'accordent à dire que la production de la capsule est maximale en phase post-exponentielle (Vieu, 2014).

## 1-2- Les protéines de surface

### 1-2-1- Les MSCRAMM

*S. aureus* possède un ensemble de molécules d'adhésion reliées au peptidoglycane par des liaisons covalentes appelées MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) (Boisset et Vandenesch, 2010). Ces composants extracellulaires se lient aux protéines de la matrice extracellulaire lors de la pathogenèse de *S. aureus* (Projan et Novick, 1997). La plupart de ces protéines jouent un rôle dans la colonisation des tissus (Boisset et Vandenesch, 2010). Les MSCRAMM les plus étudiées sont les protéines de liaison à la fibronectine (*FnBBA* et *FnBPB*), la protéine de liaison au collagène (*Cna*) et les protéines de liaison au fibrinogène (*ClfA* et *ClfB*) (Menzies, 2003), ainsi que les Bap (Biofilm associated proteins), responsables de la formation du biofilm bactérien et la colonisation des glandes mammaires (Bhunia, 2008). La fibronectine et le fibrinogène sont des glycoprotéines présentes sous forme soluble dans le plasma et insoluble dans la matrice extracellulaire. Les *FnBP* et les *Clf* jouent un rôle dans l'adhésion des cellules bactériennes aux cellules de l'hôte, mais également sur les biomatériaux (Menzies, 2003).

### 1-2-2- Les SERAM

Des recherches ont montré la présence d'un autre mécanisme d'adhésion qui se base sur des adhésines sécrétées vers le milieu extérieur appelées SERAM (Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules) (Smeltzer, 2009).

Les SERAM regroupent les Eap (Extracellular adherence protein), Emp (Extracellular matrix binding protein), Efb (Extracellular fibrinogen binding protein) ainsi que la coagulase (Chavakis *et al*, 2005). Toutes ces protéines se fixent par des liaisons non covalentes aux protéines de la matrice extracellulaire, puis elles sont reconnues par des récepteurs spécifiques présents à la surface de la bactérie (Boisset et Vandenesch, 2010). C'est des protéines d'adhérence qui sont presque omni présentes chez les souches de *S. aureus* et semblent jouer un rôle de déterminants de la virulence dans des infections chroniques à *S. aureus* (Lee *et al*, 2002).

### 1-2-3- La protéine A

La protéine A est l'une des protéines de surface majeure chez *S. aureus* de 42KDa, que l'on qualifie de facteur de virulence pléiotropique, à cause de la diversité des interactions existant avec l'hôte, qui est à la fois sous forme sécrétée ou associée à la paroi (Boisset et Vandenesch, 2010). C'est une holoprotéine insoluble à l'état natif, caractéristique de *S. aureus* (Foster, 1994). Elle a la capacité de se lier à la région Fc de l'immunoglobuline G (IgG) et d'inhiber l'opsonisation et la phagocytose des microorganismes par les cellules polynucléaires et l'activation du complément (Biljana *et al*, 2015). De plus, la protéine A possède plusieurs propriétés biologiques et semble intervenir dans le pouvoir pathogène ; elle interfère avec le système immunitaire (Boisset et Vandenesch, 2010).

## 2- Les substances élaborées par *Staphylocoque aureus*

### 2-1- Les enzymes

#### 2-1-1- La coagulase libre

C'est une exo-enzyme coagulant le plasma d'homme ou de lapin. C'est une protéine thermostable, toujours produite par les souches de *S. aureus* (et non produite par *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*) (Le Minor et Veron, 1990). Elle paraît 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). Ainsi, elle active la prothrombine en thrombine, cette dernière activée agit sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine. La coagulation induite par la coagulase entraîne l'accumulation de fibrine autour de la bactérie, la rendant inaccessible au système de défense de l'hôte, ce qui empêche la phagocytose (Madigan et Martink, 2007).

#### 2-1-2- La catalase

C'est une enzyme qui convertit le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) accumulé dans la cellule, résultant du métabolisme ou lors de la phagocytose, en molécule d'eau et d'oxygène (Berche *et al*, 1988). Elle inhibe la bactéricidie intra-leucocytaire en empêchant la formation de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie par les globules blancs (ElKouri *et al*, 1998). Par conséquent, la catalase donne une protection pour le germe à l'intérieur des cellules phagocytaires, en lui permettant d'échapper au système immunitaire (Tally, 1993 ; Pancholi, 2002).

### 2-1-3- La protéase

La majorité des souches de *S. aureus* sont productrices de protéases sous forme de pro-enzymes inactives, nécessitant un clivage pour qu'elles soient actives. On distingue trois catégories de protéases, les sérine-protéases, les cystéines-protéases et les métallo-protéases (Boisset et Vandenesch, 2010). Elles hydrolysent certaines protéines, telles que la staphylokinase, et contribuent à la destruction du caillot et à la formation de microembolus bactériens, responsables de métastases septiques (Mariani-Kurkdjian et Bingen, 2003).

### 2-1-4- L'hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile, agissant à un pH acide, qui hydrolyse l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif (Foster et Devitt, 1994). Elle joue un rôle pathogène en favorisant la diffusion de Staphylocoque dans le tissu conjonctif (Le Minor et Veron, 1982).

### 2-1-5- Les staphylokinases (fibrinolysines)

La staphylokinase est une enzyme impliquée dans l'activation du plasminogène en plasmine conduisant à la dislocation du thrombus riche en bactéries (Bokarewa *et al*, 2006). Cette protéine possède la propriété de cliver les IgG et le fragment C3b du complément qui vont se fixer à la paroi bactérienne et empêcher par la suite la phagocytose (Foster, 2005). Ainsi, elle contribue aux métastases septiques (Pancholi, 2002).

### 2-1-6- Desoxynucléase thermostable

La desoxynucléase est une enzyme thermostable responsable de l'hydrolyse de l'ADN des cellules de l'hôte. C'est une thermo-nucléase produite par toutes les souches de *S. aureus* (Bosgiraud, 2003).

### 2-1-7- Lipase

La plupart des souches de *S. aureus* produisent des enzymes capables de métaboliser les graisses cutanées et joue un rôle dans la dissémination de l'infection, favorisant ainsi la survie des staphylocoques (Kapral *et al*, 1992).

## 2-2- Toxines

### 2-2-1- Les hémolysines

*S. aureus* synthétise quatre types d'hémolysines, mais la plupart des souches sécrètent les hémolysines (toxines) alpha, bêta et delta (Piémont, 2003).

#### 2-2-1-1- L'alpha-hémolysine

C'est une toxine de 31 kDa qui est sécrétée en fin de la phase exponentielle de croissance par 80 à 90 % des souches de *S. aureus* (Valeva *et al*, 2006). L'activité hémolytique de l'alpha-toxine a été mise en évidence chez le lapin.

En effet, les globules rouges de lapin sont beaucoup plus sensibles à l'action lytique de cette toxine que les globules rouges humains. Les monomères de l'alpha-toxine s'oligomérisent à la surface membranaire des cellules cibles et forment un pore heptamérique. Celui-ci induit des

perturbations au niveau de la perméabilité membranaire, notamment des échanges  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Les conséquences cellulaires sont une libération massive de molécules pro-inflammatoires. Après activation calcique, l'alpha-hémolysine peut également induire une augmentation du métabolisme de l'acide arachidonique, l'augmentation de cet acide est à l'origine de la synthèse de prostaglandines, de leucotriènes (Vincenot *et al*, 2008).

### **2-2-1-2- La bêta-hémolysine**

Il s'agit d'une protéine de 26 à 38 kDa, produite majoritairement par des souches animales (Le Minor et Veron, 1982 ; Boisset et Vandenesch, 2010). C'est une phospholipase de type C, thermolabile, son poids moléculaire est de 26000-38000Da (Dinges *et al*, 2010). Elle cible les membranes riches en lipides. Elle provoque une lyse des érythrocytes et des cellules mononuclées, et également une importante réponse inflammatoire responsable de la pathogénicité (Dubas, 2008).

### **2-2-1-3- La delta-hémolysine**

Cette toxine est constituée d'un peptide de 26 acides aminés, exprimée par la majorité des souches de *S. aureus* (Dubas, 2008). Cette toxine thermostable a un PM de 103000Da, elle est composée de petites sous unités, contient des acides aminés hydrophobes et hydrophiles, et elle est faiblement antigénique (Le Minor et Veron, 1982 ; Biljana, 2015). Elle est produite à la fin de phase exponentielle de croissance et le gène codant son expression fait partie du locus agr (accessory genere gulator). Elle est capable de lyser de nombreuses cellules sanguines, ainsi que des vésicules synthétiques (Vincenot *et al*, 2008).

### **2-2-2- La leucocidine de panton et valentin (LPV)**

La LPV est la première leucotoxine à être purifiée et caractérisée (Prévost *et al*, 1995). Le gène codant la LPV est porté par un bactériophage (Kaneko *et al*, 1996). Le spectre d'activité lytique de cette toxine est restreint aux monocytes, aux macrophages, aux polynucléaires neutrophiles et aux métamyélocytes ; les érythrocytes ne sont pas lysés (Prévost *et al*, 2001). L'émergence de souches communautaires de *S. aureus* productrices de LPV et résistantes à la méticilline, désignées par l'acronyme anglais « CA-MRSA » (community-acquiredmeticillin-resistant *S. aureus*), est décrite dans de nombreux pays. Les CA-MRSA sont isolés lors de cas de pneumonie nécrosante, mais aussi au cours d'infections cutanées sévères chez des sujets jeunes (Vandenesch *et al*, 2003 ; Said-Salim *et al*, 2003).

### **2-2-3-Exfoliatine ou épidermolysine**

Trois types d'épidermolysines caractérisés : ETA, ETB et ETD. Elles sont des sérines protéases (Nishifuji *et al*, 2008). Elles ont des identités de séquences peptidiques comprises entre 40 et 50 %, mais présentent la même spécificité et des toxicités voisines, bien que n'ayant pas ou peu d'antigènes communs. Avec un support bactériophagique pour la première, un support plasmidique pour la seconde et une localisation dans un îlot de pathogénicité bordé par la séquence d'insertion IS256 pour la troisième (Vincenot *et al*, 2008). Ces toxines sont

majoritairement produites par des souches staphylococciques du groupe phagique II (Prévost *et al.*, 2003).

Ces épidermolysines ETA, ETB et ETD clivent spécifiquement les sites de liaisons du glutamate. Leur cible épithéliale est une protéine de jonction cellulaire de la famille des cadhérines, la desmogléine 1, constituant des desmosomes (Nishifuji *et al.*, 2008). Les épidermolysines auraient également une activité superantigénique induisant une activation lymphocytaire (Vincenot *et al.*, 2008).

#### 2-2-4- Entérotoxines staphylococciques

Elles appartiennent à la famille des exoprotéines pyrogéniques produites par certaines souches de *S. aureus* et de *Streptococcus pyogenes* (Charlier *et al.*, 2010 ; Kadariya *et al.*, 2014). Ce sont des exotoxines protéiques relativement thermostables et résistantes aux enzymes digestives, agissant sur les récepteurs neurovégétatifs mésentériques (Avril *et al.*, 2000). Elles sont riches en lysine, acide aspartique, acide glutamique et tyrosine. La plupart possèdent un pont disulfure nécessaire à leur conformation et probablement impliqué dans l'activité émétique (Hennekinne, 2009). Ces exotoxines ont été traditionnellement subdivisées en type classique SEA à SEE et de nouveau type SEG à SEV2 ont été apparus (Hannekinne *et al.*, 2010). En 2004, le comité international de nomenclature des superantigènes staphylococciques a proposé une nouvelle nomenclature pour les entérotoxines de *S. aureus*. Elle stipule que, si la toxine possède une activité émétique prouvée, elle est désignée par le préfixe SE (staphylococcal enterotoxin). si l'activité émétique est absente ou n'est pas prouvée, elle est désignée par SEI (staphylococcal enterotoxin-like toxin) (Boisset et Vandenesch, 2010). Les ES possèdent également une activité superantigénique qui est une activité biologique pyrogène et provoquent une immunosuppression et une prolifération non-spécifiques de lymphocytes T. Les activités superantigéniques et émétiques correspondent à deux fonctions séparées localisées sur deux domaines de la protéine (Dinges *et al.*, 2000 ; Hovde *et al.*, 1994). Néanmoins, il existe une forte corrélation entre ces activités puisque, dans la plupart des cas, des mutations génétiques aboutissant à une perte d'activité super-antigénique aboutissent aussi à la perte d'activité émétique. À ce jour, plus de 23 SE différents sont connus, et deux nouveaux gènes appelés sel26 et sel27 codes pour deux nouvelles entérotoxines staphylococciques sont cités par Zhang *et al.*, (2018). Leurs identités de séquence d'acides aminés sont très variables, allant de 21% à 83%. Cependant, 11 à 15% de résidus au total conservent les propriétés biologiques et fonctionnelles communes, en particulier pour atténuer l'activité émétique et / ou la superantigénicité (Liu, 2015).

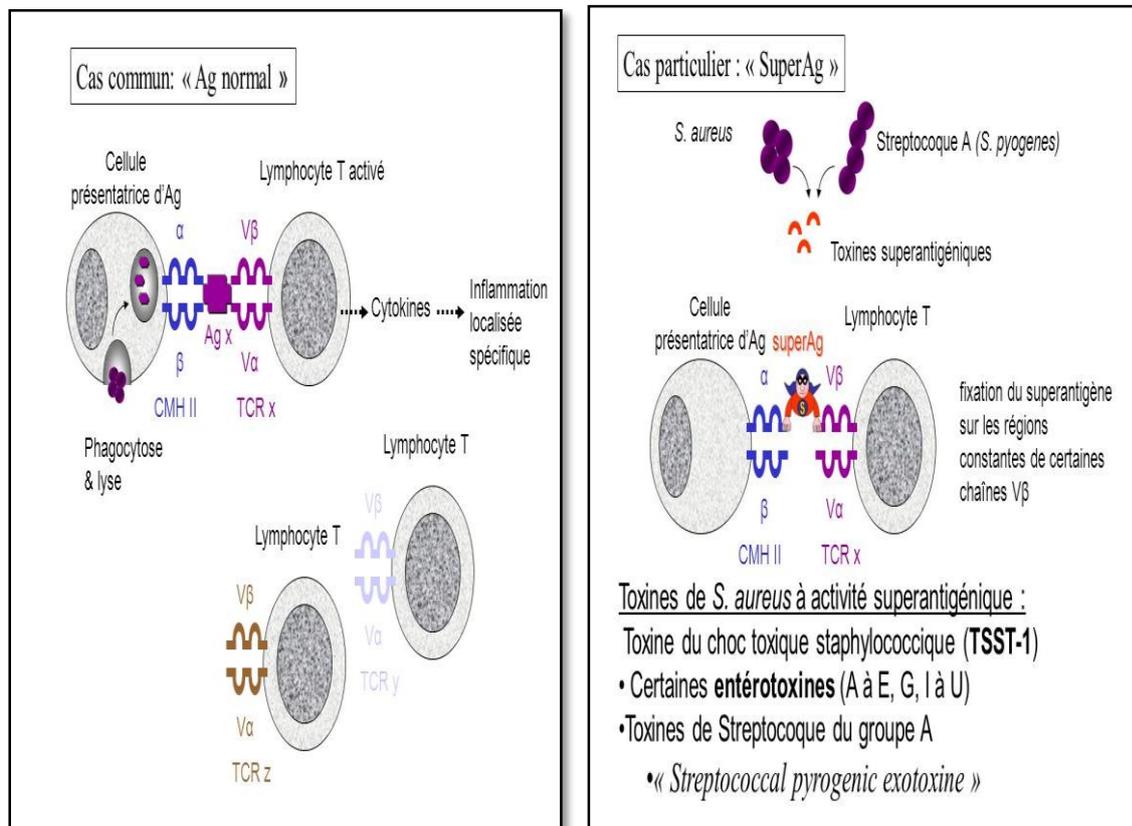
Ces entérotoxines agissent directement sur les récepteurs neuronaux du système gastro-intestinal (De Buyser, 1996), ce qui provoque l'envoi d'un signal nerveux à travers les nerfs vague et sympathique qui déclenchent le centre vomitif du cerveau (Argudin *et al.*, 2010). Après un temps d'incubation court (1 à 6 h), elles provoquent des crampes abdominales douloureuses, des vomissements, des diarrhées, mais pas de fièvre (Vincenot *et al.*, 2008).

Les gènes spécifiant les ES ont des supports génétiques divers dont la caractéristique commune est d'appartenir à un élément génétique mobile. Ils peuvent être portés par des

plasmides (*seb*, *sed*, *sej*, *ser*, *ses*, *set*) (Omoe *et al*, 2002 ; Ono *et al*, 2008), par des phages (tempéré pour *sea* ou déficient pour *see*) (Couch *et al*, 1988), par des îlots génomiques (*seb*, *sec*, *seg*, *seh*, *sei*, *sek*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *sep* et *seq*). Le gène *sec* peut également se trouver sur un plasmide ou un îlot de pathogénicité selon la provenance de l'isolat (Fitzgerald *et al*, 2001). La localisation de ces gènes sur des éléments génétiques mobiles peut entraîner un transfert génétique horizontal entre les souches de *S. aureus* (Hennekinne, 2009).

### 2-2-5-Superantigènes

Un superantigène est une protéine bactérienne capable d'établir une interaction entre la molécule de CMH de classe II du macrophage et la chaîne V-bêta du récepteur cellulaire des lymphocytes T (TCR) (Schlievert et Cas, 2007; Fraser et Proft, 2008). Cette liaison entraîne l'activation non spécifique et la prolifération des cellules T ainsi qu'une sécrétion massive d'interleukines. Cette activation massive cause le syndrome de choc toxique (Le Loir *et al*, 2003; Charlier *et al*, 2010; Hennekinne *et al*, 2012). Ce dernier est dû à la synthèse par les Staphylocoques d'une exotoxine appelée toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) à activité superantigène (Madigan et Martinko, 2007). C'est une maladie multi-systémique caractérisée par : fièvre, hypotension, érythrodermie, vomissement, diarrhée, insuffisance rénale, céphalée et conjonctivite. (Biljana *et al*, 2015).



**Figure 03** : Mode d'action des superantigènes (Bonacors, 2014).

Tableau II : Quelques facteurs de virulence de *S. aureus* (Malachowa et De Leo, 2010).

Toxine/facteur de virulence (gène)	Pouvoir pathogène/mécanisme d'action
TSST-1 ( <i>tst</i> ).	Provoque le syndrome de choc toxique.
Staphylokinase ( <i>sak</i> ).	Destruction protéolytique du tissu hôte; active la conversion du plasminogène en plasmine; inhibe l'opsonisation par dégradation des IgG et C3b, favorise la résistance aux défensives.
Leucocidine Pantone-Valentine ( <i>lukF - PV</i> , <i>lukS - PV</i> ).	Toxine leucocytaire formant des pores, liée épidémiologie à des infections nécrotiques.
$\alpha$ -hémolysine ( <i>hla</i> )	Toxine cytolitique formant des pores.
Toxine exfoliative A, B et D ( <i>eta</i> , <i>etb</i> , <i>etd</i> ).	Cause le syndrome de la peau échaudée à staphylocoques (SSSS), la maladie de Ritter et l'impétigo bulbeux chez les nouveau-nés.
Entérotoxines.	Provoque une intoxication alimentaire.
Protéine d'adhésion Bap ( <i>bap</i> ).	Adhésion spécifique à la muqueuse mammaire bovine.
Protéine de type sérine protéase ( <i>spl</i> ).	Rôle hypothétique dans la virulence.
Protéine de surface sensible à la plasmine ( <i>pIs</i> ).	Diminue le caractère invasif des souches de SARM, agit comme une adhésine.
Protéine A ( <i>spa</i> ).	Invasion des défenses de l'hôte.

### 3- Infections staphylococciques

*S. aureus* est typiquement porté de façon asymptomatique par l'homme et les animaux. Cependant, il est responsable d'une large gamme d'états pathologiques nécessitant un traitement. La nature et l'étendue de la maladie dépendent des caractéristiques de la souche infectante, la susceptibilité de l'hôte et la voie d'entrée. *S. aureus* peut être responsable de deux types d'infections : les infections suppuratives et les toxémies staphylococciques (Corne, 2004; Proctor *et al*, 1998).

### 3-1- Infections suppuratives

Les infections les plus courantes sont les infections de la peau et des tissus mous incluant : les folliculites (infection limitée au follicule pileux), impétigo (infection cutanée fréquente chez l'enfant), furoncles (infection nécrotique profonde de follicule pileux), anthrax (groupe de furoncles), panaris, cellulites ou les sinusites et les otites. Il s'agit le plus souvent d'auto-infestations (Cunningham *et al*, 1996 ; Cohen, 2007).

Ces infections se compliquent parfois par l'extension locorégionale de l'infection, ou par la diffusion hématogène de la bactérie. *S. aureus* peut alors être responsable de septicémies, d'endocardites, de pneumopathie, d'ostéomyélites, d'arthrites, de méningites ou d'infection urinaire (Nauciel et Vildé, 2005)

#### 3-1-1- Les toxémies staphylococciques

*S. aureus* peut être responsable des infections toxiques staphylococciques qui regroupent le choc toxique staphylococcique, la maladie exfoliante généralisée, les toxi-infections alimentaires, la pneumonie nécrosante (Dinges, 2000).

**Tableau III** : Infections toxiques staphylococciques (Ghernaout-Benchouk, 2013)

Infections	Toxines
<b>Choc toxique staphylococcique</b>	Toxine du choc toxique staphylococcique 1 (TSST-1). Entérotoxines staphylococciques.
<b>Maladie exfoliante généralisée</b>	Exfoliatines.
<b>Toxi-infection alimentaires</b>	Entérotoxines staphylococciques.
<b>Pneumonie nécrosante</b>	LPV.

**Chapitre III : Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques****1- Historique**

En 1928, Alexander Fleming découvrait que la croissance bactérienne pouvait être inhibée par la présence d'un champignon filamenteux du genre *Penicillium*. En 1942, la pénicilline fut utilisée pour la première fois dans la prévention des infections à staphylocoques chez les brûlés à Boston. La résistance des staphylocoques vis-à-vis de la pénicilline est apparue 15 ans après (Gaudy et Buxeraud, 2005). En 1959, la Méthicilline a été utilisée pour le traitement des infections staphylococciques, un an plus tard les premières souches hospitalières de *S. aureus* résistantes à la Méthicilline (SARM) sont apparues dans un hôpital en Grande Bretagne (Dumitrescu *et al*, 2010).

**2- Définition des antibiotiques**

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

**3- Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action**

A partir de la découverte de la pénicilline, les découvertes de molécules nouvelles se sont succédé. L'abondance de ces dernières a rendu nécessaire leur classification en familles et sous-familles. Toutefois, les antibiotiques ont été classés en fonction de leur mode d'action.

On distingue quatre catégories de molécules selon Tandé (2005).

**3-1- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne**

- $\beta$ -lactamines
- Glycopéptides
- Fosfomycine

**3-2- Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines**

- Aminosides
- Macrolides
- Tétracyclines
- Rifampicine

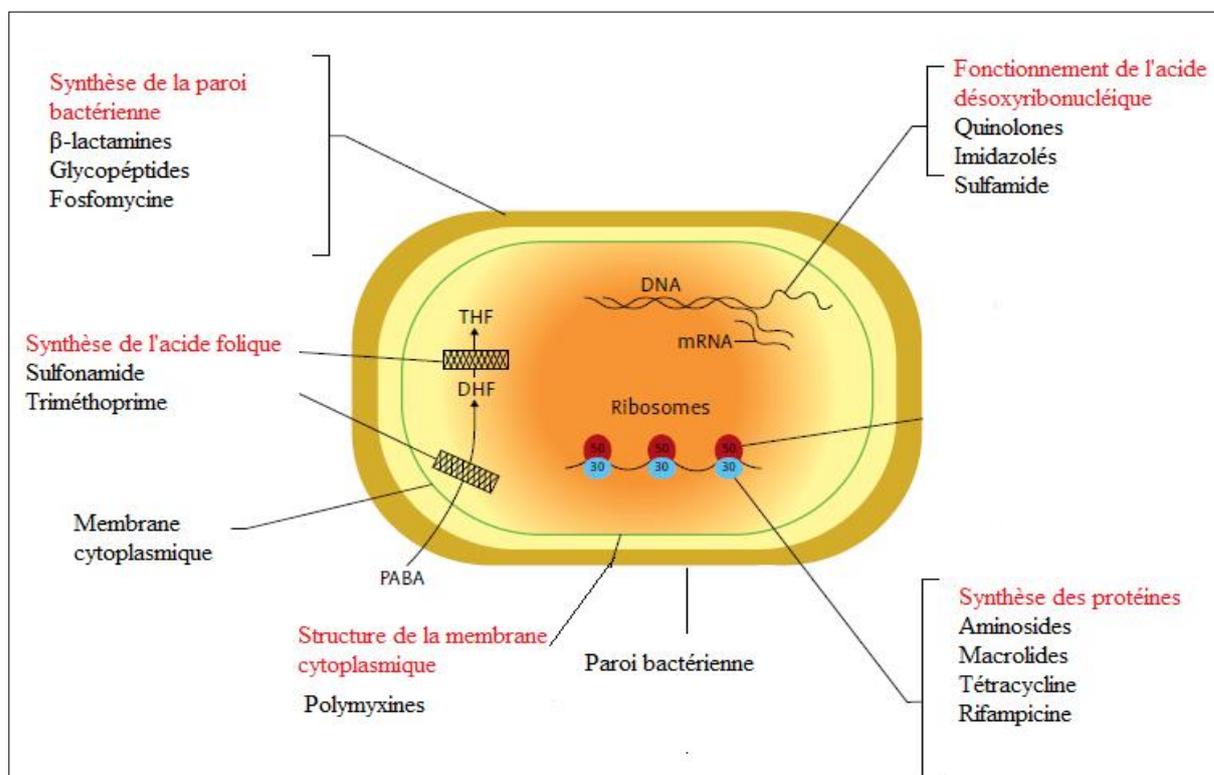
**3-3- Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique**

- Quinolones
- Imidazolés
- Sulfamides/triméthoprime

### 3-4- Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique

- Polymyxines

Les différents modes d'action des antibiotiques sur *S. aureus* sont élucidés dans la figure 04.



**Figure 04** : Différents modes d'action des antibiotiques (Medigan *et al.*, 2000).

### 4- Principaux modes de résistance des bactéries

La connaissance des mécanismes de résistances et leur compréhension doivent permettre une meilleure utilisation des antibiotiques dans le but de limiter l'émergence des souches résistantes et éviter l'apparition de nouveaux mécanismes de résistances. Dans ce qui suit le différent mode de résistance selon Tandé (2005).

#### 4-1- Phénomènes d'imperméabilité

Pour qu'un antibiotique soit actif il doit pénétrer jusqu'à sa cible. Cela suppose qu'il doit traverser les divers obstacles présents chez les bactéries. Ces obstacles varient selon la localisation de la cible et selon le type bactérien (Gram positif ou Gram négatif) et se présentent comme suit :

- La capsule ;
- La membrane externe ;
- L'espace péri-plasmique ;

Le peptidoglycane ;

La membrane cytoplasmique.

#### **4-2-Phénomène d'efflux**

Outre que l'imperméabilité, ce mécanisme explique la non accumulation à l'intérieur de la bactérie ; c'est l'excrétion. L'antibiotique rentre dans la bactérie mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible il est pris en charge par des protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie, ces protéines sont connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs. Ce système fonctionne avec une protéine de la membrane cytoplasmique qui est le transporteur ou pompe, une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine périplasmique chargée d'assurer les liaisons entre les précédentes. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour specific drug-resistance), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour multiple-drug-resistance). Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, alors que les pompes MDR sont responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques. (Muylaert et Mainil, 2012).

#### **4-3-Défaut d'affinité**

Après la pénétration de l'antibiotique, il existe une étape de reconnaissance de la cible. C'est à ce niveau qu'intervient ce type de résistance. Il s'agit :

- Soit d'une résistance naturelle avec la mauvaise affinité de certains antibiotiques pour les cibles ;
- Soit d'une résistance acquise avec modification des cibles et perte d'affinité des antibiotiques pour ces cibles.

#### **4-4- Résistance par modification enzymatique**

C'est le type de mécanisme le plus important. Plusieurs classes bactériennes et pratiquement toutes les espèces bactériennes sont concernées. Pour être actif, l'antibiotique doit arriver intacte à sa cible. Lorsqu'il y a modification de l'antibiotique par des enzymes présentes dans la bactérie à quelque niveau que ce soit, la forme modifiée de la molécule d'antibiotique est le plus souvent inactif. Ces enzymes se rencontrent de façon naturelle ou acquise chez les bactéries d'intérêt clinique.

### **5- Mode d'action des antibiotiques et mécanismes de résistances chez *staphylococcus aureus***

#### **5-1- Résistance aux bêta-lactamines**

Les bêta-lactamines sont des antibiotiques bactéricides temps-dépendants, actifs sur les bactéries en phase de croissance (Cattoir et Leclercq, 2012). Toutes les molécules appartenant à cette famille ont le même mécanisme d'action (Daurela et Leclercq, 2008). Elles agissent en inhibant les enzymes appelées « protéines liant les pénicillines » ou PLP qui sont impliquées dans la biosynthèse et le remaniement du peptidoglycane.

Les bêta-lactamines présentent une grande analogie structurale avec les motifs D-Ala-D-Ala des précurseurs du peptidoglycane, pour cela chez *S. aureus*, l'activité anti-staphylococcique d'une bêta-lactamine est corrélée avec l'affinité pour la fixation à la PLP (Cattoir et Leclercq, 2012). La fixation des bêta-lactamines à ces cibles entraîne l'absence de polymérisation du peptidoglycane et la synthèse par la bactérie d'autolysines conduisant à sa mort (Daurela et Leclercq, 2008).

Chez les staphylocoques, existe deux mécanismes de résistance aux bêta-lactamines : la production de bêta-lactamase et la modification de la PLP (Cattoir et Leclercq, 2012).

#### ➤ Production de bêta-lactamases

Les bêta-lactamases sont un groupe hétérogène d'enzymes d'origine bactérienne (Cavallo, 2004) codée le gène *blaZ*, qui est présent chez 90 % des souches de *S. aureus* capables d'inactiver les bêta-lactamines (Cavallo, 2004) en se fixant au niveau du cycle bêta-lactame. Ceci correspond sensiblement à la réaction qui a lieu entre les bêta-lactamines et le site actif des PLP. La différence majeure étant que cette réaction est irréversible (ou très lentement réversible) avec les PLP alors qu'elle est réversible (beaucoup plus rapide) avec les bêta-lactamases (Cattoir et Leclercq, 2012).

La bactérie peut modifier le type de bêta-lactamase produite, en incorporant de nouveaux gènes ou en modifiant par mutation des gènes existants, dans le cas d'introduction d'une nouvelle bêta-lactamine résistante aux bêta-lactamases (Cavallo, 2004).

#### ➤ Modification de la cible des bêta-lactamines (PLP)

Ce mécanisme de résistance requiert la présence d'un gène *mecA* ou *mecC*, porté sur un élément génétique mobile (*SCCmec*), ce gène code pour le déterminant-clé de cette résistance qu'est la PLP2a, qui présente une faible affinité pour les bêta-lactamines, et qui assure l'activité trans-peptidase nécessaire à la synthèse du peptidoglycane en présence de concentrations de bêta-lactamines qui inhibent les autres PLP normalement produites par *S. aureus* (Hiramatsu *et al.*, 2002).

### 5-2- Résistance aux glycopeptides

Les glycopeptides (la vancomycine et la teicoplanine), sont des antibiotiques exerçant un effet bactéricide lent (Tankovic *et al.*, 1997). Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane, en utilisant une caractéristique des précurseurs de ce dernier qui est de comporter un acyl-D-alanyl-D-alanine à leur extrémité (Daurela et Leclercq, 2008). Les glycopeptides se lient par des liaisons hydrogène aux D-Ala-D-Ala terminaux des précurseurs pentapeptidiques avec une haute affinité bloquant ainsi l'addition des précurseurs par transglycosylation à la chaîne du peptidoglycane naissant et prévenant les étapes ultérieures de polymérisation catalysées par les D,D-transpeptidase, ceci aboutit à l'accumulation cytoplasmique de précurseurs (Leclercq, 2012).

La résistance aux glycopeptides est due à la présence d'opérons qui spécifient des enzymes pour la synthèse de précurseurs de faible affinité dans lesquels le D-Ala C-terminal est remplacé

par un D-lactate (D-Lac) ou une D-serine (D-Ser) et l'élimination des précurseurs de haute affinité produits par la bactérie hôte. Les *S. aureus* résistant à la vancomycine (VRSA), sont des souches ayant acquis l'opéron *vanA* d'entérocoques porté par des plasmides d'où vient leurs résistances au glycopeptides (Leclercq, 2012).

### 5-3-Résistance aux aminoglycosides

Les aminoglycosides sont des antibiotiques hydrosolubles de type cationique, très stables, à spectre large (Bismuth et Courvalin, 2012). Ils inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien (Daurela et Leclercq, 2008). Leur utilisation répond au souhait d'obtenir une synergie bactéricide avec un inhibiteur de la paroi bactérienne (glycopeptide ou bêta-lactamine) (Leclercq, 2002). Chez *S. aureus*, la pénétration de ces molécules est selon un processus actif requérant de l'énergie (Tankovic *et al*, 1997).

La résistance acquise des staphylocoques aux aminosides est surtout due à la production d'enzymes inactivatrices. Ces enzymes sont divisées en trois classes selon la réaction catalysée : r aminoside N-acétyltransférase (AAC) : acétylation d'un groupement -NH<sub>2</sub> ; r aminoside O-phosphotransférase (APH) : phosphorylation d'un groupement -OH ; r aminoside nucléotidyltransférase (ANT) : nucléotidylation d'un groupement -OH (Daurela et Leclercq, 2008). La synthèse de ces enzymes est sous le contrôle des gènes endogènes plasmidiques ou transposables (Bismuth et Courvalin, 2012).

### 5-4- Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) sont des antibiotiques distincts chimiquement mais rassemblés dans un même groupe (Leclercq, 2012). Les macrolides présentent une structure chimique commune constituée d'un macrocycle avec des fonctions lactones, les lincosamides sont composés de la lincomycine et de la clindamycine et les streptogramines qui sont une association des deux composés, le composé A (dalfopristine) et le composé B (quinupristine) (Daurela et Leclercq, 2008). Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse protéique qui agissent lors de l'élongation des chaînes peptidiques (Tankovic *et al*, 1997), en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien (Leclercq, 2012). Les macrolides et lincosamides exercent une activité bactériostatique vis-à-vis des staphylocoques (Tankovic *et al*, 1997), qui n'est pas le cas pour les streptogramines qui est bactéricide (Daurela et Leclercq, 2008). Chez les staphylocoques, la résistance est croisée entre les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B, car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs. La résistance est due à la méthylation d'une adénine de l'ARN ribosomal 23S, la méthylation de cette adénine qui joue un rôle clé dans la fixation des macrolides empêche la liaison de ces molécules à leur cible. Cette résistance est codée par des gènes *erm* (erythromycin ribosome methylase). Chez *S. aureus*, les deux principaux gènes identifiés sont *erm* (A) et *erm* (C).

Le mécanisme de résistance le plus important chez *S. aureus* est la présence d'une pompe ATP-dépendante codée par le gène plasmidique *msrA* qui va conférer une résistance par efflux aux macrolides ainsi qu'aux streptogramines B (Daurela et Leclercq, 2008). Tandis que, la modification de la cible par mutation de protéines ribosomales est rare chez les staphylocoques (Leclercq, 2012).

### 5-5- Résistance aux quinolones

Les quinolones sont des inhibiteurs de l'ADN gyrase composée de deux sous-unités GyrA et GyrB (Enguhard, 2005 ; Gueiffier, 2005), qui catalyse le surenroulement négatif de l'ADN, et de l'ADN topo-isomérase IV composée de deux sous-unités ParC et ParE, qui est responsable de la décaténation des chromosomes au cours de la réplication (Luttinger, 1995). En se liant aux complexes ADN-topoisomérase, les quinolones induisent un changement de conformation de l'enzyme et bloquent le processus de coupure-ligation de brin d'ADN. Ce blocage inhibe de façon réversible la croissance bactérienne (Varon, 2012).

L'acquisition de la résistance chez *S. aureus* est liée à deux mécanismes le premier étant la survenue de mutations chromosomiques dans les gènes *gyrA* et *parC* (Ferrero, 1995), le second est un système d'efflux actif grâce à une protéine transmembranaire codée par le gène chromosomique *norA* (Quincampoix et Mainardi, 2001).

### 5-6- Résistance aux tétracyclines

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre, actifs sur les bactéries à Gram positive. Ces molécules ont été largement prescrites en thérapeutique humaine et vétérinaire. Elles sont des inhibiteurs de la phase d'élongation de la synthèse protéique, elles se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome et aux nucléotides de l'ARN<sub>r</sub> 16S, pour empêcher la fixation de l'aminoacyl ARN<sub>t</sub> (Tazi et Poyart, 2012).

La plupart des méthodes de résistance sont causées par un efflux actif de tétracycline (vandendriessche *et al*, 2011). La résistance chromosomique à la tétracycline peut se développer pendant le traitement, ce risque peut être réduit en utilisant plusieurs antimicrobiens (Schwarz *et al*, 2004 ; Schwarz *et al*, 2006).

### 5-7- Résistance aux rifampicines

La rifampicine est un antimicrobien bactéricide semi-synthétique, il bloque l'initiation de la transcription en inhibant sélectivement la synthèse d'ARN messager par la liaison à la transcriptase (ARN polymérase ADN-dépendante). La liaison est stœchiométrique et le site de fixation est localisé dans la sous-unité  $\beta$  de cette protéine (Tankovic *et al*, 1997).

Plusieurs études ont montré que la résistance à la rifampicine pouvait rapidement résulter de mutations du gène *rpoB*. Jusqu'à présent, de nombreuses mutations de ce gène ont été détectées dans des isolats cliniques de *S. aureus* provenant d'humains ou de souches de laboratoire (Villar *et al*, 2011; Zhou *et al*, 2012). En revanche, peu d'informations sont disponibles sur *S. aureus* résistant à la rifampicine provenant d'animaux (Li *et al*, 2016). Dans le gène *rpoB*, les mutations observées se sont regroupées dans trois régions différentes.

Il est devenu évident que toutes les mutations n'avaient pas le même effet sur les CMI de la rifampicine et que des isolements occasionnels portant deux ou trois mutations de *rpoB* présentaient des CMI plus élevées que les isolats présentant une seule mutation de *rpoB* (Aubry-Damon *et al*, 1998; Villar *et al*, 2011 ; Li *et al*, 2016).

### 5-8- Résistance aux sulfamides

Les sulfamides sont la première classe d'antimicrobiens développée, ils sont utilisés depuis 1932 (Huovinen, 1995). Ils forment l'une des rares familles d'antibiotiques dont le mécanisme d'action est élucidé à l'échelle moléculaire (Bushby, 1983). Le mécanisme d'action est lié à l'analogie des sulfamides par isostérie avec le PAB (acide para-amino-benzoïque). Les sulfamides se substituent à PAB et bloquent la dihydroptéroate-synthétase qui est une enzyme indispensable à la formation du précurseur de certains acides aminés et de bases azotées, à savoir, l'acide folique (Sköld, 2000) par compétition soit en créant un blocage enzymatique, soit en étant utilisés à la place du PAB ; il se forme alors des produits anormaux ne permettant pas la croissance bactérienne (Barret, 2005).

Chez *S. aureus*, la résistance aux sulfamides est fréquente (30 à 50 % des souches de *S. aureus* sensibles à la méticilline et 80 à 95 % des SARM), souvent par modification de la cible (Daurela et Leclercq, 2008).

### 5-9- Résistance à la méticilline (SARM)

*S. aureus* présente de nombreuses résistances vis-à-vis des antibiotiques notamment la méticilline, première pénicilline semi synthétique non sensible aux pénicillinases (Luzar *et al*, 1990). Cependant, certaines souches ont développé une résistance connue sous le nom de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) (Freeman-Cook J et Freeman-Cook D, 2006).

La résistance à la méthicilline chez *S. aureus* s'est développée grâce à l'acquisition du gène *mecA* (Lambert, 2005). Ce gène code pour la protéine 2  $\alpha$  de liaison à la pénicilline qui appartient à un groupe d'enzymes liées à la membrane qui catalysent la réaction de trans-peptidation nécessaire à la réticulation de la couche de peptidoglycane (Grundmann *et al*, 2006). Le complexe de gènes *mecA* permet également la résistance croisée à des antibiotiques non bêta-lactamiques tels que l'érythromycine, la clindamycine, la gentamicine, le cotrimoxazole et la ciprofloxacine en raison de la présence de sites d'insertion de plasmides et de transposons (Chambers, 2001).

Dernièrement, un nouveau gène du mécanisme de résistance à la méticilline, *mecC*, a été décrit chez *S. aureus* (Porrero *et al*, 2014). Sa présence est décrite chez le bétail, les animaux de compagnie, les animaux sauvages et les humains (Paterson *et al*, 2014). Initialement, les souches de SARM n'étaient impliquées que dans les infections nosocomiales (HA-MRSA); plus tard, un nouveau groupe de SARM, appelé SARM associé à la communauté (CA-SARM), est apparu chez des individus en bonne santé sans lien avec le milieu hospitalier (Luini *et al*, 2015).

Cependant, outre que le secteur de la santé et la communauté, les SARM sont largement répandus parmi le bétail et touchent plus de 40% des porcs allemands, 20% des bovins et 20 à 90% des dindons. C'est ce qui est connu sous le nom de LA- SARM (Idelevich *et al*, 2015; Köck *et al*, 2014).

La diffusion internationale rapide et inter-espèces a rendu les choses difficile à savoir sur les forces de sélection responsables de l'apparition soudaine de ces bactéries dans les différents réservoirs d'animaux. Cependant, il est raisonnable de penser que ces premiers rapports sporadiques étaient dus à des souches d'origine humaine. La transmission zoonotique de LAMRSA ST398 à des personnes exposées à des animaux est actuellement considérée comme un risque important pour la santé au travail. La présence rare de LA-MRSA ST398 dans les zones urbaines suggère que le rôle de la transmission d'origine alimentaire est négligeable (van *et al*, 2007).

Divers types de preuves ont montré que la propagation du SARM chez l'homme est liée à l'utilisation d'antimicrobiens, en particulier les antimicrobiens à spectre large tels que les céphalosporines et les fluoroquinolones de troisième génération (Fukatsu *et al*, 1997; Nicastr *et al*, 2008).

L'utilisation vétérinaire de ces agents antimicrobiens aurait également pu jouer un rôle dans les récentes épidémies de SARM-LA. Une étude longitudinale réalisée dans des troupeaux d'animaux a montré des taux de transmission plus élevés de LA-MRSA ST398 chez les porcs traités avec des agents antimicrobiens, par rapport aux porcs non traités, ce qui suggère que l'utilisation d'antimicrobiens pourrait favoriser la transmission du LA-SARM au sein des fermes (Broens *et al*, 2012).

L'absence de contrôle du SARM-LA peut avoir de graves conséquences cliniques et socio-économiques. D'autre part, les stratégies d'intervention contre le SARM-LA chez les animaux d'élevage peuvent avoir de graves conséquences économiques pour les agriculteurs et le secteur de l'alimentation (Guardabassi *et al*, 2013).

**Tableau IV** : Principaux mécanismes de résistance selon la classe pharmacologique (Carle, 2009).

Antibiotiques	Résistance chromosomique	Résistance extra-chromosomique
<b>Aminosides</b>	Réduction de la perméabilité, Modification de la cible (protéine S12 sous-unité 30S).	Inactivation par acétyltransférases, Nucléotidyltransférases et phosphotransférases.
<b><math>\beta</math>-lactamines</b>	Réduction de la perméabilité,  Baisse d'affinité des PLP, Inhibition de synthèse des PLP, Synthèse de nouvelles PLP, Inactivation enzymatique par des céphalosporinases.	Inactivation par diverses $\beta$ -lactamases ou carbapénémases.
<b><math>\beta</math>-lactamines et inhibiteurs de <math>\beta</math>-lactamases</b>	Inactivation par des céphalosporinases chromosomiques.	Inactivation par $\beta$ -lactamases hyperproductrices de et $\beta$ -lactamases résistantes aux inhibiteurs.
<b>Glycopeptides</b>		Modification de la cible, Baisse d'affinité.
<b>Macrolides</b>		Méthylation du ribosome bactérien (ARN 23S).
<b>Chloramphénicol</b>	Réduction de la perméabilité.	Efflux actif, Inactivation par acétyltransférases.
<b>Quinolones</b>	Modification de la cible ADN- gyrase ou topoisomérase IV (gène gyrA, gyrB ou parC) par mutation spontanée, Réduction de la perméabilité.	
<b>Rifampicine</b>	Modification de la cible (ARN polymérase ADN dépendante).	
<b>Sulfamidés</b>	Réduction de la perméabilité,  Modification par mutation de la dihydroptéroate synthétase.	Dihydroptéroate synthétase additionnelle sans affinité pour sulfamidés.
<b>Tétracyclines</b>	Réduction de la perméabilité.	Efflux actif spécifique.
<b>Triméthoprime</b>	Réduction de la perméabilité,  Mutation de dihydrofolate réductase.	Dihydrofolate réductase additionnelle insensible au triméthoprime.

# **Partie experimentale**

## Chapitre I : Matériels et méthodes

### 1- Matériels

- Autoclave (pbi international, Milano)
- Bain-Marie (Mettler, Germany)
- Balance électronique (Denver instrument, USA)
- Bec Bunsen
- Etuve microbiologique (Mettler, Germany)
- Réfrigérateur (Essalem Electronics, Algérie)
- Spectrophotomètre (Medline, United Kingdom)
- Vortex (Heidolph, Germany)
- Verrerie et outils : boîtes de Pétri, tubes à essai, pipettes Pasteur, écouvillons, tubes à hémolyse, anse à boucle, micropipette, embouts (0.1 et 1mL), spatules, Cryotubes, cuves de spectrophotomètre, flacons en verre, pince bactériologique.

### Milieux de culture et réactifs

- Disques d'antibiotiques (Liofilchem, Italy)
- Bouillon Chapman (Conda Pronadisa, Espagne)
- Bouillon Clark et Lubs (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- Bouillon cœur-cerveau (Biokar, France)
- Eau distillée stérile
- Eau physiologique stérile
- Emulsion de jaune d'œuf
- Gélose à ADN (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose Baird Parker (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose Chapman (Conda Pronadisa, Espagne)
- Gélose Muller-Hinton (Conda Pronadisa, Espagne)
- Glycérol
- HCl37% (MERCK, Germany)
- Gélose TSYEA (Conda Pronadisa, Espagne)
- Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Cosmania, Algérie)
- Plasma humain (CHU, Tizi-Ouzou)
- Tétracycline de potassium (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- Voges Proskauer I (VPI : NaOH 16%) et II (VPII :  $\alpha$  Naphthol 6%) (Institut Pasteur d'Alger, Algérie).

### Matériels biologiques

- Souches de référence :
  - Staphylococcus aureus* ATCC 43300.
  - Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

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

## 2- Méthodes

### 2-1- Objectifs de l'étude

L'objectif principal de notre étude est l'isolement de souches de *Staphylococcus aureus* du mucus nasal chez les bovins laitiers, les éleveurs (portage nasal) et à partir du lait cru produit au sein de ces élevages laitiers. Le second objectif est la détermination du profil de résistance des souches isolées vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques utilisées en médecine vétérinaire et en médecine humaine, et ceci dans le but de prévoir la présence de souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) chez ces animaux de rente et de mettre en évidence le risque sanitaire associé au contact de ces animaux avec les éleveurs (zoonose).

### 2-2- Durée et lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée durant la période allant du mois de février au mois de mai 2019 au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) de l'université MOULOUD MAMMERI, Tizi-Ouzou. Les prélèvements ont été effectués au sein de quatre élevages laitiers de la région de Tizirt (Wilaya de Tizi Ouzou).

### 2-3- Types et natures des prélèvements

Au cours de notre étude, 116 prélèvements ont été réalisés et soumis à la recherche et l'identification de *S. aureus*. Ces prélèvements ont été réalisés à travers quatre élevages laitiers de taille moyenne, situés dans la région de Tizirt (Tizi Ouzou). Ils comprennent 95 prélèvements de la cavité nasale chez des vaches laitières saines, 4 prélèvements chez des éleveurs en contact avec ces animaux de rente et enfin 17 échantillons du lait cru (13 échantillons du lait individuel et 4 échantillons du lait de mélange). L'écouvillonnage est effectué chez des sujets sains, que ça soit chez les vaches (à l'exception d'une seule vache souffrant d'une infection) et chez les éleveurs. Toutes les vaches laitières visées par cette étude n'ont pas subi de traitement d'antibiotiques au moins d'une durée d'un mois. Plus d'informations sont présentés dans le tableau V.

**Tableau V** : Informations Concernant Les Fermes Visitées et Les Prélèvements Effectués

Fermes	Localisation	Nombre de vaches	Type de vaches	Nombre de vaches écouvillonnées	Nombre d'échantillons de lait	Nombre d'éleveurs
<b>Ferme 01</b>	Ichikar	25	Montbéliarde	15	13	01
<b>Ferme 02</b>	Ichikar	20	Montbéliarde	19	01 mélange	01
<b>Ferme 03</b>	Thalatohrast	30	Montbéliarde / Holstein	20	01 mélange	01
<b>Ferme 04</b>	Tazart	58	Holstein	41	01 mélange 01 vache malade	01

Les prélèvements nasaux des bovins et des éleveurs ainsi que la récolte des échantillons du lait ont été réalisés dans les fermes visitées et représentées ci-dessus sous des conditions contrôlées afin d'éviter le maximum de contaminants possibles.

➤ **Prélèvement nasal chez les bovins**

Les prélèvements nasaux chez les vaches laitières ont été réalisés comme suit :

- Laver les mains et porter des gants ;
- Contentionner l'animal ;
- Nettoyer les deux narines à l'aide de l'eau et une serviette propre ;
- Préparer les écouvillons (moyen de prélèvement) et le bouillon Chapman (moyen de transport) ;

-Introduire délicatement l'écouvillon dans la narine et l'insérer à une distance de 10 cm pour atteindre les meatus ventral et effectuer un mouvement de rotation dans la cavité nasal, avant le retrait de l'écouvillon. Cette opération est répétée de la même manière pour la deuxième narine ;

- Mettre l'écouvillon dans le bouillon Chapman ;

- Identifier chaque tubeensemencé.



**Figure 05 :** Ecouvillonnage nasal chez le bovin (photo personnelle).

➤ **Prélèvement nasal chez les éleveurs**

-Appliquer le même procédé d'écouvillonnage que chez les bovins et ceci après avoir expliqué aux éleveurs l'intérêt que porte cette étude.

➤ **Prélèvement du lait de vache**

Le prélèvement du lait chez les vaches laitières a été réalisé comme suit :

- Enfiler des gants ;
- Nettoyer les trayons à l'aide de l'eau et une serviette propre ;
- Eliminer les premiers jets de lait pour réduire le nombre de bactéries dans le canal du trayon ;
- Préparer les flacons stériles en plastique comme moyen de transport ;
- Prélever du lait sans toucher le trayon avec le flacon afin d'éviter une probable contamination

### 2.4. Transport et conservation des échantillons

Les prélèvements effectués sont maintenus dans un réfrigérateur avant leur transport au laboratoire où s'effectuent les différentes analyses.

## 3. Analyse des échantillons

La recherche de *S. aureus* dans les différents prélèvements a été effectuée en deux étapes : un enrichissement sur un bouillon sélectif (bouillon Chapman), suivi d'un isolement sur la gélose sélective Baird Parker.

### ➤ Enrichissement

L'enrichissement a été effectué sur le bouillon Chapman où les prélèvements nasaux ont été transportés et incubé dans une étuve à 37°C pendant 24h.

Pour le lait, 1ml a été prélevé et ensemencé dans le bouillon Chapman, puis incubé à 37°C pendant 24h. Après l'incubation les tubes présumés comme étant positifs sont virés vers le jaune.

### ➤ Isolement

L'isolement se fait sur la gélose Baird Parker (BP), qui est un milieu sélectif pour les staphylocoques à coagulase positive.

A partir de chaque tube positif, 0.1mL sont prélevés aseptiquement, puis ensemencés sur une boîte de Pétri contenant la gélose Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de téllurite de potassium. Un étalement est ensuite réalisé. Les Boîtes de Pétri sont ainsi incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après incubation, des colonies caractéristiques de *S. aureus* (colonies rondes à bords réguliers, lisses, bombées, d'un diamètre de 1 à 3mm, noires et ayant un halo claire), sont apparues dans quelques boîtes de milieu BP.

### ➤ Purification

Une à cinq colonies caractéristiques ont été choisies, puis ensemencées sur la gélose BHI ou TSYEA. La purification est réalisée après des repiquages successifs. Ainsi, les colonies pures obtenues ont fait l'objet d'une identification biochimique.

### ➤ Identification biochimique de *S. aureus*

Quatre tests biochimiques ont été réalisés pour identifier *S. aureus* parmi les souches suspectées, il s'agit de la mise en évidence de la catalase, la coagulase, l'ADNase et la production d'acétoïne. Les deux souches de référence : *S. aureus* ATCC 43300 et *S. aureus* ATCC 25923 sont utilisées comme témoins positifs pour ces tests biochimiques.

#### • Mise en évidence de la catalase

Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader en H<sub>2</sub>O et en O<sub>2</sub> grâce aux enzymes qu'elles synthétisent, notamment la catalase.



Le test est réalisé par le dépôt d'une colonie provenant d'une boîte de BHI contenant une souche suspecte dans une goutte d'eau oxygénée. Le test est présumé positif lorsqu'il y'a dégagement de bulles de gaz.

- **Mise en évidence de la coagulase**

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

Le test est réalisé par le mélange de 0.5 ml d'une culture de *S. aureus* sur le bouillon cœur cervelle (BHIB) avec 0.5 ml du plasma humain. Un témoin positif est réalisé en utilisant la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923. L'incubation est faite à 37°C de 1h à 4h.

Le test est considéré comme positif lorsqu'il y a une prise en masse du plasma (formation d'un caillot).

- **Mise en évidence de l'ADNase**

Certaines bactéries ont la capacité d'hydrolyser l'ADN grâce à une enzyme, l'ADNase. Cette enzyme est recherchée par la culture des souches à tester sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose à ADN. Une colonie issue du milieu BHI, est ensemencée en strie centrale sur cette gélose à ADN, puis incubée à 37°C pendant 24h. La mise en évidence de l'ADNase est révélée par l'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. Ainsi, la souche est considérée comme étant positive.

- **Mise en évidence de l'acétoïne (Voges Proskauer) (VP)**

Ce test permet la mise en évidence de la production d'acétoïne (ou 3-hydroxy-butanone) au cours de la fermentation butylène glycolique : en présence d'une base forte (soude ou potasse) et d' $\alpha$ -naphtol, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné.

Une colonie issue du milieu BHI est ensemencée sur le milieu Clark et Lubs, incubé à 37°C pendant 24-48h. La révélation de l'acétoïne sur le milieu Clark et Lubs est réalisée en ajoutant 15 gouttes de réactif VPI ( $\alpha$  naphtol à 6%) et 15 gouttes de VPII (NaOH à 4N). La souche est considérée VP+ si c'est une coloration rouge apparait à la surface du milieu puis diffuse dans tous le milieu.

#### **4. Antibiorésistance des souches isolées**

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Les souches de *S. aureus* isolées durant notre étude ont été soumises à 09 molécules d'antibiotiques listés dans le tableau ci-dessous, selon la méthode de diffusion des disques sur gélose Muller-Hinton, en suivant les recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) (2018).

**Tableau VI :** Liste des molécules d'antibiotiques testés sur les souches isolées

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Marque
<b>β-lactamines</b>	Pénicilline	P	10UI	Liofilchem, Italie
	Céfoxitine	FOX	30	Liofilchem, Italie
<b>Aminoglycosides</b>	Gentamycine	CN	10	Liofilchem, Italie
	Néomycine	N	30	Liofilchem, Italie
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	ERY	15	Liofilchem, Italie
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline	TET	30	Liofilchem, Italie
<b>Quinolones</b>	Ofloxacin	OFX	5	Liofilchem, Italie
<b>Phénicol</b>	Chloramphénicol	CHL	30	Liofilchem, Italie
<b>Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique</b>	Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	SXT	25	Liofilchem, Italie

#### 4.1. Technique de l'antibiogramme

Les souches à étudier sont repiquées sur milieu BHI afin d'avoir des cultures jeunes. Une suspension bactérienne d'une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 est préparée à partir de cette culture jeune. L'antibiogramme est réalisé par la technique d'écouvillonnage, en appliquant des stries serrées sur toute la surface de la gélose. Ensuite, des disques d'antibiotiques sont appliqués à l'aide d'une pince stérile. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures. Après la lecture des zones d'inhibition, les souches sont classées en : souches sensibles, souches intermédiaires et souches résistantes, selon les recommandations du CLSI (2018) et de CASFM (2018).

#### 5. Conservation des souches identifiées

Après avoir identifié et codifié toutes les souches, Ces dernières sont repiquées sur le bouillon BHIB, puis incubée à 37°C/24h. La conservation de ces isolats est réalisée dans des cryotubes par l'ajout d'un volume de cette culture bactérienne à deux volumes de glycérol. Ces tubes sont maintenus à -20°C.

## Chapitre II : Résultats et discussion

## 1- Résultats

1-1-Prévalence de *S. aureus*

Au cours de notre étude, 116 prélèvements ont été réalisés à travers quatre élevages laitiers de taille moyenne, situés dans la région de Tizirt (Tizi Ouzou). Sur ce nombre total des prélèvements, 37 colonies caractéristiques du genre *staphylococcus* ont été isolées sur la gélose sélective Baird-Parker. Les tests biochimiques ont pu confirmer 32 souches de *S. aureus* réparties comme suit : 23 souches isolées de la cavité nasale des vaches laitières saine, 06 souches des éleveurs en contact direct avec ces animaux et les 3 dernières souches à partir du lait cru produit au sein de ces élevages (Tableau VII).



Colonies caractéristiques avec un halo clair

**Figure 06 :** Aspect des colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus* sur Baird Parker

La fréquence d'isolement de *S. aureus* est variable selon le type de prélèvement. En effet, sur un total de 95 prélèvements nasaux, seulement 14 vaches se sont révélées porteuses de *S. aureus*. Tandis que, le taux d'isolement de *S. aureus* est de 50% et 17.64% chez les éleveurs et dans le lait cru. En revanche, ces taux d'isolement doivent être interprétés avec précaution, étant donné de la taille réduite des prélèvements effectués.

**Tableau VII :** Fréquence d'isolement de *S. aureus* selon le type de prélèvement

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Fréquence d'isolement (%)
Ecouvillonnage nasal (vache)	95	14	14.73
Ecouvillonnage nasal (éleveur)	04	02	50
Lait cru	13 laits individuels 04 laits de mélange	03	17.64
<b>Total</b>	116	19	16.38

**Tableau VIII** : Nombre de souches de *S. aureus* isolées selon le type de prélèvement

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de souches de <i>S. aureus</i> isolées
<b>Ecouvillonnage nasal</b> (vache)	95	23
<b>Ecouvillonnage nasal</b> (éleveur)	04	06
<b>Lait cru</b>	13 laits individuels 04 laits de mélange	03
Total	116	32

### 1-2- Antibio-résistance des souches de *S. aureus* isolées

Les résultats obtenus montrent bien l'existence de résistances vis-à-vis les antibiotiques testés, avec des pourcentages différents selon les familles étudiées. En effet, de fortes résistances ont été enregistrées vis-à-vis de la pénicilline G et de de la tétracycline, avec des taux de 75% et de 71.87% respectivement. Des résistances relativement faibles ont été observées vis-à-vis de la céfoxitine, l'érythromycine, la néomycine et l'ofloxacin, avec des pourcentages de 18.75%, 9.37%, 15.62% et 12.5% respectivement. Aucune résistances vis-à-vis les autres molécules (chloramphénicol, gentamicine et triméthoprime/sulfaméthoxazole) n'ont été observées.

Tableau IX : Résistance des souches de *S. aureus* (n=32) vis-à-vis les antibiotiques testés

Types de prélèvements Antibiotiques	Vaches		Eleveurs		Lait		Total	
	S	R	S	R	S	R	S	R
<b>Pénicilline</b>	<b>5</b> (21.73%)	<b>18</b> (78.26%)	<b>1</b> (16.66%)	<b>5</b> (83.33%)	<b>2</b> (66.66%)	<b>1</b> (33.33%)	<b>8</b> (25%)	<b>24</b> (75%)
<b>Céfoxitine</b>	<b>17</b> (73.91%)	<b>6</b> (26.08%)	<b>6</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>26</b> (81.25%)	<b>6</b> (18.75%)
<b>Chloramphénicol</b>	<b>23</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>6</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>32</b> (100%)	<b>0</b> (0%)
<b>Erythromycine</b>	<b>20</b> (86.95%)	<b>2</b> (8.69%)	<b>5</b> (83.33%)	<b>1</b> (16.66%)	<b>2</b> (66.66%)	<b>0</b> (0%)	<b>27</b> (84.37%)	<b>3</b> (9.37%)
<b>Triméthoprim/ Sulfaméthoxazole</b>	<b>23</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>6</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>32</b> (100%)	<b>0</b> (0%)
<b>Tétracycline</b>	<b>3</b> (13.04%)	<b>20</b> (86.95%)	<b>3</b> (50%)	<b>2</b> (33.33%)	<b>2</b> (66.66%)	<b>1</b> (33.33%)	<b>8</b> (25%)	<b>23</b> (71.87%)
<b>Gentamycine</b>	<b>23</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>6</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>32</b> (100%)	<b>0</b> (0%)
<b>Néomycine</b>	<b>20</b> (86.95%)	<b>3</b> (13.04%)	<b>4</b> (66.66%)	<b>2</b> (33.33%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>27</b> (84.37%)	<b>5</b> (15.62%)
<b>Ofloxacine</b>	<b>21</b> (90.30%)	<b>2</b> (8.69%)	<b>4</b> (66.66%)	<b>2</b> (33.33%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>28</b> (87.5%)	<b>4</b> (12.5%)

S : Sensible ; R : Résistante



Figure 07 : Souche de *S. aureus* sensible à la métiline (SASM multi-résistant)

(Photo prise au laboratoire)

### 1-3- Profils de multi résistances des souches de *S. aureus* isolées

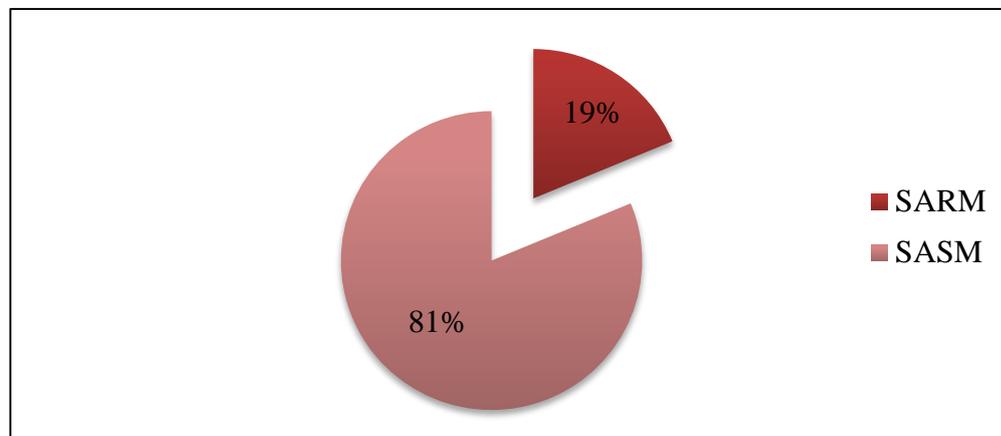
Sur un total de 32 souches isolées, 09 ont exprimé des multi-résistances, soit une fréquence de 28.12%. Cinq phénotypes de multi-résistance ont été observés (tableau X). Le phénotype le plus observé est P-FOX-TE, avec 4 souches.

**Tableau X** : Phénotypes de multi-résistances des souches de *S. aureus*

Type de prélèvements	Profils de multi résistance	Nombre de souches
<b>Vaches</b>	P/FOX/TE	04
	P/FOX/TE/N	01
	P/FOX/N	01
	TE/N/OFX	01
	P/TE/OFX	01
<b>Eleveur</b>	P/TE/OFX	01
<b>Lait</b>	/	00

### 1-4- Fréquence d'isolement de *S. aureus* résistant à la métilcilline (SARM)

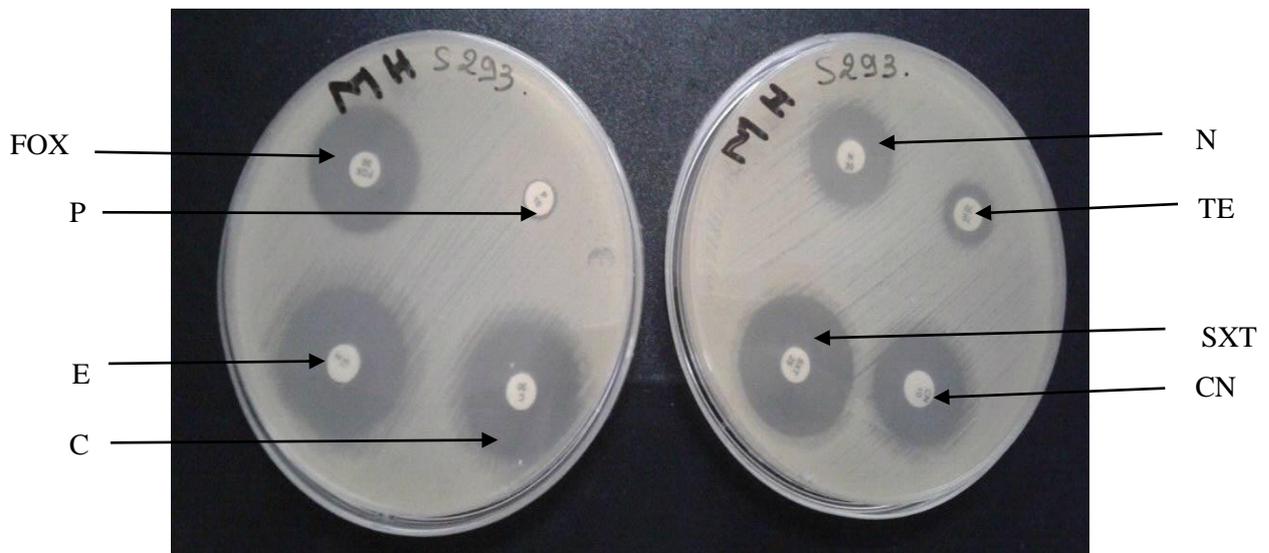
Sur les 32 souches de *S. aureus* isolées, 06 souches ont été considérées comme des SARM (Figure 09). Toutes ces dernières ont été isolées chez les vaches laitières de la même ferme (ferme 4). En revanche, aucune souche SARM n'a été isolée chez les éleveurs et dans le lait cru. Les souches SARM isolées ont exprimé une résistance vis-à-vis de la tétracycline et de la néomycine, en plus de leur résistance aux bêtalactamines (pénicilline G et céfoxitine)



**Figure 08** : Fréquence d'isolement de *S. aureus* résistant à la métilcilline (SARM)

**Tableau XI** : Phénotypes de résistances des souches SARM isolées

Phénotypes de résistance	Nombre de souches
P/FOX/TE	4
P/FOX/TE/N	1
P/FOX/N	1
<b>Total</b>	<b>6</b>

**Figure 09** : Souche de *S. aureus* multi-résistante (SARM)

## 2- Discussion

*Staphylococcus aureus* est un commensal et un agent pathogène des humains et des bovins (Akkou *et al*, 2018). Au cours des dernières années, cet organisme s'est imposé comme une bactérie multi-résistante commune aux antibiotiques, en particulier vis-à-vis de la méticilline (SARM) (Boucher et Corey, 2008). L'émergence de SARM pose des défis thérapeutiques aux professionnels de la santé, aux vétérinaires et aux producteurs (Hiramatsu *et al*, 2014). *S. aureus* est actuellement l'une des principales causes d'infections chez les vaches et représente un fardeau économique majeur pour l'industrie laitière.

Au cours de notre étude, le taux du portage nasal de *S. aureus* chez l'espèce étudiée est de 14.73% sur un total de 95 prélèvements. Peu d'études sont réalisées concernant le portage nasal chez les animaux de rente en Algérie et de telles études pourront fournir des informations utiles sur le plan épidémiologique. Agabou *et al* (2017) ont rapporté un taux d'isolement de 15%. Des fréquences variables selon les différents pays ont été rapportées par plusieurs auteurs. Elle est de 53,7% en Jordanie (Oalekish *et al*, 2013), 34.2% au Kenya (Shitandi *et al*, 2004) et 42.6% en Ethiopie (Getahun *et al*, 2008). Des taux d'isolement faibles ont été rapportés en Tunisie (Khemiri *et al*, 2018) et en Turquie (Garipcin et Seker, 2015), qui sont de l'ordre de 11.53% et 1.2% respectivement.

Ces écarts signalés entre les taux de prévalence de portage nasal pourraient être dus à plusieurs facteurs tels que la différence entre la taille des échantillons et les variations géographiques ainsi que les pratiques d'élevages implémentés au niveau de chaque élevage et de chaque pays.

*S. aureus* est un résident permanent du nez humain dans 20% de la population en bonne santé et porté de manière intermittente par 30% d'individus (Wertheim *et al*, 2005). Les personnes travaillant en contact étroit avec des animaux courent un grand risque d'être colonisées ou infectées que les autres personnes (Graveland *et al*, 2011).

Concernant le taux de portage de *S. aureus* enregistré chez les éleveurs lors de notre étude est de 50% (2/4). Cette fréquence d'isolement est supérieure à celle annoncée par Akkou *et al* (2016), qui ont rapporté une fréquence d'isolement de l'ordre de 38% dans une étude concernant la caractérisation phénotypique et géotypique de *S. aureus* associé aux vaches atteintes de mammites et au portage nasal chez les éleveurs en contact avec ces animaux. Des fréquences relativement faibles ont été observées dans d'autres études. Elles sont de l'ordre de 15.2% en Afrique du Sud (Schmidt *et al*, 2015) et 36% en suisse (Sakwinska *et al*, 2011). En revanche, Papadopoulos *et al* (2019) ont rapporté une fréquence relativement élevée, de 51.5% en Grèce. Ainsi, un taux de 36% a été signalé en Suisse chez les travailleurs agricoles (Sakwinska *et al*, 2011). Cette fréquence relativement élevée dans notre étude est due certainement à la taille réduite des prélèvements. Plusieurs facteurs peuvent influencer la colonisation des éleveurs par *S. aureus*, tels que leur contact direct avec les animaux et leur exposition indirecte à l'environnement contaminé des élevages (Goerge *et al*, 2015 ; Locatelli *et al*, 2017).

La fréquence d'isolement de *S. aureus* dans le lait est de 17.64%. Notre résultat ne rejoint pas celui de Adjlane-Kaouche *et al* (2014), qui ont annoncé des fréquences relativement élevées, de l'ordre de 33.3 %. En revanche, une faible fréquence d'isolement a été rapportée par Titouche *et al* (2019), qui est de l'ordre de 24% dans une étude concernant la caractérisation de *S. aureus* dans le lait cru et les produits laitiers traditionnels. De hautes prévalences de *S. aureus* dans le lait cru ont été rapportées par plusieurs auteurs (Kamal *et al*, 2013 ; Jamali *et al*, 2015 ; Giaciniti *et al*, 2017 ; Papadopoulos *et al*, 2018).

La présence de *S. aureus* dans le lait reflète l'importance que tient ce germe dans la contamination microbienne de cette denrée alimentaire. En effet, *S. aureus* est la cause principale des mammites cliniques et sub-cliniques. Plusieurs sources de contamination du lait cru par *S. aureus* à la ferme ont été soulignées, incluant les conditions d'hygiène inappropriées durant la traite et le stockage (Jamali *et al*, 2015).

De fortes résistances des souches isolées vis-à-vis de la pénicilline et de la tétracycline ont été observées, quel que soit le type de prélèvement (portage nasal et lait cru). Nos résultats rejoignent ceux de plusieurs auteurs (Jamali *et al*, 2015 ; Akkou *et al*, 2016 ; Khemiri *et al*, 2018 ; Chaalal *et al*, 2018 ; Titouche *et al*, 2019). L'augmentation des niveaux de résistances dérive de l'utilisation accrue des antibiotiques dans divers secteurs, tels qu'en communauté, dans les hôpitaux, dans les élevages et chez les animaux de compagnie (Gonzalez-Candelas *et al*, 2017).

Selon Ben Mahdi et Ouslimani (2009), la tétracycline occupe une place prépondérante dans la thérapeutique en élevages laitiers. Elle est largement utilisée dans les préparations intramammaires pour le traitement des mammites.

De faibles résistances ont été enregistrées vis-à-vis de la néomycine, l'ofloxacine et l'erythromycine. Nos résultats corroborent avec ceux de Titouche *et al* (2019), qui ont annoncé de faibles résistances à l'encontre de ces molécules. En revanche, de fortes résistances vis-à-vis de l'erythromycine et des fluoroquinolones (enrofloxacin) ont été rapportées par Locatelli *et al* (2017), concernant des souches de *S. aureus* isolées du portage nasal chez des vaches laitières.

Aucune résistance vis-à-vis le chloramphénicol n'a été observée concernant nos souches, quel que soit le type de prélèvement. Ceci, pourrait s'expliquer par le fait que cette molécule n'est pas utilisée en médecine vétérinaire. En revanche, de faibles résistances vis-à-vis de la même molécule ont été rapportées par plusieurs auteurs (Pereira *et al*, 2009 ; Castro *et al*, 2015 ; Tan *et al*, 2014). La présence de résidus de chloramphénicol dans les tissus animaux en Pologne suggère son emploi en thérapeutique vétérinaire (EFSA, 2014).

Nos résultats rejoignent ceux d'Akkou *et al* (2016) et Titouche *et al* (2019), qui ont signalé une absence de résistance vis-à-vis de la gentamycine.

Au cours de cette étude, six souches SARM ont été isolées (18.75%). Toutes ces souches proviennent des prélèvements nasaux des vaches de même élevage (élevage 3). Tandis que, aucun SARM n'a été isolé chez les éleveurs et dans le lait. Nos résultats ne corroborent pas avec ceux de plusieurs auteurs qui ont souligné l'émergence des SARM dans le lait cru, avec des fréquences variables selon les pays (Aras *et al*, 2012 ; Haran *et al*, 2012 ; Kamal *et al*, 2013 ; Basanisi *et al*, 2015 ; Jamali *et al*, 2015 ; Carfora *et al*, 2015 ; Papadopoulos *et al*, 2018). En Algérie, des SARM ont été isolés dans le lait cru, avec des fréquences de 21.5% (Chaalal *et al*, 2018) et de 15.94% (Titouche *et al*, 2019). En revanche, Akkou *et al* (2015) ont pu isoler des SARM chez des éleveurs en contact avec des animaux. Plusieurs études ont montré le risque associé à la présence des SARM chez les animaux d'élevage, ce qui montre que les animaux d'élevage pourraient constituer un véhicule de transmission ou un réservoir potentiel d'infections aux humains (Ross Fitzgerald, 2012). La transmission zoonotique potentielle inclut le contact direct entre l'animal et l'éleveur, mais aussi le contact de l'éleveur avec l'environnement contaminé (Locatelli *et al*, 2017). Benito *et al* (2015) ont isolé un SARM portant le gène *mecC* dans une lésion de la peau d'un éleveur, ce dernier travaille dans un atelier de production de fromage au lait cru et en contact direct avec les animaux. Il est possible que le contact avec les animaux ou avec le lait cru puisse être à l'origine de cette souche. Le même constat a été rapporté par Carfora *et al* (2016) et Locatelli *et al* (2017), qui ont mis en évidence le transfert des SARM de bovins et des ovins vers des éleveurs.

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

Toutes les souches SARM isolées étaient résistantes vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques (tétracyclines et aminosides), en plus de leur résistance vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines (pénicilline et cefoxitine), indiquant des phénotypes de multi-résistance. Nos résultats rejoignent ceux de plusieurs auteurs qui ont signalé la multi-résistance des souches SARM (Haran et al, 2012 ; Garipcin et Seker, 2015 ; Parisi *et al*, 2016 ; Basanisi *et al*, 2017, Locatelli *et al*, 2017 ; Titouche *et al*, 2019).

### Conclusion

Le portage nasal de *Staphylococcus aureus* est un phénomène dynamique en propagation continu, mais mal élucidé. Plusieurs facteurs de risque liés à l'hôte peuvent favoriser le portage. *S. aureus* est une bactérie qui possède la capacité de coloniser asymptomatiquement les muqueuses de l'homme et de l'animal. Des études menées dans plusieurs régions ont démontré que le portage nasal constitue une menace de santé publique, en favorisant des transmissions de souches bactériennes entre l'animal et l'homme (zoonose) ou vice versa.

Durant les quatre mois de l'étude, 116 prélèvements incluant des écouvillonnages de la partie nasale chez des vaches saines et des éleveurs et des échantillons du lait cru ont été collectés à travers quatre élevages laitiers de la région de Tizirt (Tizi-Ouzou) et soumis à la recherche de *Staphylococcus aureus*.

Les résultats obtenus montrent des taux d'isolement variable de *S. aureus*. En effet, 50%, 17.64% et 14.73% des prélèvements chez les éleveurs, dans le lait cru et chez les vaches laitières ont été contaminés par *S. aureus*. 32 isolats de *S. aureus* ont été confirmés, comprenant 26 souches SASM et 6 souches SARM.

L'étude de la résistance aux antibiotiques a montré l'existence de résistances, avec des taux variables selon les familles étudiées. De fortes résistances ont été enregistrées vis-à-vis de la pénicilline G et de la tétracycline.

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

Ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires plus approfondies à savoir : augmenter la taille des prélèvements, élargir le champ d'étude sur plusieurs régions, effectuer un suivi sur la consommation des antibiotiques destinés à l'élevage et enfin compléter la caractérisation des souches isolées par des méthodes de typage moléculaire (PCR, PFGE, MLST) et ceci pour mettre en évidence la présence des gènes de virulence et le lien génétique entre les différentes souches isolées.

## Reference bibliographiques

- **Agabou A, Ouchenane Z, Ngba Essebe C, Khemissi S, Chehboub MTE, Chehboub IB, Sotto A, Dunyach-Remy C, Lavigne JP. 2017.** Emergence of Nasal carriage of ST80 and ST152PVL+ *Staphylococcus aureus* isolates from livestock in Algeria. *Toxin*, 9, 303.
- **Aires-de-Sousa M, Parente CE, Vieira-da-Motta O, Bonna IC, Silva DA, De Lencastre H. 2007.** Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from buffalo, bovine, ovine, and caprine milk samples collected in Rio de Janeiro State, Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 3845-3849.
- **Aires-De-Sousa M. 2017.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. *Clin. Microb. Infect.* 23, 373-80.
- **Akkou M, Antri K, Bachtarzi MA, Bes M, Tristan A, Dauwalder O, Kaidi R, Meugnier H, Tazir M, Etienne J, Laurent F, Ramdani-Bougoussa N. 2016.** Phenotypic and Genotypic Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains Associated with Bovine Mastitis and Nasal Carriage of Workers in Contact to Animals in Algeria . *Pakistan Veterinary Journal*, 2074-7764.
- **Akkou M, Bouchiat C, Antri K, Bes M, Tristan A, Dauwalder O, Martins-Simoes P, Rasigade JP, Etienne J, Vandenesch F, Ramdani-Bougoussa N, Laurent F. 2018.** New host shift from human to cows within *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis and nasal carriage of animal's caretakers. *Veterinary Microbiology*, 223:173-180.
- **Aly R et Levit S. 1987.** Adherence of *Staphylococcus aureus* to Squamous Epithelium: Role of Fibronectin and Teichoic Acid. *Rev Infect Dis.* 9 Suppl 4 : S341-50.
- **Alzohairy MA. 2011.** Colonization and antibiotic susceptibility pattern of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) among farm animals in Saudi Arabia. *J. Bacteriol. Res*, 3, 63-68.
- **Ananthanarayan, Paniker. 2006.** Textbook of microbiology. Edition Seventh, India. 665p.
- **Aras Z, Aydin I, Kav K. 2012.** Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from caprine mastitis cases. *Small Ruminant Research*, 102, 68-73.
- **Aubry-Damon H, Soussy CJ, Courvalin P. 1998.** Characterization of mutations in the rpoB gene that confer rifampin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 42 (10), 2590–2594.
- **Avril J, Dabernat H, Denis F, Monteil H. 2000.** Bactériologie clinique, 3rd edn. Paris: Ellipses Edition Marketing S.A. 8-28
- **Barret R. 2005.** Antibiotiques : Pharmacologie et thérapeutique. Elsevier, campus Médecine.
- **Basanisi MG, Nobili G, La Bella G, Russo R, Spano G, Normano G, La Salandra G. 2015.** Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from sheep and goat cheeses in Southern Italy. *Small Ruminant Research*, 135, 17-19.

- **Ben Mahdi M et Ouslimani S. 2009.** Mise en évidence des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérois. *European Journal of Scientific Research*, (3), 357362.
- **Ben Said M, Abbassi MS, Gomez P, Ruiz-Ripa L, Sghaier S, El Fekih O, Hassen A, Torres C. 2017.** Genetic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from nasal samples of healthy ewes in Tunisia. High prevalence of CC130 and CC522 lineages. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 51: 37-40.
- **Berche P, Gaillard J, Simonet M. 1988.** Collection de la biologie à la Clinique. Bactériologie : bactéries des infections humaines. Flammarion. Médecine-Sciences, Paris. p267-277.
- **Bhunia AK. 2008.** Foodborne Microbial Pathogens : Mechanisms and Pathogenesis. Springer, New York.
- **Biljana MS, Dinic M, Orlovic J, Etbabic T. 2015.** *Staphylococcus aureus*: immunopathogenesis and human immunity. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 32(4), 243-257.
- **Bismuth R et Courvalin P. 2012.** In Antibiogramme. Courvalin P et Leclercq R. 3<sup>ème</sup> édition.
- **Boisset S et Vandenesch F. 2010.** Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines, in *Staphylococcus aureus*. TEC et DOC, Paris. France.
- **Bokarewa MI, Jin T, Tarkowski A. 2006.** *Staphylococcus aureus* : Staphylokinase. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 38 (4), 504-509.
- **Bosgiraud C. 2003.** Microbiologie général et santé, association des enseignants de microbiologie et d'immunologie des facultés de pharmacie, édition ESKA.
- **Boucher HW, Corey GR. 2008.** Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Infect. Dis.* 46, S344–S349.
- **Boulanger D, Bureau F, Lekeux P. 2005.** Invasion intracellulaire des cellules non phagocytaires par *S. aureus*, *Ann, Med, Vet*, n°150.
- **Boutet P, Dettleux J, Motkin M, Deliege M, Piraux E, Depinoisdebligny P, Mainil J, Czapliski G, Lekeux P. 2005.** Comparaison du taux cellulaire et de la sensibilité antimicrobienne des germes responsables de mammite sub-clinique bovine entre les filières. 5, 998-40.
- **Broens EM, Graat EA, van de Giessen AW, Broekhuizen-Stins MJ, de Jong MC. 2012.** Quantification of transmission of livestock-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Veterinary Microbiology*, 155: 381–388.
- **Brun Y, Bes M, Vandenesch F. 2003.** Actualités permanentes en bactériologie clinique. -55-.
- **Bushby SRM. 1983.** Antibacterial Activity, in *Handbook of Experimental Pharmacology*, 64. Springer, New York.
- **Carfora V, Caprioli A, Marri N, Sagrafoli D, Boselli C, Giaciniti G, Giangolini G, Sorbara L, Dottarelli S, Battisti A, 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.

- **Carfora V, Giacinti G, Sagrafoli D, Marri N, Giangolini G, Alba P, Feltrin F, Sorbara L, Amoroso R, Caprioli A, Amatiste S, Battisti A. 2016.** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et susceptible à la méthicilline chez les ovins laitiers et les humains en contact : une étude intra-exploitation. Journal de la science laitière. Volume 99, numéro 6 , 4251-4258p.
- **Carle S. 2009.** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Pharmactuel Vol. 42 Supplément 2.
- **Cattoir V et Leclercq R. 2012.** In Antibiogramme. Courvalin P et Leclercq R. 3<sup>ème</sup> édition. P.137.
- **Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P, Van Landuyt H, Auwelier B. 2004.** Evaluation of disk diffusion method with cefoxitin (30 µg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 23, 389-392.
- **Cavallo JD, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E. 2004.** Bêta-lactam antibiotics. EMC-Maladies Infectieuses 1 .129–202.
- **Chaalal W, Chaalal N, Bourafa N, Kihal M, Diene SM, and Rolain JM. 2018.** Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from food products in Western Algeria. Foodborne Pathog. Dis, 15:353–360.
- **Chaby R. 2010.** Des endotoxines au lipopolysaccharides : Structure, activité cellulaires et effets physiopathologiques, édition Lavoisier, Paris. France.
- **Chajeka-Wierzchowska W, Zadernowska A, Laniewska-Trokenheim L. 2016.** Virulence factors, antimicrobial resistance and biofilm formation in Enterococcus spp. isolated from retail shrimps. Food Sci. Technol. 69:117–122.
- **Chakraborty SP, Chakraborty PP, Somenath R. 2012.** A review on-emergence of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and role of chitosan nanoparticle in drug delivery, Pharmaceutical Sciences, Vol 2, Numéro1.
- **Chambers HF. 2001.** The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis, 7:178-182.
- **Charlier C, Montel MC, Beuvier E, Le Loir Y. 2010.** Mécanismes moléculaires de pathogénicité. In. *Staphylococcus aureus*. Le Loir Y, Gautier M. Ed TEC & Doc, Lavoisier. France. p 233-244.
- **Chavakis T, Wiechmann K, Preissner KT, 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.
- **Chu C, Wei Y, Chuang ST, Yu C, Changchien CH, Su Y.2013.** Differences in virulence genes and genome patterns of mastitis-associated *Staphylococcus aureus* among goat, cow, and human isolates in Taiwan. Foodborne Path Dis, 10: 256-62.
- **Cohen PR. 2007.** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections : a review of epidemiology, clinical features, management, and prevention. Int J Dermatol, 46:1–11. doi:10.1111/j.1365-4632.2007.03215.x.
- **Corne P. 2004.** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat en sciences biologique et chimique de la santé. Université Montpellier 1. France.

- **Couderc C. 2015.** Impacte des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasal par *Staphylococcus aureus*, page 24.
- **Cunningham R, Cockayne A, Humphreys H. 1996.** Clinical and molecular aspects of the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* bone and joint infections. *J Med Microbiol*, 44:157–64.
- **Dao-Feng Zhang, Xin-Yi Yang, Jing Zhang, Xiaojie Qin, Xiaozhen Huang, Yan Cui, Min Zhou, Chunlei Shi, Nigel P. Frenchd, Xianming Shi. 2018.** Identification and characterization of two novel superantigens among *Staphylococcus aureus* complex. *International Journal of Medical Microbiology*, 4: 438-446.
- **Daurela C, Leclercqa R. 2008.** l'antibiogramme de *staphylococcus aureus*. revue francophone des laboratoires, 89 36, 815-836.
- **De Buyser ML, Sutrat L. 2005.** *Staphylococcus aureus*, In Bactériologie Alimentaire : Compendium d'Hygiène des Aliments, 2<sup>ème</sup> édition, Economica, Paris.
- **Delbès C. 2010.** Habitat, in *Staphylococcus aureus*, Tec et Doc, Paris.
- **Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. 2010.** Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines, in *Staphylococcus aureus*, TEC et DOC, Paris.
- **Dubas M. 2008.** virulence de *Staphylococcus aureus* et des *Listeria*, Association des anciens élèves de l'institut Pasteur, 50<sup>ème</sup> année, numéro195.
- **Dumitrescu O, Dauwalder O, Boisset S, Reverdy ME, Tristan A et Vandenesch F. 2010.** Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. *Medecine Science*, 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 2014: EN-540, pp65
- **EL Kouri D, Pottier MA, Trewick D, Le Gallou F, Baron D, and Potel G .1998.** Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl Méd Chir*. Paris.
- **Enguhard C et Gueiffier A. 2005.** Quinolones. In Antibiotiques: pharmacologie et thérapeutique. Catherine Gaudy et Jacques Buxeraud. Edition Elsevier/Masson, France.
- **Erdem Z, Türkyilmaz S. 2013.** Molecular typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows and farm workers. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 19, 963-968.
- **European Food Safety Authority. 2009.** Assessment of the public health significance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and food. *EFSA Journal*; 993: 1–73.
- **Fasquelle R. 1974.** Éléments de bactériologie médicale, 9<sup>th</sup> éditions Flammarion. Paris. 27-36.
- **Fauchère J, Avril J. 2002.** Bactériologie générale et médicale. Edition Ellipses. Paris, France.
- **Ferrero L, Cameron B, Crouzet J. 1995.** Analysis of *gyrA* and *grlA* mutations in stepwise-selected ciprofloxacin resistant mutants of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 39 : 1554-8.

- **Ferron A. 1984.** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12<sup>ème</sup> édition CROUAN et ROQUES, Paris.40 87-94.
- **Ferron A. 1985.** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine, 12<sup>th</sup> Editions C. et R. 87-94 18. France.
- **File Tm. 2008.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) : focus on community associated MRSA. South African Journal of Epidemiology and Infection 23 :13-15.
- **Fitzgerald JR, Monday SR, Foster TJ. 2001.** Characterization of a putative pathogenicity island from bovine *Staphylococcus aureus* encoding multiple antigens. J. Clin. Microbiol, 183, 63-70.
- **Foster T. 1994.** Surface-Associated Proteins of *Staphylococcus aureus* : Their Possible Roles In Virulence. FEMS Microbiology Letters; 118 (3): 199–205.
- **Foster TJ. 2005.** Immune evasion by staphylococci. Nature Review Microbiology, 3 (12), 948-958.
- **Fournier C, Kuhnert P, Frey J, Miserez R, Kirchhofer M, Kaufmann TA. 2008.** Steiner, H.U. Graber, Bovine *Staphylococcus aureus* : association of virulence genes, genotype and clinical outcomes, Res. Vet. Sci. 85 439-448.
- **Fowle VGJ, Miro JM, Hoen B, Cabell CH, Abrutyn E, Rubinstein E, Corey GR, Spelman D, Bradley SF, Barsic B, Pappas PA, Anstrom KJ, Wray D, Fortes CQ, Anguerra I, Athan E, Jones P, van der Meer JT, Elliott TS, Levine DP, Bayer AS, ICE investigators. 2005.** *Staphylococcus aureus* endocarditis : a consequence of medical progress. JAMA. 22, 3012-3021.
- **Franklin D et Lowy MD. 1998.** *Staphylococcus aureus* infections, The New England Journal of Medicine, Volume 339 N°8.
- **Fraser JD et Proft T. 2008.** The bacterial superantigen and superantigen-like proteins. Immunol Rev; 225: 226-43.
- **Freeman-Cook L, Freeman-Cook K. 2006.** *Staphylococcus aureus* infections. Chelsea house publishers, USA.
- **Fukatsu K, Saito H, Matsuda T, Ikeda S, Furukawa S, Muto T. 1997.** Influences of type and duration of antimicrobial prophylaxis on an outbreak of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and on the incidence of wound infection. Archives of Surgery, 132: 1320–1325.
- **Garipcin M et Seker E. 2015.** Nasal Carriage Of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* In Cattle And Farm Workers In Turkey. Veterinarski Arhiv, 85 (2), 117-129.
- **Garrity GM, Lilburn TG, Cole JR, Harrison SH, Euzéby J, Ettindall BJ. 2007.** Taxonomic outline of bacteria and archaea release 7.7 Part 9- The bacteria: Phylum "*Firmicutes*" Class "*Bacilli*".
- **Getahun k, Kelay B, Bekana M, Lobago F. 2008.** Bovine mastitis and antibiotic resistance patterns in Selalle smallholder dairy farms, central Ethiopia. Trop. Anim. Health Prod, 40, 261-268.
- **Ghernaout-Benchouk S. 2013.** Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* son rôle dans l'infection du site opératoire. Thèse pour l'obtention du doctorat en sciences médicales. TLEMEN. Algérie.

- **Giaciniti G, Carfora V, Capriol A, Sagrafoli D, Marri N, Giangolini G, Amoruso R, Lurescia M, Stravino F, Dottarelli S, Feltrin F, Franco A, Amatiste S, and Battisti A. 2017.** Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying *mecA* or *mecC* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in dairy sheep farms in central Italy. *J. Dairy Sci.* 100:7857–7863.
- **Gonzalez-Candelas F, Comas I, Martinez JL, Galan JC, and Baquero F. 2017.** The evolution of antibiotic resistance. Pages 257–284 in *Genetics and Evolution of Infectious Diseases*. 2nd ed. M. Tibayrenc, ed. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands.
- **Graveland H, Wagenaar JA, Bergs K, Heesterbeek H, Heederik D. 2011.** Persistence of livestock associated MRSA CC398 in humans is dependent on intensity of animal contact. *PLoS One*, 6(2): 6830.
- **Grundmann H, Aries-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. 2006.** Emergence and resurgence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public health threat. *The Lancet*, 368:874-885.
- **Guardabassi L, Larsen J, Weese JS, Butaye P, Battisti A, Kluytmans J, Lloyd DH, Skov RL. 2013.** Public health impact and antimicrobial selection of methicillin-resistant staphylococci in animals. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 1. 55–62.
- **Guiraud JP, Rosec JP. 2004.** *Pratiques des normes en microbiologie alimentaire*. Edition AFNOR, France.
- **Hannekine JA, Ostyn A, Guillier F, Herbin S, Pruffer AL, Et Dragacci S. 2010.** How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized?. *Toxins Review*, 2, 2106-2116.
- **Haran KP, Godden SM, Boxrud D, Jawahir S, Bender JB, Sreevatsan S. 2012.** Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms. *Journal of Clinical Microbiology*, 50, 688-695.
- **Hartmann FA, Trostle SS, Klohnen AA. 1997.** Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. *J Am Vet Assoc*, 211:590–592.
- **Helle Ericsson Unnerstada, Kristina Mieziwskab, Stefan Börjesson, Helena Hedbäck, Karin Strand, Thorild Hallgrend, Håkan Landine, Joakim Skarina, Björn Bengtsson. 2018.** Suspected transmission and subsequent spread of MRSA from farmer to dairy cows. *Veterinary Microbiology*, 225 : 114-119.
- **Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S. 2012.** *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36, 815-836.
- **Hiramatsu K, Katayama Y, Matsuo M, Sasaki T, Morimoto Y, Sekiguchi A, Baba T. 2014.** Multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy. *J. Infect. Chemother.* 20, 593–601.
- **Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H, Ito T. 2002.** Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*, 292:67–74.

- **Huimin Liu, Songli Li, Lu Meng, Lei Dong, Shengguo Zhao, Xinyi Lan, Jiaqi Wang, and Nan Zheng. 2017.** Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy herds in northern China ; J. Dairy Sci. 100:1–8.
- **Huovinen P, Sundstrom L, Swedberg G, Sköld O. 1995.** Trimethoprim and sulfonamide resistance, Antimicrob. Agents Chemother. 39, 279–290.
- **Idelevich EA, Lanckohr C, Horn D, Wieler LH, Becker K, Köck, R. 2015.** Multidrug-resistant bacteria in Germany: the impact of sources outside healthcare facilities. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 59 (1): 113-123.
- **Jamali H, Paydar M, Radmehr B, Ismail S, Dadrasnia A. 2015.** Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. Food Control, 54, 383-388.
- **Jans C, Merz A, Johler S, Younan M, Tanner SA, Kaindi DW, Wangoh J, Bonfoh B, Meile L, Tasara T. 2017.** East and West African milk products are reservoirs for human and livestock-associated *Staphylococcus aureus*. Food Microbiol. 65, 64-73.
- **Jibril M. 2015.** The Prevalence Of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated From Raw Bovine Milk In The Morogoro Municipality, Tanzania. Thèse de doctorat. UNIVERSITY OF AGRICULTURE. MOROGORO, TANZANIA
- **Joffin C et Joffin JN. 2010.** Microbiologie Alimentaire. Edition Canopé - CRDP de Bordeaux, France
- **Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. 2014.** *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. Biomed Research International. Volume 2014. Article ID827965, 9.
- **Kalmus P, Aasmäe B, Kärssin A, Orro T, Kask K. 2011.** Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia. Acta Vet Scand, 53 (1): 4.
- **Kamal RM, Bayoumi MA, Abd et Aal SFA. 2013.** MRSA detection in raw milk; some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. Food Control, 33, 49-53.
- **Kaneko J, Kimura T, Narita S, Tomita T, Kamio Y. 1998.** Complete nucleotide sequence and molecular characterization of the temperate staphylococcal bacteriophage phiPVL carrying Panton Valentine leukocidin genes. Gene, 215:57-67.
- **KAUCHE-ADJLANE S, GHOZLANE F. et MATI A. 2015.** Typologie des systèmes d'élevage laitier dans le bassin méditerranéen (cas de l'Algérie), Biotechnology in Animal Husbandry, 31 (3), 385-396.
- **Kapral FA, Smith H, Lal D. 1992.** The esterification of fatty acids by *Staphylococcus aureus* fatty acid modifying enzyme (FAME) and its inhibition by glycerides. Journal of Medical Microbiology, 37, 235-237
- **Khemiri M, Abbassi MS, Couto N, Mansouri R, Hammami S, Pomba C. 2018.** Genetic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and nasal samples of healthy cows in Tunisia : First report of ST97 t267-agrI-SCCmecV MRSA of bovine origin in Tunisia. Journal of Glob Antimicrob Resist, 14 : 161-165.

- **Kock R, Becker K, Cookson B, Van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, Mielke M, Peters G, Skov RL, Struelens MJ, Tacconelli E, Witte W, Friedrich AW. 2014.** Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Euro Surveill. 24, 19-29.
- **Lambert PK. 2005.** Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. Adv Drug Delivery Rev, 57:1471-1485.
- **Larpent JP. 2000.** Introduction à la nouvelle classification bactérienne et les principaux groupes bactériens. Edition TEC & DOC. Lavoisier. Paris, New York, London.
- **Laura G, Susan D, Barry C, Peter H. 2012.** Working across the veterinary and human health sectors. J Antimicrob Chemother, 67(1):37–49.
- **Le Loir Y et Gautier M. 2010.** *Staphylococcus aureus*, édition TEC & DOC, Eminter, Lavoisier, France.
- **Le Loir Y, Baron F, Gautier M. 2003.** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genetics and Molecular Research, 2 (1), 63-76.
- **Le Minor L et Veron M 1982.** Bactériologie Médicale, 1<sup>ère</sup> édition, Flammarion, Paris. France.
- **Le Minor L, Veron M. 1990.** Bactériologie Médicale *Staphylococcus* et *Micrococcus*, 2<sup>nd</sup> édition. Paris : Flammarion Médecine-Sciences. 773-794 19.
- **Leclercq R. 2002.** Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. Service de microbiologie, centre hospitalier et universitaire de la Côte-de-Nacre, 14033 Caen cedex, France. Ann Fr Anesth Réanim 2002 ; 21 : 375-83.
- **Leclercq R. 2012.** In Antibiogramme. Courvalin P et Leclercq R. 3<sup>ème</sup> édition. Page 319.
- **Lee LY, Miyamoto YJ, McIntyre BW, Hook M, Mccrea KW, Mcdevitt D et Brown EL. 2002.** The *Staphylococcus Aureus* Map Protein Is An Immunomodulator That Interferes With T Cell-Mediated Response. Journal of Clinical Investigation, 110, 1461–1471.
- **Li J, Feßler AT, Jiang N, Fan R, Wang Y, Wu C, Shen J, Schwarz S. 2016.** Molecular basis of rifampicin resistance in multiresistant porcine livestock-associated MRSA. J. Antimicrob. Chemother, 71, 3313–3315.
- **Locatelli C, Cremonesi P, Caprioli A, Carfora V, Ianzano A, Barberio A, Morandi S, Casula A, Castiglioni B, Bronzo V. and Moroni P. 2017.** Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cattle herds, related swine farms, and humans in contact with herd. J. Dairy Sci. 100:1–12.
- **Lowy FD. 2003.** Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Invest. 111, 1265-1273.
- **Lozano C, Gómez-Sanz E, Benito D, Aspiroz C, Zarazaga M, Torres C. 2011.** *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain, with detection of CC398 and CC97 strains. J Med Microbiol , 301:500-5.
- **Lozano C, Gharsa H, Ben Slama K, Zarazaga M, Torres C. 2016.** *Staphylococcus aureus* in animals and food: methicillin resistance, prevalence and population structure. A review in the African continent. Microorganisms; 4, 12

- **Luini M, Cremonesi P, Magro G, Bianchini V, Minozzi G, Castiglioni B, Piccinini R. 2015.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is associated with low within-herd prevalence of intra-mammary infections in dairy cows: Genotyping of isolates: *Veterinary Microbiology*, 178 270–274.
- **Luttinger A. 1995.** The twisted "life" of DNA in the cell: bacterial topoisomerases. *Mol Microbiol*, 15: 601-6.
- **Luzar MA, Coles GA, Faller B, Slingeneyer A, Dah GD, Briat C, Wone C, Knefati Y, Kessler M, Peluso F. 1990.** *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis *N Engl J Med*; 322: 505-9.
- **Madigan M et Martinko J. 2007.** Brock biologie des microorganismes, édition Pearson education, 11<sup>ème</sup> édition. France.
- **Malachowa N et De Leo FR. 2010.** Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci*: 3057–71.
- **Mariani-Kurkedjian et Bingen E .2003.** Bactérie pathogènes dans la mucoviscidose, archives de pédiatrie, N°2, Paris.
- **Menzies BE. 2003.** The Role Of Fibronectin Binding Proteins In The Pathogenesis Of *Staphylococcus Aureus* Infections. *Current Opinion Infectious Diseases*, 16 (3), 225-229.
- **Mereghetti L. 2005.** Antibiotiques : Pharmacologie et thérapeutique. Edition Campus Médecine. Elsevier, Paris, France.
- **Merriman JA et Schlievert PM. 2015.** Identification, Purification, And Characterization Of Staphylococcal Superantigens. *Methods In Molecular Biology. Superantigens*, 19-33.
- **Monecke S, Gavier-Widen D, Mattsson R, Rangstrup-Christensen L, Lazaris A, Coleman DC, Shore AC, Ehricht R. 2013.** Detection of *mecC*-Positive *Staphylococcus aureus* (CC130-MRSA-XI) in Diseased European Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in Sweden. *PLoS One*, 8: 66166.
- **Moroni P, Pisoni G, Antonini M, Villa R, Boettcher P, Carli S. 2006.** Short communication : Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. *Journal of Dairy Science*, 89 : 2973-2976.
- **Mulligan ME, Murray-Leisure KA, Ribner BS, Standiford HC, John JF, Korvick JA, Kauffmann CA, Yu VL. 1993.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and the management. *Am. J. Med*, 94 : 313-328.
- **Nagase N, Sasaki A, Yamashita K, Shimizu A, Wakita Y, Kitai S, Kawano J. 2002.** Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 64, 245-250.
- **Nauciel C et Vildé JL. 2005.** Bactériologie Médicale, 2<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris. France
- **Nicastri E, Leone S, Petrosillo N, Ballardini M, Pisanelli C, Magrini P, Cerquetani F, Ippolito G, Comandini E, Narciso P, Meledandri M. 2008.** Decrease of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* prevalence after introduction of a surgical antibiotic prophylaxis protocol in an Italian hospital. *New Microbiologica*, 31: 519–525.

- **Nishifuji K, Sugai M, Amagai M. 2008.** Staphylococcal exfoliative toxin: Molecular scissors of bacteria that attack the cutaneous defense barrier in mammals. *J Dermatol Sci*, 49:21-31.
- **Oalekish M, Al-Qudah KM, Al-Saleh A. 2013.** Prevalence of antimicrobial resistance among Bacterial pathogens isolated from bovine mastitis in northern Jordan *Revue Méd. Vet*, 164, 319-326.
- **Ono HK, Omoe K, Imanishi K, Iwakabe Y, Hu DL, Kato H, Saito N, Nakane A, Uchiyama T, Shinagawa K, 2008.** Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins types S and T. *Infect. Immun.*, 76, 11, 4999-5005.
- **Pancholi V. 2002.** Staphylococcal Extracellular/ Surface Enzymatic Activity, in *Staphylococcus aureus* Infection and Disease, Kluwer Academic Publishers, New York.
- **Panton PN, Valentine FCO. 1932.** Staphylococcal toxin. *Lancet*, 222: 506-8.
- **Papadopoulos P, Papadopoulos T, Angelidis AS, Boukouvala E, Zdragas A, Papa A, Hadjichristodoulou C, and 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 Microbiol.* 69: 43–50.
- **Papadopoulos P, Angelidis AS, Papadopoulos T, Kotzamanidis C, Zdragas A, Papa A, Filioussis G, Sergelidis G. 2019.** *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in bulk tank milk, livestock and dairy-farm personnel in north-central and north-eastern Greece: Prevalence, characterization and genetic relatedness. *Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103249> (Article in Press)
- **Parisi A, Caruso M, Normano G, Latorre L, Sottili R, Miccolupo A, Fraccalvieri R, Santagada G. 2016.** Prevalence, antimicrobial susceptibility and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in bulk tank milk from Southern Italy. *Food Microbiology*, 58, 36-42.
- **Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. 2014.** The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 22, 42–47.
- **Peacock SJ, Moore CE, Justice A, Kantzanou M, Story L, Mackie K, O'Neill G, Day NP. 2002.** Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*, *Infect. Immun.* 70 4987-4996.
- **Pellerin JL, Gautier M, Et Le Loir Y. 2010.** Identification de l'Espèce au Sein du Genre, in *Staphylococcus aureus* .TEC et DOC, Paris. France.
- **Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs P, Teixeira P. 2009.** Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiology*, 26, 278282.
- **Peter P, Heather KK, Pablo FP, Paul EB. 2010.** Staphylocoagulase, in: *Toxins and Hemostasis*. Springer, New York.
- **Pinho MG, Filipe SR, De Lencastre H, Tomasz A. 2001.** Complementation of the essential peptidoglycan transpeptidase function of penicillin-binding protein 2 (PBP2) by the drug resistance protein PBP2A in drug resistance protein PBP2A in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 183, 6525-6531.

- **Porrero MC, Valverde A, Fernández-Llario P, DíezGuerrier A, Mateos A, Lavín S, Canton R, Fernandez Garayzabel J, Domenguez L. 2014.** *Staphylococcus aureus* carrying mecC gene in animals and urban wastewater, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 20 (5): 899901.
- **Prescott LM, Harley JP, Klein D, Bacq-Calberg CM, Dusart J. 2002.** « Microbiologie », 5<sup>ème</sup> édition, De Boeck.
- **Prévost G, Couppié P, Monteil H. 2003.** Staphylococcal epidermolysins. *Curr Opin Infect Dis*, 16:71-6.
- **Prévost G, Cribier B, Couppié P, Petiau P, Supersac G, FinckBarbançon V, Monteil H, Piémont Y. 1995.** Panton Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infect Immun*, 63:4121-9.
- **Prévost G, Mourey L, Colin DA, Menestrina G. 2001.** Staphylococcal poreforming toxins. In: van der Goot FG (Ed.) Pore-forming toxins. *Current Top Microbiol. Immunol*; 257:53-83.
- **Proctor RA, Kahl B, Eiff C, Vaudaux PE, Lew DP, Peters G. 1998.** Staphylococcal Small Colony Variants Have Novel Mechanisms for Antibiotic Resistance. *CLIN INFECT DIS*, 27 : S68-S74.
- **Projan Sj et Novick Rp. 1997.** The Molecular Basis Of Pathogenicity. In Crossley, KB And Archer, GL. (Ed). *The Staphylococci In Human Diseases*. Churchill Livingstone, New York, USA : 55-82.
- **Quincampoix JC et Mainardi JL. 2001.** Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Editions Scientifiques et Médicales, *ELSEVIER SAS*, 10 : 267-275.
- **Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Cater GR. 2000.** *Staphylococcus* species. In *Clinical Veterinary Microbiology*, Mosby, Edinburgh, pp. 118-126.
- **Roberson, JR, Fox LK, Hancock DD, Gay JM, Besser TE. 1994.** Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 77 : 3354-3364.
- **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.
- **Saidi R, Khelef D, Kaidi R. 2013.** Subclinical mastitis in cattle in Algeria : frequency of occurrence and bacteriological isolates. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 929:5.
- **Said-Salim B, Mathema B, Kreiswirth BN. 2003.** Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 24:451-5
- **Sakwinska O, Giddey M, Moreillon M, Morisset D, Waldvogel A, et Moreillon P. 2011.** Gamme d'hôtes *Staphylococcus aureus* et changement d'hôte humain-bovin, 77 (17) : 5908-5915.

- **Schleifer KH et Bell JA. 2009.** Staphylococcaceae, in : Bergy's Manual Of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three : the Firmicutes, Springer, New York.
- **Schlievert PM, Cas LC. 2007.** Molecular analysis of staphylococcal superantigens. *Methods Mol Biol*, 391:113-26.
- **Schlotter K, Huber-Schlenstedt R, Gangl A, Hotzel H, Monecke S, Müller E, Reißig A, Proft S, Ehricht R. 2014.** Multiple cases of methicillin-resistant CC130 *Staphylococcus aureus* harboring *mecC* in milk and swab samples from a Bavarian dairy herd. *J. Dairy Sci*, 97: 2782–2788.
- **Schwarz S, Ales ˇik E, Werckenthin C. 2007.** Antimicrobial susceptibility of coagulase-positive and coagulase-variable staphylococci from various indications of swine, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004–2006. *Berl Mu ¨nch Tiera ¨rztl Wochenschr*; 120: 372–379.
- **Shitandia, Anakalo G, Galgalo T, Mwangim. 2004.** Prevalence of bovine mastitis amongst small holder dairy herds in Kenya. *Vet. Med.*59 : 1-2.
- **Sköld O. 2000.** Sulfonamide Resistance: Mechanisms and Trends, *Drug Resistance Update*, 3, 155-160.
- **Smeltzer MS, Lee CY, Harik N, Hart ME. 2009.** Molecular Basis of Pathogenicity, in *Staphylococci in Human Disease*, Wiley-BlackWell, Singapore.
- **Tally FP. 1993.** Les Staphylocoques : Abscesses et Autres Maladies, in *Microbiologies et Pathologies Infectieuses*, De Boeck, Paris.
- **Tan SL, Lee HY, Mahyudin NA. 2014.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from food handler's hands. *Food Control*, 44, 2013207.
- **Tankovic J, Aubry-Damon H, Leclercq R. 1997.** Résistance aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. *Méd Mal Infect.* 27, Spécial : 207-16.
- **Thakker M, Park JS, Carey V, Lee JC. 1998.** *Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. *Infections and Immunity*, 66, 5183-5189.
- **Theresia Feßler A, Li J, Kadlec K, Wang Y, Schwarz S. 2018.** Antimicrobial resistance properties of *staphylococcus aureus*. Chapitre 4.
- **Titouche Y, Hakem A, Houali K, Meheut T, Vingadassalon N, Ruiz-Ripa L, Salmi D, Chergui A, Chenouf N, Hennekinne JA, Torres C, and Auvray F. 2019.** Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST8 in raw milk and traditional dairy products in the Tizi Ouzou area of Algeria. *J. Dairy Sci.* 102 <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16208> (Article in Press).
- **Titouche Y. 2018.** Risques de contamination microbienne du lait cru produit dans la wilaya de Tizi Ouzou : Caractérisation phénotypique et génotypique de *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques. Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou. Algérie.
- **Toutain PL et Bousquet-melou A. 2012.** De vieux antibiotiques ou des antibiotiques innovant pour la médecine vétérinaire ? *Bulletein des Groupement Techniques vétérinaire*, 64: 37-42.

- **Valeva A, Hellmann N, Walev I, Strand D, Plate M, Boukhallouk F, Brack A, Hanada K, Decker H, Bhakdi S. 2006.** Evidence that phosphocholine head groups serve as sites for binding and assembly of an oligomeric protein pore. *J Biol Chem* ; 281: 26014-21.
- **Van Belkum A, Melles DC, Nouwen J, Van Leeuwen WB, Van Wamel W, Vos MC, Wertheim HF, Verbrugh HA. 2009.** Co-evolutionary aspects of human colonisation and infection by *Staphylococcus aureus*. In : *Infection, genetics and evolution*, 9 (1) : 32-47.
- **Van Duijkeren E, Moleman M, Van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM S, Multem J, Troelstra A, Fluit AC, Van Wamel WJ, Houwers DJ, De Neeling AJ, Wagenaar JA. 2010.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel: an investigation of several outbreaks. *Vet Microbiol*, 141: 96–102.
- **Van Loo I, Huijsdens X, Tiemersma E, De Neeling A, Van De Sande-Bruinsma N, Beaujean D, Voss A, Klytmans J. 2007.** Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans. *Emerging Infectious Diseases*, 13 (12) : 1834-1839.
- **Vandendriessche S, Kadlec K, Schwarz S, Denis O. 2011.** Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* ST398-t571 harbouring the macrolide–lincosamide–streptogramin B resistance gene *erm(T)* in Belgian hospitals. *J Antimicrob Chemother*, 66: 2455–2459.
- **Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME, Etienne J. 2003.** Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis*, 9:978-84.
- **Varon E. 2012.** AntibioGramme in quinolone. 3<sup>ème</sup> édition. Revue Francophone des laboratoires.
- **Vautor E, Abadie G, Guibert J M, Chevalier N, Pepin M. 2005.** Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in dairy sheep. *Veterinary Microbiology*, 106: 235-239.
- **Vieu G. 2014.** Diversité génétique des isolats de *S. aureus* producteurs de toxine de panton valentine isolés au CHU de Toulouse. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Toulouse III, PAUL SABATIER, France.
- **Villar M, Marimón JM, García-Arenzana JM, De La Campa AG, Ferrándiz MJ, Pérez-Trallero E. 2011.** Epidemiological and molecular aspects of rifampicin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wounds, blood and respiratory samples. *J. Antimicrob. Chemother*, 66 (5) : 997–1000.
- **Vincenot F, Maher S, Prévost G. 2008.** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des Laboratoires*, N°407.
- **Waston K, Carville K, Bowman J, Jacoby P, Riley TV, Leach AJ, Etlehmann D. 2006.** Upper respiratory tract bacterial carriage in aboriginal and non-aboriginal children in a semi-arid area of Western Australia. *Pediatrics Infectious Diseases Journal*, 25: 782-790.
- **Weese JS. 2010.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* In Animals. *ILAR J*. 51: 233-244.

- **Weidong Liu MSc, Zhichang Liu MSc, Zhenjiang Yao PhD, Yanping Fan MSc, Xiaohua Ye PhD, Sidong Chen PhD. 2015.** The prevalence and influencing factors of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in people in contact with livestock: A systematic review. *Am J Infect Control*, 43(5) : 469-75
- **Wertheim HF , Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, Van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. 2005.** Le rôle du calage nasal dans les infections à *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis*, 5 (12) : 751-62.
- **Zhou W, Shan W, Ma X, Chang W, Zhou X, Lu H, Dai Y. 2012.** Molecular characterization of rifampicinresistant *Staphylococcus aureus* isolates in a Chinese teaching hospital from Anhui, China. *BMC Microbiol*, 12, 240.

## Annexes

### Annexes 1 : Milieux de culture utilisés et leur composition

#### Gélose de Baird-Parker

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

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

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

- Utiliser des œufs frais de poule dont la coquille est intacte.
- Nettoyer les œufs avec de l'eau courante et essuyer
- Aseptiquement, casser chaque œuf et séparer le blanc du jaune par transferts répétés de demi-coquille à l'autre.
- Recueillir les jaunes d'œufs dans un récipient stérile et compléter avec quatre fois leur volume d'eau distillée stérile. Homogénéiser vigoureusement.
- Chauffer le mélange à 47°C pendant 2h.
- Entreposer à 3°C ± 2°C pendant 18 à 24h, le temps nécessaire pour la formation d'un précipité.
- Recueillir stérilement dans un flacon le surnageant constituant l'émulsion (Durée de conservation est au maximum 72h à 3°C ± 2°C).

#### Composition du milieu complet

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

#### Bouillon cœur-cerveille (BHIB)

Extrait cœur- cervelle .....	17g
Peptone pancréatique de gélatin.....	10g
Na.....	5g
Phosphate disodique.....	2.5g
Glucose.....	2g

**Préparation** : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15mn. Pour l'obtention du milieu solide BHI, 20g d'agar bactériologique ont été additionné à 1L de bouillon BHIB lors de sa préparation.

**Muller Hinton**

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

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

**Gélose à ADN**

Hydrolysate tryptique de caséine.....	20 g
ADN.....	2 g
NaCl.....	5 g
Gélose.....	12 g
Eau distillée.....	1000 mL

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

**Milieu Chapman**

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

Extrait de viande (bovin ou porcine).....	1g
Peptone de caséine et de viande (bovin ou porcine).....	10g
Chlorure de sodium .....	75g
Mannitol .....	10g
Agar .....	15g
Rouge de phénol .....	0.025g

**Préparation** : 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15mn.

**Bouillon Clark et Lubs**

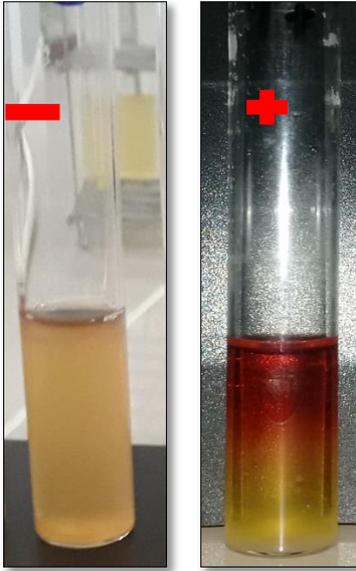
Peptone.....	5g
Glucose.....	5g
Hydrogénophosphate de potassium.....	5g
Eau distillée.....	100 mL

**L'eau physiologique**

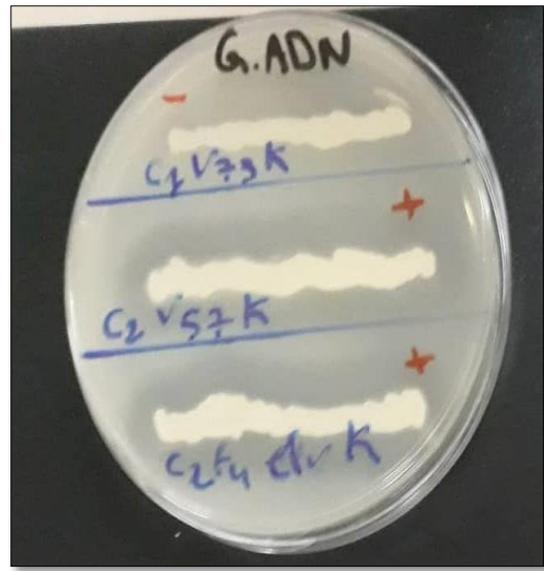
Chlorure de sodium.....9g

Eau distillée .....1000mL

**Annexe 2 :** Tests biochimiques pour l'identification de *S. aureus*.



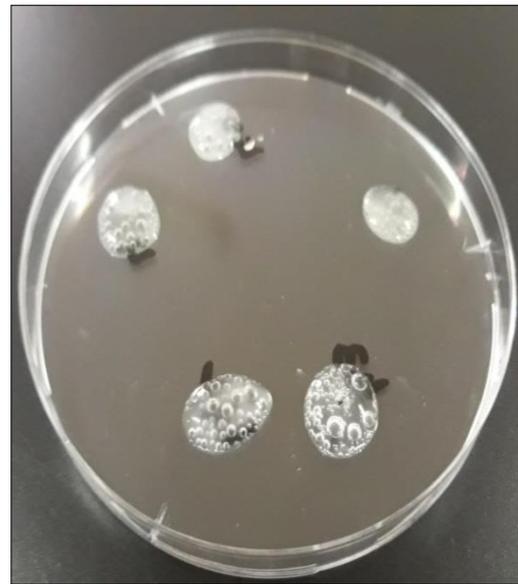
**Test de Voges-Proskauer**



**Test d'ADNase**



**Test de la coagulase**



**Test de la catalase**

**Annexes 3 :** Valeurs des diamètres des zones d'inhibition selon le CLSI 2018 et la CASFM 2018.

Famille	Antibiotique	Diamètre critique			Références
		Sensible	Intermédiaire	Résistant	
β-lactamines	Pénicilline (P)	≥29	-	≤28	CLSI 2018
	Céfoxitine (FOX)	≥22	-	≤21	CLSI 2018
Aminoglycoside	Gentamycine (GN)	≥15	13-14	≤12	CLSI 2018
	Néomycine (N)	≥18	-	<18	CASFM 2018
Macrolides	Erythromycine (E)	≥23	14-22	≤13	CLSI 2018
Tétracyclines	Tétracycline (TE)	≥19	15-18	≤14	CLSI 2018
Quinolones	Ofloxacine (OFX)	≥18	15-17	≤14	CLSI 2018
Phénicolés	Chloramphénicol (C)	≥18	13-17	≤12	CLSI 2018
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole (SXT)	≥16	11-15	≤10	CLSI 2018

**Annexe 4 :** Antibiogramme des souches de *S. aureus* isolées et testées vis-à-vis de 09 molécules d'antibiotiques.

**Ferme 1 :**

Codes	Souches	P	FOX	C	E	SXT	CN	N	TE	OFX
<b>S283</b>	EC1F2éleveur	20	23	22	23	25	18	17	28	26
<b>S284</b>	EC2F2éleveur	08	23	24	25	25	17	16	26	26
<b>S285</b>	EC4F2éleveur	37	24	25	06	26	21	19	14	28
<b>S287</b>	EC3F2éleveur	23	23	25	27	26	19	19	31	25
<b>S297</b>	L1F2mélange	30	32	27	29	26	28	24	33	27

**Ferme 2 :**

Codes	Souches	P	FOX	C	E	SXT	CN	N	TE	OFX
<b>S288</b>	EC1F3V36	09	23	25	26	25	20	19	29	26
<b>S289</b>	EC3F3V36	10	23	25	25	26	21	19	11	28
<b>S290</b>	EC1F3V37	10	25	25	26	26	21	19	9	25
<b>S291</b>	EC2F3V46	08	19	21	25	22	17	16	10	28
<b>S292</b>	EC2F3V47	08	20	22	24	24	19	17	26	26
<b>S293</b>	EC2F3V37	07	21	23	24	24	17	18	10	27
<b>S294</b>	EC1(1) F3V47	13	21	25	25	25	20	18	13	28
<b>S295</b>	EC2F3V36	06	21	23	25	25	19	18	11	26
<b>S296</b>	EC1F3V43	38	29	24	30	21	27	17	11	13
<b>S298</b>	EC1F3V46	09	20	29	26	26	21	19	11	27

**Ferme 3 :**

Codes	Souches	P	FOX	C	E	SXT	CN	N	TE	OFX
<b>S270</b>	EC1F1V12	33	30	25	19	25	20	19	20	25
<b>S271</b>	EC1F1V8	22	28	30	30	25	30	25	08	18
<b>S272</b>	EC1F1V2	34	27	26	06	27	22	19	11	25
<b>S273</b>	EC1F1V6	29	35	30	30	29	30	25	07	27
<b>S274</b>	EC1F1V2	32	26	26	06	29	20	19	08	28
<b>S275</b>	LC1F1mélange	30	25	25	22	25	20	19	20	23

**Ferme 4 :**

Codes	Souches	P	FOX	C	E	SXT	CN	N	TE	OFX
<b>S337</b>	EC1F4V75	18	29	29	28	20	20	19	12	29
<b>S338</b>	EC2F4V75	17	29	29	28	20	20	20	11	29
<b>S339</b>	EC2F4V65	17	30	26	27	21	20	19	11	26
<b>S409</b>	EC1F4éleveur	13	28	26	27	26	22	22	13	10
<b>S410</b>	EC2(1) F4V70	18	27	26	28	19	20	18	11	26
<b>S411</b>	EC1F4V65	17	26	26	26	20	20	19	11	26
<b>S412</b>	EC3F4V65	18	30	27	25	22	20	18	11	28
<b>S413</b>	LF4mélange	19	30	30	29	20	19	19	14	29
<b>S414</b>	EC2F4V73	19	29	27	27	20	20	20	12	28
<b>S415</b>	EC2F4éleveur	17	26	30	28	27	25	21	15	10
<b>S416</b>	EC2F4V57	15	26	30	26	25	24	23	12	09

**E** : Ecouvillonnage ; **F** : Ferme ; **L** : Lait ; **C** : Colonie ; **V** : Vache.