

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

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



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

En Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

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

Présenté par :

AMAZOUZ Rania & AMAZOUZ Sonia

Soutenu le : **26 novembre 2020**

Devant le jury composé de :

- Président : *M^{elle} MEGUENNI. Nassima,* MCB à l'UMMTO
- Encadreur : *M^r TITOUCHE. Yacine,* MCB à l'UMMTO
- Examinatrice : *M^{elle} OUSSAID. Saliha,* MCB à l'UMMTO

Année universitaire : 2019 / 2020

Remerciements

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de notre stage et qui nous ont aidés lors de la rédaction de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à notre promoteur Mr TITOUCHE maître de conférences B à l'Université de Tizi-Ouzou, pour sa patience, sa présence, sa disponibilité et surtout ses conseils avisés qui ont contribué à alimenter notre réflexion et lui exprimer notre profonde reconnaissance pour sa supervision éclairée tout au long de la rédaction de notre mémoire.

M^{elle} MEGUENNI Nassima, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

M^{elle} OUSSAID Saliha, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à mon cher papa Larbi et ma chère maman Dalila pour leur aide et leur soutien à la fois moral et économique, qui m'a permis de réaliser les études que je voulais et par conséquent ce mémoire.

A mon cher frère Tewfik

A mes amies avec lesquelles j'ai partagé mes meilleurs moments : Yasmine, Hayyat et Sabrina.

SONIA

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à mon cher papa Saïd et ma chère maman Rabia pour leur aide et leur soutien à la fois moral et économique, qui m'a permis de réaliser les études que je voulais et par conséquent ce mémoire.

A mes chères Sœurs Lydia et Amira

A mes meilleures amies avec lesquelles j'ai partagé mes meilleurs moments : Amel, Flora et Chanez.

RANIA

Résumé

Le *Staphylococcus aureus* est un agent pathogène opportuniste commun chez l'Homme et l'animal, il peut être impliqué dans diverses infections graves chez l'homme ainsi que chez différentes espèces avicoles économiquement importantes. Le but de notre étude est d'évaluer la prévalence du *Staphylococcus aureus* chez le poulet de chair et de tester sa résistance vis-à-vis des antibiotiques.

Pour cela, nous avons réalisé un total de 149 prélèvements nasaux chez le poulet de chair au niveau de deux abattoirs de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Au total, 18 souches de *S. aureus* ont été isolées, avec une prévalence de 8,05 %. Des taux élevés de résistances ont été enregistrés vis-à-vis de la pénicilline G (88,88%), de l'érythromycine (77,77%), de l'ofloxacine (77,77%) et de la tétracycline (66,55%). En revanche, aucune résistance n'a été observée vis-à-vis de la céfoxitine, de la gentamycine, du chloramphénicol et du triméthoprime/sulfaméthoxazole.

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

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, Portage nasal, Poulet de chair, résistance aux antibiotiques

Abstract

Staphylococcus aureus is a common opportunistic pathogen in humans and animals; it can be implicated in various serious infections in humans as well as in various economically important poultry species. The aim of our study is to evaluate the prevalence of *Staphylococcus aureus* in broilers and to test its resistance to antibiotics.

To do this, we carried out a total of 149 nasal samples from broilers at two slaughterhouses in the wilaya of Tizi-Ouzou.

A total of 18 strains of *S. aureus* were isolated, with a prevalence of 8.05%. High rates of resistance were recorded against penicillin G (88.88%), erythromycin (77.77%), ofloxacin (77.77%) and tetracycline (66.55%). In contrast, no resistance was observed to cefoxitin, gentamycin, chloramphenicol and trimethoprim / sulfamethoxazole.

The results obtained in this study reveal the health risk associated with the presence of *S. aureus* in broilers. Thus, the application of biosecurity rules and good hygiene practices recommend preventing the spread of *S. aureus* at the farm level and throughout the production chain.

Key words: *Staphylococcus aureus*, Nasal carriage, Broiler chickens, antibiotic resistance.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
---------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le *Staphylococcus aureus*

1. Historique	2
2. Taxonomie	2
3. Habitat et épidémiologie.....	3
4. Caractères bactériologiques.....	3
4.1. Caractères morphologiques	3
4.2. Caractères cultureux	4
4.3. Caractères biochimiques	4

Chapitre II : Facteurs de virulence

1. Les composants de la paroi.....	6
1.1. Peptidoglycane	6
1.2. Acide téichoïque.....	6
2. Les protéines de surface et capsule	6
2.1 Les facteurs d'adhésions	6
2.1.1 MSCRAMMs	7
2.1.2 SERAM	7
2.2 La protéine A.....	7
2.3 La capsule	8
3. Les protéines extracellulaires	8
3.1 Les toxines.....	8
3.1.1 Les hémolysines.....	8
3.1.1.1 L'hémolysine alpha	8
3.1.1.2 L'hémolysine bêta.....	8
3.1.1.3 L'hémolysine gamma	9
3.1.1.4 L'hémolysine delta.....	9

3.1.2 Les leucocidines de Panton et Valentine	9
3.1.3 Les exofoliatines	10
3.1.4 Les superantigènes	10
3.1.5 Les entérotoxines staphylococciques	11
3.2 Les enzymes	11
3.2.1 Les protéases	11
3.2.2 Les lipases	12
3.2.3 Les Staphylokinases	12
3.2.4 La coagulase	12
3.2.5 Les nucléase	12
3.2.6 L' hyaluronidase	13
3.2.7 La catalase	13

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

1. Histoire des antibiotiques	14
2. Définition des antibiotiques.....	14
3. Critères de classification des antibiotiques.....	15
4. Résistance de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	15
4.1 Définition de la résistance	15
4.2 Support génétique de la résistance	15
4.2.1 Résistance naturelle	15
4.2.2 Résistance acquise	16
4.3 Mode de résistance des bactéries	16
4.3.1 Inactivation enzymatique	16
4.3.2 Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique	17
4-3-3 Imperméabilité cellulaire	17
4.3.4Phénomène d'efflux	17
4.4 Résistance aux β -lactamines	19
4.4.1Résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases	19
4.4.2 Résistance à la méticilline.....	20
4.5 Résistance aux glycopeptides.....	21
4.6 Résistance aux aminosides.....	21
4.7 Résistance aux quinolones	22
4.8 Résistance aux tétracyclines	23

4.9 Résistance aux phénicolés	23
4.10 Résistance aux MLS	23
4.11 Résistance naturelle	24

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthode

1. Objectifs de l'étude.....	26
2. Matériels biologiques	26
3. Milieux de culture et réactifs	26
4. Méthodes	27
4.1 Lieu et durée de l'étude	27
4.2 Collecte des échantillons	27
5. Analyse au laboratoire des échantillons	28
5.1 Écouvillonnage et enrichissement	28
5.2 Isolement de <i>S. aureus</i>	29
5.3 Purification des isolats	29
5.4 Identification biochimique.....	29
5.4.1 Test de la catalase	29
5.4.2 Test d'ADNase	30
5.4.3 Test de la coagulase	30
5.5 Antibiorésistance	30
5.6 Conservation des souches	32

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Résultats	33
1-1-Prévalence de <i>S. aureus</i>	33
1-2- Antibiorésistance des souches isolées	33
2. Discussion.....	35
Conclusion	38
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

APC	Antigen presenting cell
BHI	Brain Heart Infusion
BHIB	Brain Heart Infusion Broth
BP	Baird Parker
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
D.O	Densité Optique
EPA	Extracellular Adhesion Protein.
Hla	L' α -hémolysine
Hlg	Hybrid Log Gamma
MDR	Multiple-drug-resistance
MH	Muller Hinton
MLS	Macrolides, Lincosamides, Streptogramines
MSCRAMMs	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules.
NAG	N- acétylglucosamine.
NAM	Acide N-acétylmuramique.
PBP	Penicillin Binding Protein
PLP	Protéines Liants la Pénicilline.
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Mécitiline.
SCN	<i>Staphylococques</i> à Coagulase Négative.

SCP	<i>Staphylococques à Coagulase Positive.</i>
SDR	Specific drug-resistance
SE	Staphylococcal Enterotoxin
SERAM	Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules.
TCR	Cellule T réceptrice d'antigène
TSST	Toxic Shock Syndrome Toxin

Liste des figures

Figure 1 : <i>Staphylococcus aureus</i> sous coloration de Gram au grossissement 10x100.	4
Figure 02 : Mécanisme d'assemblage des monomères de lukF-PV et lukS-PV pour former un pore octamérique.	9
Figure 03 : Mécanisme d'action des superantigènes de <i>S. aureus</i> . A gauche : interaction normale entre le CMHII, le TCR et l'antigène entraînant une activation T spécifique. A droite: interaction entre le CMH II, le TCR et un superantigène, entraînant une activation T non spécifique. APC : Antigenpresentingcell.	10
Figure 04 : Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> et leur cinétique de production au cours du développement de l'infection.	13
Figure 05 : Différents modes d'action des antibiotiques sur les bactéries.	18
Figure 06 : Résistance aux Bêta-lactamines : <i>Staphylocoque</i>	20
Figure 07 : Résistance au Glycopeptides chez <i>S.aureus</i>	21
Figure 08 : Mécanisme de résistance lié au mode d'action des antibiotiques.	25
Figure 09 : Diagramme montrant les différentes étapes d'identification de <i>S. aureus</i>	32
Figure 10 : Profil de résistance d'une souche SASM (Photo personnelle prise au laboratoire) .	35

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractères biochimiques de <i>S. aureus</i>	5
Tableau 02 : Nature et nombre de prélèvements.....	28
Tableau 03 : Listes des molécules d'antibiotiques testés.....	31
Tableau 04: Prévalence de <i>S. aureus</i> et nombre de souches isolées selon la région.	33
Tableau 05: Résistance des souches de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques testés (n=35).....	34
Tableau 06 : Phénotypes de multi-résistances.	34

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Généralités sur le *Staphylococcus aureus*

1- Historique

Les staphylocoques ont été découverts pour la première fois en 1871 dans du pus d'abcès. Ensuite ils ont été observés et décrits par Robert Koch en 1878 puis par Louis Pasteur en 1880 comme étant des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (KARTHIK, 2007).

En 1883, Ogston a créé le nom de «Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries. Il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées (AVRIL *et al*, 1992).

Par la suite, au cours de l'année 1925, l'utilisation progressive de tests biochimiques a permis de distinguer le genre *Staphylococcus* du genre *Micrococcus* (HILL, 1981).

Une nette distinction basée sur la composition de l'ADN entre les deux genres a été proposée par Silvestri et Hillen en 1965. Le pourcentage en bases G+C de l'ADN des microcoques est de 63-73%, comparé à celui des staphylocoques 30-39%, indiquant qu'il n'existe pas de relation entre les deux genres (STEPHEN et HAWKEY, 2006).

2- Taxonomie

Jusqu'à récemment, le genre *Staphylococcus* était classé dans la famille des *Micrococcaceae* à cause de certaines similitudes phénotypiques avec le genre *Micrococcus*. Cependant, il y a une différence majeure dans le métabolisme de ces deux genres. En effet, les *Micrococcus* sont aérobies stricts tandis que, les *Staphylococcus* sont des anaérobies facultatifs (PELLERIN *et al*, 2010). Selon la deuxième édition de Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, la classification phylogénétique du genre *Staphylococcus* est la suivante (DELARRAS, 2007).

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum.....	<i>Firmicutes</i>
Classe.....	<i>Bacilli</i>
Ordre.....	<i>Bacillales</i>
Famille.....	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce.....	<i>Staphylococcus aureus</i>

Selon Le Loir et Gautier (2010), les espèces du genre *Staphylococcus* sont classées en deux groupes selon leurs capacités à produire ou non une coagulase libre active sur le plasma oxalaté de lapin :

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

3- Habitat et épidémiologie

S. aureus est un germe ubiquitaire et cosmopolite. Il est présent dans tous les continents et colonise divers milieux. Cependant, éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (l'air, l'eau, le sol, les aliments et différentes surfaces). Néanmoins, le réservoir principal de ce germe est l'Homme et les animaux à sang chaud (DELBÈS, 2010).

S. aureus est particulièrement présent dans les fosses nasales, qui sont considérées comme son réservoir permanent chez l'Homme (ENRIGHT et WITT, 2009), mais il est aussi isolé à partir du pharynx et des parties chaudes et humides de la peau, tels que le périnée et les creux axillaires avec des fréquences différentes (AVRIL *et al*, 1992).

La transmission intra ou interhumaine s'opère généralement par contact direct (manuportage). Plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux). En épidémiologie, on répartit la population en trois groupes, selon le portage ou non de *S. aureus* et la durée de portage, à savoir : les porteurs permanents (20% de la population), les porteurs transitoires (60% de la population) et les 20% restants sont les individus qui n'ont jamais été en contact avec *S. aureus* (KLUYTMANS *et al*, 1997).

4- Caractères bactériologiques

4-1 Caractères morphologiques

A l'examen microscopique, *Staphylococcus aureus* se présente sous l'aspect de cocci sphériques de 1µm de diamètre, à coloration Gram positive, immobile, non sporulé. La grande

majorité des souches sont capsulées *in vivo* mais perdent progressivement leur capsule en culture (FAUCHERE et AVRIL, 2002 ; GUIRAUD et ROSEC, 2004).

Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin" (ANANTHANARAYAN et PANIKER, 2006). 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 LOIRE *et al*, 2003). La figure 01 montre le *Staphylococcus aureus* sous coloration de Gram au grossissement 10x100.

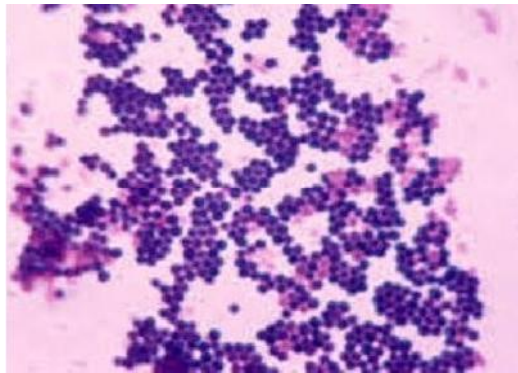


Figure 1 : *Staphylococcus aureus* sous coloration de Gram au grossissement 10x100.
(FERNANDEZ ET TURNER, 2017)

4-2 Caractères cultureux

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

4-3 Caractères biochimiques

Toutes les souches de *S. aureus* ont un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, produisent une coagulase, une nucléase thermostable et une catalase mais pas d'oxydase (ANANTHANARAYAN et PANIKER, 2006). Les *S. aureus*, réduisent le téllurite

de potassium et les nitrates en nitrites, et produisent de l'ammoniaque à partir de l'arginine (LE MINOR et VERRON, 1990 ; FRENEY *et al*, 1999).

La plupart des souches sont lipolytiques produisant une zone opaque lorsqu'elles sont cultivées dans des milieux contenant le jaune d'œuf (ANANTHANARAYAN et PANIKER, 2006).

De plus, les souches de *S. aureus* contrairement aux autres espèces produisent de l'hémolyse bêta, caractéristique utile lorsqu'on cherche à identifier un staphylocoque (COUTURE, 1990). *S. aureus* est capable de dégrader de nombreux substrats glucidiques, protéiques et lipidiques grâce à son équipement enzymatique (FERRON, 1984).

Le tableau I ci-dessous illustre les caractéristiques biochimiques des principales espèces du genre *Staphylococcus*

Tableau I : Caractères biochimiques de quelques espèces du genre *Staphylococcus* (adapté par SCHLEIFER et BELL, 2009).

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

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

Chapitre II : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*

La pathogénie de *S. aureus* est un phénomène complexe, faisant intervenir une multitude de facteurs de virulence. C'est l'action combinée de l'ensemble de ces facteurs qui explique le fort pouvoir pathogène de cette bactérie et la multitude de maladies qu'elle peut engendrer (HIRON, 2007). Ces facteurs de virulence sont subdivisés en 3 catégories : Les composants de la paroi, les protéines de surface et les protéines secrétées (TALLY, 1993).

1- Les composants de la paroi

1-1- Le peptidoglycane

Le peptidoglycane est un élément constant de la paroi bactérienne et assure sa rigidité. C'est une énorme molécule réticulée faite de chaînes polysaccharidiques reliées entre elles par de courts peptides. Les chaînes polysaccharidiques sont faites de l'alternance de N-acétylglucosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM).

Le peptidoglycane représente 50% du poids de la paroi bactérienne. Il Possède une activité endotoxine-like et provoque la libération des cytokines par les macrophages et l'activation du système complément. D'autre part, le peptidoglycane provoque l'agrégation des plaquettes (HSU *et al*, 2005).

1-2- L'acide téichoïque

C'est des polymères linéaires de ribitol ou de glycérol, représentant environ 40 % du poids de la paroi bactérienne, unis par des liaisons phosphodiester et substitués selon les cas par de la N-acétylgalactosamine (KARTHIK, 2007).

L'acide téichoïque est responsable de la résistance aux lysosomes et aux peptides antimicrobiens ainsi que de l'évasion de la réponse immunitaire de l'hôte (BILJANA *et al*, 2015).

Il joue un grand rôle dans les interactions entre les bactéries et les cellules et dans la fixation des bactériophages. Il est impliqué dans l'activation du complément et l'adhésion aux surfaces muqueuses et favorise ainsi la colonisation (ALY et LEVIT, 1987).

2- Protéines de surface et capsule

2-1- Facteurs d'adhésions

Les cellules de *S. aureus* expriment à leur surface des protéines qui favorisent l'attachement à l'hôte fonctionnant comme des adhésines qui sont ancrées dans le

peptidoglycane. Ces adhésines peuvent jouer un rôle dans la colonisation de l'hôte et au cours de la maladie invasive (STEPHAN *et al*, 2006).

2-1-1- MSCRAMMs

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

2-1-2- SERAM

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

2-2- Protéine A

Il s'agit d'une protéine d'un poids moléculaire de 42 kDa, antigénique, caractéristique de l'espèce *S. aureus*. Elle est majoritairement élaborée par des souches d'origine humaine. En revanche, les souches d'origine animale en sont souvent moins productrices (SUTRA et POUTREL, 1994). La protéine A se fixe sur la fraction Fc des immunoglobulines humaines IgG, ce qui inhibe la phagocytose (STEPHAN *et al*, 2006).

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

2-3- Capsule

Environ 90% des souches de *S. aureus* produisent une capsule exo-polysaccharidique, on retrouve dans sa composition des dérivés osidiques (galactose, fructose, mannose...) ainsi que des acides aminés. Les souches capables de produire cet exo-polysaccharide, présentent une résistance contre l'opsonophagocytose par les neutrophiles (SMELTZER, 2009 ; BOISSET et VANDENESCH, 2010).

3- Protéines extracellulaires**3-1- Toxines**

S. aureus produit un certain nombre de molécules cytotoxiques qui peuvent être divisés en plusieurs classes (PREVOST, 2004), ces toxines provoquent des pathologies regroupant les syndromes cutanés staphylococciques, le choc toxique staphylococcique et l'intoxication alimentaire (VINCENOT *et al*, 2008).

3-1-1 Hémolysines**3-1-1-1- L'hémolysine alpha**

C'est une toxine de 31kDa, codée par le gène *hla*. Elle est synthétisée par 80 à 90% des souches de *S. aureus*. Son activité cytolytique est observée chez de nombreux mammifères, notamment le lapin, mais elle est moins active sur les hématies humaines (LE MINOR et VERON, 1982). La toxine α cible aussi d'autres types de cellules qui peuvent être des lymphocytes T, des plaquettes, des kératinocytes et des fibroblastes (BOISSET et VANDENESCH, 2010). A l'état libre, elle est monomérique mais son action s'exerce par l'agglomération de ses parties à la surface des cellules cibles et la formation d'un pont heptamérique, ce qui cause la lyse osmotique (VINCENOT *et al*, 2008 ; PLATA *et al*, 2009).

3-1-1-2- L'hémolysine bêta

C'est une protéine de 26 à 38 kDa, produite majoritairement par des souches animales. Elle est active sur la sphingomyéline contenue sur la membrane des globules rouges (d'où son autre nom sphingomyélinase de type C). Elle présente une forte activité sur les érythrocytes du mouton, mais elle est peu active sur celle des autres espèces (LE MINOR et VERON, 1982; BOISSET et VANDENESCH, 2010).

3-1-1-3 l'hémolysine gamma

Cette toxine est composée de deux protéines distinctes, l'une de 32 kDa (Hlg C ou Hlg A) et l'autre de 36 kDa Hlg B (KAMIO et al, 2002), codées respectivement par les gènes *hlg C*, *hlg A* et *hlg B*. L'activité de cette toxine est variable en fonction des combinaisons (Hlg A/Hlg B ou Hlg C /Hlg B). Elle hémolyse les érythrocytes et les leucocytes (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

3-1-1-4- L'hémolysine delta

C'est une toxine de poids moléculaire égale à 103 kDa. Elle est thermostable et hydrophobe. Son activité biologique n'est pas de nature enzymatique (LE MINOR et VERON, 1982). Elle agit comme un surfactant, en créant des cylindres hydrophobes au niveau de la membrane cellulaire, ce qui induit un choc osmotique des érythrocytes (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

3-1-2-Les leucocidines de Panton et Valentine

Elle est constituée de deux protéines différentes, une protéine LukS-PV de classe S (Slow eluted) de 31 à 32 kDa, et une autre LukF-PV de classe F (Fasteluted) (VINCENOT et al., 2008). Ces deux composants sont sécrétés séparément et agissent en synergie, leur assemblage en octamère à la surface des cellules cibles provoquera la formation d'un pore au niveau de la membrane cellulaire. Cette exotoxine induit la lyse des polynucléaires, des neutrophiles, des monocytes et des macrophages (GENESTIER *et al*, 2005). La figure 02 ci-dessous illustre le mécanisme d'assemblage des monomères de lukF-PV et lukS-PV pour former un pore octamérique.

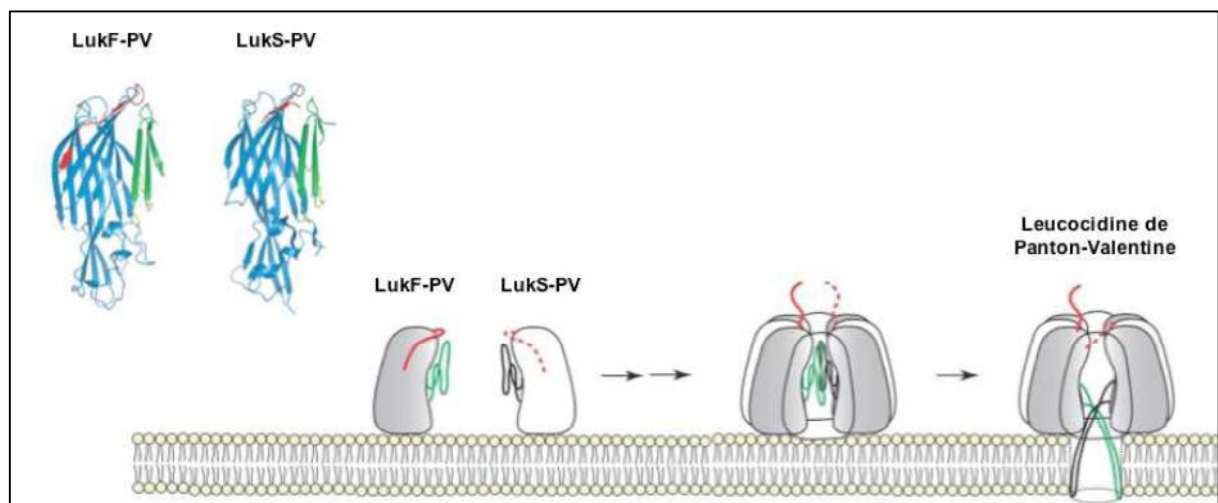


Figure 02 : Mécanisme d'assemblage des monomères de lukF-PV et lukS-PV pour former un pore octamérique (MILES *et al*, 2006).

3-1-3- Les exfoliatines

On dénombre quatre exfoliatines, ETA, ETB, ETC et ETD (BOISSET et VANDENESCH, 2010). Ce sont des protéases actives, clivant spécifiquement les liaisons du glutamate (VINCENOT *et al*, 2008). Les deux premières sont retrouvées principalement en pathologies humaines. Leur action est spécifique à la peau, elles entraînent des lésions histologiques caractérisées par un décollement intra-épidermique (LE MINOR et VERON, 1982).

3-1-4- Les superantigènes

Ce groupe de toxines a la capacité d'interagir à la fois avec le récepteur spécifique des lymphocytes T (TCR) et les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II. Cette activation polyclonale entraîne la libération de cytokines pro-inflammatoires qui jouent probablement un rôle important dans le déclenchement du syndrome de choc toxique. Il inclut les entérotoxines, la TSST et l'exfoliatine (NAUCIEL et VILDE, 2005). La figure 03 illustre le mécanisme d'action des superantigènes de *S. aureus*.

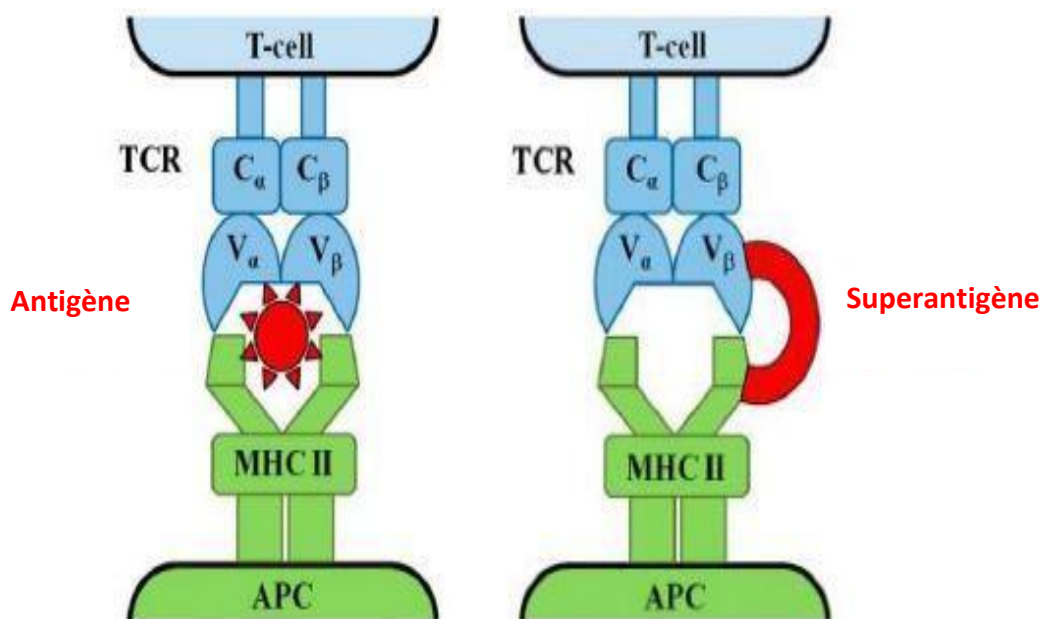


Figure 03: Mécanisme d'action des superantigènes de *S. aureus*. (MACIAS *et al*. 2011). A gauche : interaction normale entre le CMHII, le TCR et l'antigène entraînant une activation T spécifique. A droite : interaction entre le CMH II, le TCR et un superantigène, entraînant une activation T non spécifique.

APC : cellule présentatrice d'antigène.

3-1-5- Les entérotoxines staphylococciques

Les entérotoxines sont de petites protéines sécrétées dans le milieu environnant de la bactérie. Résistantes à la plupart des enzymes protéolytiques, elles peuvent franchir le système digestif et garder leur activité après ingestion. Elles sont également thermostables (CHARLIER *et al*, 2010), ainsi leurs propriétés biologiques peuvent rester inchangées après pasteurisation (Le Loir *et al*, 2003). Elles présentent également une surprenante stabilité sur une large gamme de pH (BENDAHOU *et al*, 2009 ; DI GIANNATAL *et al*, 2011).

La production d'entérotoxines staphylococcique peut commencer à partir d'une faible concentration bactérienne (10^3 ufc/ml) après une incubation de 2h à 37°C. Lorsqu'elles sont ingérées, ces toxines se révèlent fortement émétisantes et représentent l'une des principales causes de toxi-infections alimentaires (VINCENOT *et al*, 2008). Chez l'humain, les symptômes se manifestent après ingestion d'une petite quantité de toxine (0.5ng/ml) (BALABAN *et al*, 2000 ; LE LOIR *et al*, 2003 ; DI GIANNATAL *et al*, 2011), et ce après un court délai d'incubation (1 à 6 h) (VINCENOT *et al*, 2008). En général, il n'y a pas de signes généraux et l'évolution est le plus souvent favorable en l'absence de traitement. Néanmoins, la survenue d'un choc toxique staphylococcique est possible en cas d'intoxication massive (VINCENOT *et al*, 2008).

Le pouvoir pathogène de *S. aureus* est donc lié à la production de toxines appelées entérotoxines staphylococciques (ES). Neuf types antigéniques majeurs ont été reconnus et désignés SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI et SEJ (ZHANG *et al*, 1998). Toutes ces toxines présentent une activité superantigéniques en interagissant avec les cellules présentatrices d'antigène et, stimulent la prolifération non spécifique des cellules T (DINGES *et al*, 2000).

3-2- Les enzymes**3-2-1- Les protéases**

La majorité des souches de *S. aureus* sont productrices de protéases, sous forme de pro-enzymes inactives, nécessitant un clivage pour qu'elles soient actives. On distingue trois catégories de protéases, les sérine-protéases, les cystéines-protéases et les métallo-protéases (BOISSET et VANDENESCH, 2010). Elles hydrolysent certaines protéines, telle que la staphylokinase, et contribuent à la destruction du caillot et à la formation de micro-embolus bactériens, responsables de métastases septiques (SCHLIEVERT *et al*, 2010).

3-2-2- Les lipases

La plupart des souches de *S. aureus* possèdent des enzymes capables de métaboliser les graisses cutanées et jouent un rôle dans la dissémination de l'infection, favorisant ainsi la survie des staphylocoques (KAPRAL *et al*, 1992). Les principales enzymes qui attaquent les lipides sont les lipases, les estérases et les phosphatidases, Leur mise en évidence est effectuée sur des milieux contenant du jaune d'œuf (LE MINOR et VERON, 1982 ; PANCHOLI, 2002).

3-2-3- Les Staphylokinases

De nombreuses souches de *S. aureus* expriment un activateur du plasminogène appelé staphylokinase. C'est une enzyme qui transforme le plasminogène en plasmine, elle agit sur le plasma humain, de chien, de cobaye et de lapin (TORTORA *et al*, 2002).

Cette substance thermolabile est antigénique, elle est sécrétée par les germes ayant colonisés le caillot (FLANDROIS, 1997 ; JIN *et al*, 2003), conduisant à la dislocation du thrombus en de petits fragments contenant des bactéries. Ainsi, elles contribuent aux métastases septiques (PANCHOLI, 2002). Elles possèdent également la propriété de cliver les IgG et le fragment C3b du complément afin d'empêcher la phagocytose (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

3-2-4- La coagulase

La coagulase est une enzyme exo-cellulaire, thermostable, d'un poids moléculaire qui varie selon les souches, de 5 à 40 kDa, codée par le gène chromosomique *coa*. Pour exercer son travail, elle s'associe avec la prothrombine, c'est pour cela qu'elle n'est pas active sur le fibrinogène purifié. La coagulase lie la prothrombine par son extrémité N-terminale, ce qui lui permet d'acquérir une activité protéolytique. Ce complexe est appelé staphylothrombine (LE MINOR et VERON, 1982 ; VINCENOT *et al*, 2008).

L'enzyme activée est capable de coaguler le plasma humain en quelques heures, permettant la transformation du fibrinogène en fibrine. Le thrombus formé, contribue probablement à empêcher la phagocytose (TALLY, 1993 ; PANCHOLI, 2002) et favoriser la constitution de thrombophlébites septiques (NAUCIEL et VILDE, 2005).

3-2-5- Les nucléase

S. aureus est la seule espèce du genre *Staphylococcus* à produire une nucléase thermostable. Elle permet ainsi une identification rapide de *S. aureus*. Elle a une activité exo-

et endo-nucléasique qui lui permet de dégrader l'ADN mais aussi l'ARN des cellules de l'hôte, elle est active à pH alcalin en présence de calcium (HU *et al*, 2013). L'activité enzymatique est mise en évidence sur un milieu à base d'ADN avec du bleu de Toluidine (halo rosé) (AVRIL *et al*, 2000).

3-2-6- L'hyaluronidase

Enzyme thermostable de 92 kDa, codée par le gène *hys A* (PANCHOLI, 2002). Elle exerce son activité à pH acide par l'hydrolyse de l'acide hyaluronique présent dans la matrice du tissu conjonctif (LE MINOR et VERON, 1982), favorisant probablement la diffusion de *S. aureus* dans ce dernier (TALLY, 1993).

3-2-7- La catalase

C'est une enzyme permettant la transformation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Avec cette enzyme *S. aureus* inhibe probablement l'activité destructrice des polynucléaires neutrophiles et cela par la dégradation des radicaux libres d'oxygène, produits par ces globules blancs. Par conséquent, la catalase donne une protection pour ce germe à l'intérieur des cellules phagocytaires, lui permettant d'échapper au système immunitaire (TALLY, 1993 ; PANCHOLI, 2002). La figure 04 démontrent les différents facteurs de virulence de *S. aureus* et leur cinétique de production au cours du développement de l'infection.

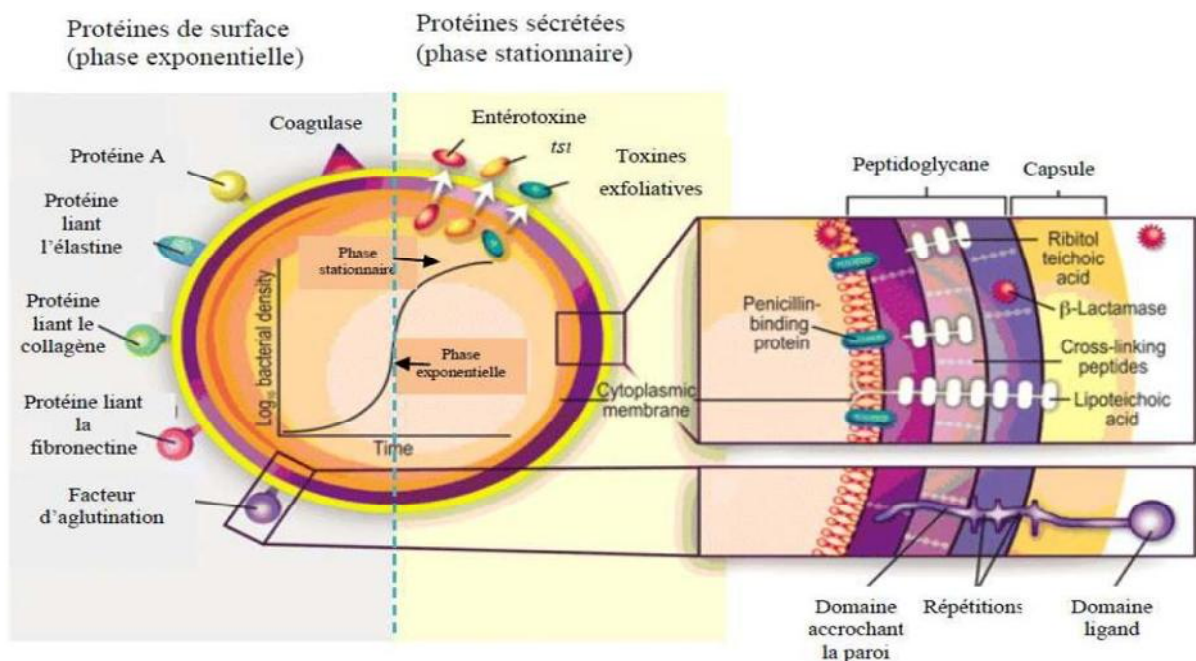


Figure 04 : Facteurs de virulence de *S. aureus* et leur cinétique de production au cours du développement de l'infection (LOWY *et al*. 1998).

Chapitre III

Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

1- Histoire des antibiotiques

Entre 1940 et 1950, la pénicilline était l'antibiotique de choix pour traiter les infections à *S. aureus*. Cependant la sensibilité à la pénicilline a été de courte durée suite à l'apparition de souches résistantes, productrices des β -lactamases (APPELBAUM, 2006). *S. aureus* possède une très grande plasticité génétique. Sous la pression de sélection des antibiotiques, il a très rapidement acquis des gènes portés par des plasmides codant pour des pénicillinases (GRUNDMANN et al, 2006).

En 1959, la méticilline est découverte. Peu après l'introduction de ce nouvel antibiotique apparaissent des souches de *S.aureus* résistantes que l'on appellera *S.aureus* résistants à la méticilline (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) (OTTER et FRENCH, 2010). La résistance bactérienne aux antibiotiques ou antibiorésistance est devenue un sérieux phénomène de portée universelle, qui n'a cessé d'augmenter de manière progressive au cours de ces dernières années. Ce problème de santé publique touche à la fois la santé animale et la santé humaine (FAYE, 2005).

2- Définition des antibiotiques

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

Les antibiotiques sont définis par leur :

- Activité antibactérienne (certains antibiotiques agissent contre les champignons unicellulaires, ils sont donc appelés antibiotiques antifongiques) (JOLY, 1989) ;
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme ;
- Activité en milieu organique ; dans le sang ou les tissus ;
- Toxicité sélective grâce à un mécanisme d'action spécifique (YALA et MERAD, 2001).

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

3- Critères de classification des antibiotiques

On peut classer les antibiotiques d'après plusieurs critères : nature chimique, origine, spectre d'action, mécanisme d'action (KEZZAL, 1993).

4- Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

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

4-1- Définition de la résistance

La résistance aux antibiotiques ou antibiorésistance est la capacité d'un micro-organisme à résister aux effets des antibiotiques (LE LOIRE et GAUTIER, 2010). Un microorganisme est considéré «résistant» lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (CARLE, 2009; MUYLAERT et MAINIL, 2012).

4-2- Supports génétiques de la résistance

Selon LECLERC et al (1995), il existe deux types de résistance des bactéries pour les antibiotiques : la résistance naturelle et la résistance acquise.

4-2-1- Résistance naturelle

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (YAMASHITA *etal*, 2000). Cette résistance constitue un critère d'identification (LAVIGNE, 2007).

4-2-2- Résistance acquise

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

4-3-Modes de résistances des bactéries

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

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

4-3-1- Inactivation enzymatique

Ce type de mécanisme est le plus important. De nombreuses classes d'antibiotiques et pratiquement toutes les espèces bactériennes sont concernées (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion (MUYLAERT et MAINIL, 2012).

4-3-2-Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

Après la pénétration cellulaire 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 de :

- Soit d'une résistance naturelle avec la mauvaise affinité de certain antibiotiques pour les cibles
- Soit d'une résistance acquise avec modification des cibles et perte d'affinité des antibiotiques pour ces cibles (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides, aux molécules de groupe MLS chez les bactéries à Gram positif et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatif. Ce type de résistance peut être le résultat de l'acquisition de matériel génétique mobile (codant pour une enzyme modifiant la cible), ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Quant au remplacement de la cible de l'antibiotique, c'est un mécanisme décrit pour les sulfamides et les β -lactames dont les *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méticilline (MUYLAERT et MAINIL, 2012).

4-3-3- Imperméabilité cellulaire

Pour qu'un antibiotique soit actif, il faut qu'il pénètre dans la bactérie jusqu'à sa cible. Cela suppose qu'il soit capable de traverser les divers obstacles mis sur sa route par la bactérie, comme la membrane externe, et la membrane cytoplasmique (MUYLAERT et MAINIL, 2012).

4-3-4- Phénomène d'efflux

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

nutritives et export de substances toxiques (CATTOIR, 2009).

Ce système d'efflux fonctionne avec une protéine de la membrane cytoplasmique qui est le transporteur ou pompe, une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine périplasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes.

L'antibiotique rentre dans la bactérie, mais, avant qu'il ne puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par ces protéines et excrété vers l'extérieur de la bactérie (GAUDY et BRUXERAUD, 2005).

La résistance provient donc de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. Deux types de pompes ont été décrites selon leur spécificité de substrats : pompes SDR (Specific Drug Resistance) et pompes MDR (Multiple Drug Resistance) (CARLE 2009; MUYLAERT et MAINIL, 2012). La figure 05 ci-dessous illustre les différents modes d'action des antibiotiques sur les bactéries.

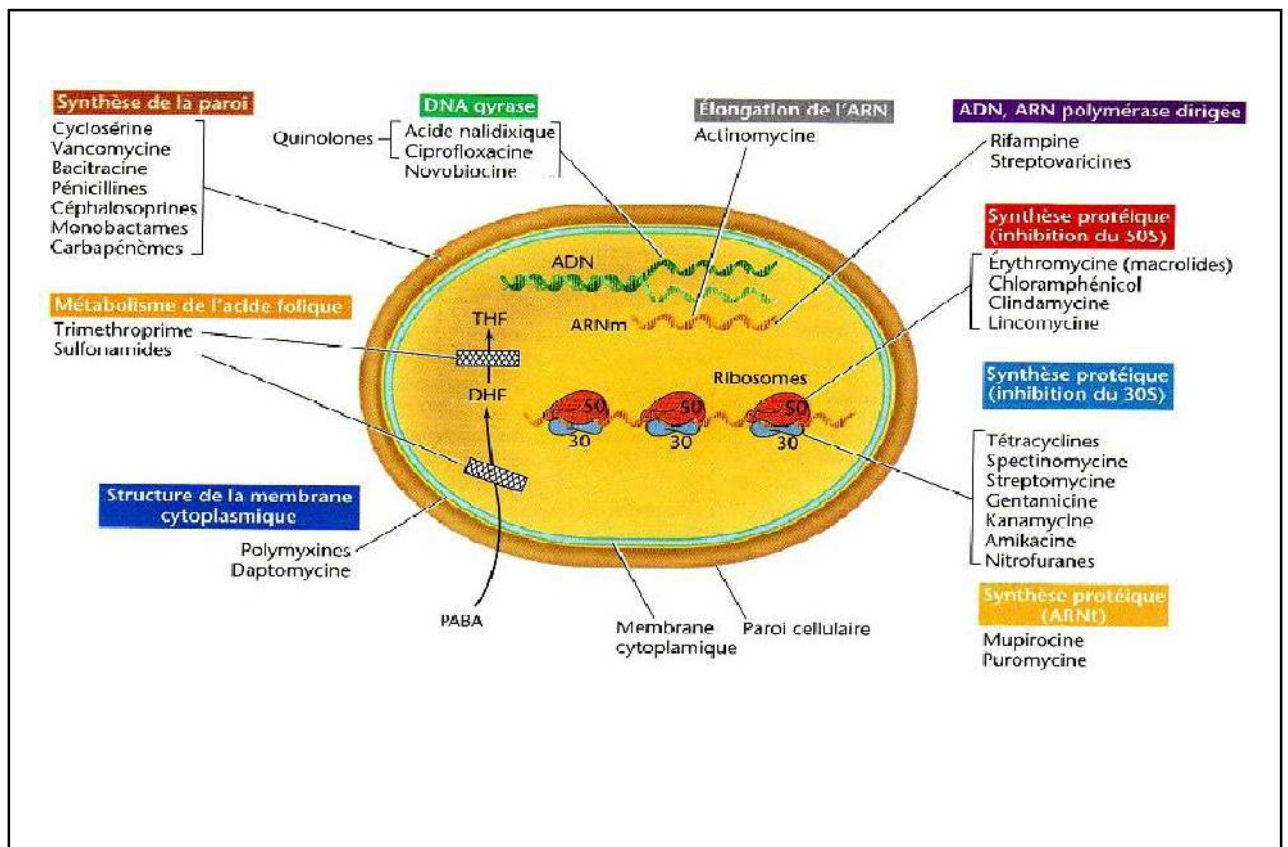


Figure 05 : Différents modes d'action des antibiotiques sur les bactéries (MADIGAN et MATINKO, 2007).

4-4- Résistance aux β -lactamines

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

Les β -lactamines ont une homologie de structure avec le D-Alanine-D-Alanine (D-Ala-D-Ala) du précurseur du peptidoglycane qui est le substrat des PLP. Elles se lient de manière covalente à ces dernières, empêchant ainsi la réticulation de la paroi bactérienne (NAUCIEL et VILDÉ, 2005).

Chez *S. aureus*, il y a deux principaux mécanismes de résistance aux β -lactamines : la production de β -lactamase et la production de PLP modifiées (CHAMBERS, 2009).

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

C'est le mécanisme de résistance le plus répandu chez *S. aureus*. En effet, près de 80% des souches de *S. aureus* produisent des β -lactamases (LOWY, 2003). Ce sont des PLP extracellulaires particulières, capables d'hydrolyser le noyau β -lactame de l'antibiotique (CHAMBERS, 2009). Elles sont codées par un gène inductible par la présence de β -lactamines appelé *blaZ* (CLARKE et DYKE, 2001).

S. aureus synthétise quatre types de β -lactamases (A, B, C et D). Chaque type possède une affinité propre vis-à-vis d'un antibiotique. Par exemple, les types B et C sont plus efficaces contre les céphalosporines sauf pour la nitrocéfine où les types A et D montrent une plus grande efficacité (DEBORAH *et al*, 1992).

Pour contourner le problème des β -lactamases, les scientifiques utilisent deux stratégies. La première consiste à modifier les antibiotiques de telle manière à ce que les enzymes ne puissent plus les reconnaître (le cas de la méticilline). La seconde consiste à combiner deux molécules ou plus, l'une ne vise à détruire la bactérie tandis que l'autre inhibe les enzymes (le cas du couple acide clavulanique-amoxicilline) (FREEMAN-COOK L et FREEMAN-COOK K, 2006).

4-4-2 Résistance à la méticilline

Il s'agit de la modification des PLP ou protéines liant les pénicillines qui sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne) et qui sont les cibles des β -lactamines (en se fixant aux PLP les β -lactamines les empêchent de jouer leur rôle ; la synthèse du peptidoglycane est entravée). Selon LOZNIIEWSKI et RABAUD (2010), trois mécanismes peuvent intervenir:

- Diminution de l'affinité des PLP pour les β -lactamines (exemple: *Streptococcus pneumoniae*) : les β -lactamines ont du mal à se fixer aux PLP qui restent disponibles pour la synthèse du peptidoglycane.
- Augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les β -lactamines (ex: *Enterococcus* spp. Cas précédent avec en plus une augmentation du nombre de PLP disponibles pour la synthèse du peptidoglycane ce qui conduit à une impossibilité pour une même dose de β -lactamines de toutes les bloquer).
- Synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux β -lactamines (ex: *Staphylococcus aureus* : l'acquisition et l'intégration dans le chromosome d'un gène *mecA*, d'origine mal connue, induit la synthèse d'une nouvelle PLP, la PLP 2a qui est capable d'assurer à elle seule l'assemblage du peptidoglycane et elle confère une résistance à toutes les β -lactamines).

La figure 06 illustre le mécanisme de résistance aux Bêta-lactamines chez les *Staphylocoques*.

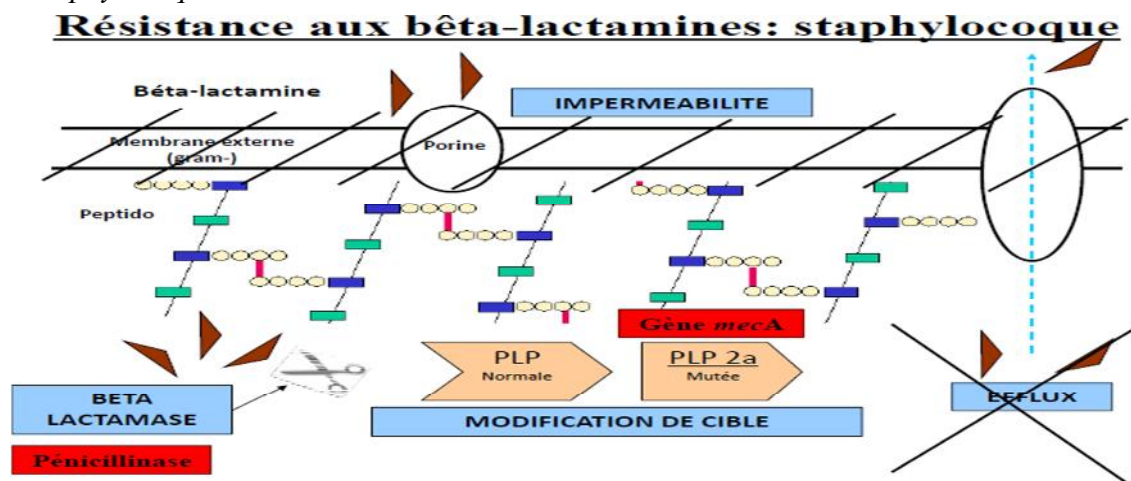


Figure 06 : Résistance aux Bêta-lactamines chez les *Staphylocoques* (MAINARDI, 2015)

4-5 Résistance aux glycopeptides

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

La sensibilité diminuée aux glycopeptides est due essentiellement à l'épaississement de la paroi. Elle résulte d'une réorganisation complexe du métabolisme du peptidoglycane. Ceci est probablement dû à des mutations dans de multiples gènes, empêchant l'accès de l'antibiotique à sa cible. Deux autres hypothèses sont décrites, le premier est l'hyperproduction de précurseurs du peptidoglycane qui agissent comme des leurres pour les glycopeptides. La seconde est due à la non dégradation des anciennes couches de peptidoglycane par les enzymes autolytiques (HIRAMATSU, 2001 ; DAUREL et LECLERQ, 2008). La figure 07 démontre le mécanisme de résistance aux Glycopeptides chez le *Staphylococcus aureus*.

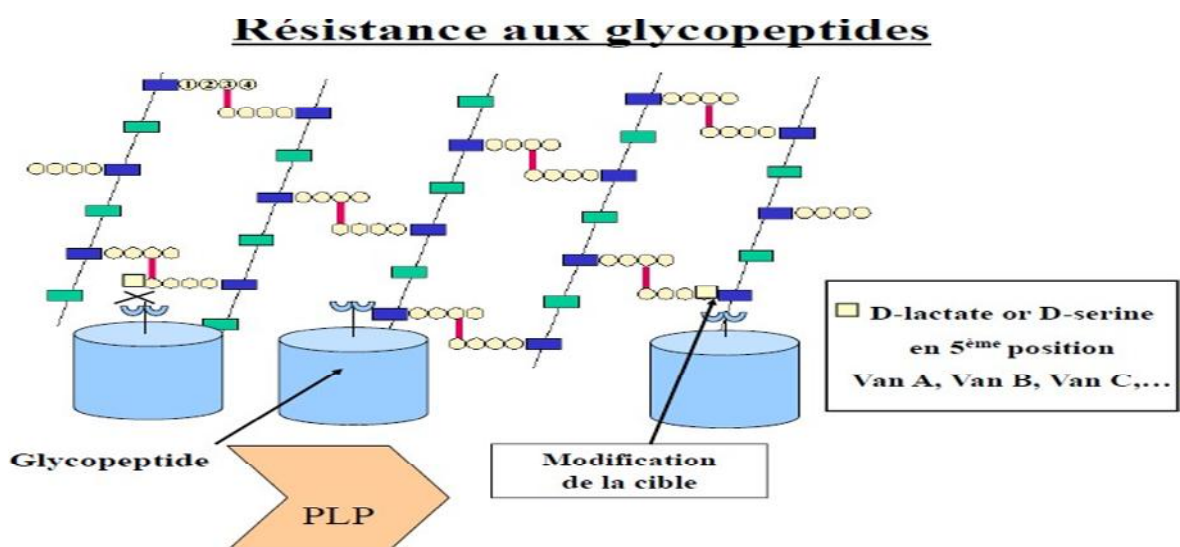


Figure 07 : Résistance au Glycopeptides chez *S.aureus* (MAINARDI, 2015)

4-6 Résistance aux aminosides

Les aminosides sont des molécules hydrophiles qui pénètrent à l'intérieur de la cellule bactérienne par transport actif (DONNIO, 2010). Une fois dans le cytoplasme, elles se fixent sur la sous-unité ribosomale 30S, inhibant ainsi la synthèse protéique (LYON et SKURRAY, 1987).

Chez *S. aureus*, la résistance aux aminoglycosides résulte de trois mécanismes différents (SCHITO, 2006). Le premier, qui consiste en des mutations affectant la sous-unité 30S du ribosome bactérien (LAMBERT, 2005), est rapporté dans la résistance de haut niveau

à la streptomycine (la CMI est de l'ordre de 10mg/ml) mais pas aux autres aminoglycosides (LYON et SKURRAY, 1987 ; DONNIO, 2010).

Le second mécanisme est caractérisé par un dysfonctionnement dans le système de transport d'électrons (transport actif) de la bactérie, ce qui réduit considérablement la quantité d'antibiotique qui pénètre à l'intérieur de la cellule. Ce type de résistance est décrit chez des mutants de *S. aureus* à colonies naines, présentant une résistance à tous les aminoglycosides (TANKOVIC *et al*, 1997 ; STRAHILEVITZ et HOOPER, 2009).

Le troisième mécanisme, le plus répandu dans la résistance aux aminoglycosides chez *S. aureus*, est dû à la présence chez ce dernier, d'enzymes capables de modifier l'antibiotique (LECLERCQ *et al*, 1999; CHANDRAKANTH *et al*, 2008).

L'antibiotique est modifié par acétylation via l'acétyltransférase, phosphorylation via la phosphotransférase et adénylation via la nucléotidyltransférase. Une fois modifié, l'affinité de l'antibiotique vis-à-vis de sa cible diminue considérablement (TANKOVIC *et al*, 1997; STRAHILEVITZ et HOOPER, 2009).

4-7 Résistance aux quinolones

Les quinolones exercent leur pouvoir bactéricide en inhibant spécifiquement la réplication de l'ADN bactérien. Pour cela, elles ciblent deux enzymes indispensables à la réplication de l'ADN chez la bactérie, à savoir, l'ADN-gyrase et la topoisomérase IV (STRAHILEVITZ et HOOPER, 2009). Les quinolones se lient à ces dernières de manière non covalente, stabilisant le complexe de clivage- ADN-enzyme. Ceci a pour effet d'inhiber le fonctionnement des deux enzymes, et d'enclencher un processus de mort cellulaire non encore élucidé (ALDRED *et al*, 2014).

Chez *S. aureus*, la résistance aux quinolones se manifeste par la mise en place de deux mécanismes. Le premier consiste en des mutations ponctuelles au niveau des gènes codant la gyrase (notamment *gyrA* et *gyrB*) (ITO *et al*, 1994), et/ou des gènes codant la topoisomérase IV (*parC* et *parE*) (PIDDOCK, 1999). Ces mutations réduisent l'affinité des enzymes aux quinolones, conférant à la bactérie une résistance de haut niveau vis-à-vis de ces molécules (KAATZ et SEO, 1997). Le second mécanisme est un système d'efflux actif expulsant l'antibiotique vers le milieu extracellulaire (BELLIDO *et al*. 1999 ; TANAKA *et al*, 2000). Il s'agit de protéines membranaires jouant le rôle de pompes détoxifiant la cellule bactérienne. (COSTA *et al*, 2013).

4-8 Résistance aux tétracyclines

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

Deux mécanismes de résistance ont été rapportés chez *S. aureus*. Le premier consiste à protéger le ribosome via des protéines codées par des gènes plasmidiques ou se trouvant dans des transposons (ROBERTS et SCHWARZ, 2009). Ces protéines se fixent sur le ribosome, induisant l'augmentation de la constante de dissociation du complexe ribosome-tétracycline. Cela a pour effet de relarguer la molécule antibiotique et de rendre le ribosome fonctionnel (SCHNAPPINGER et HILLEN, 1996 ; CONNELL *et al*, 2003).

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

4-9 Résistance aux phénicolés

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques. Ils bloquent la synthèse protéique des bactéries après leur fixation sur certaines protéines ribosomales de la sous unité 50S. Ils interagissent d'une part avec le site aminoacyl et d'autre part, ils inhibent l'action de la peptidyltransférase qui catalyse la formation de la liaison peptidique (DONNIO, 2010).

La résistance de haut niveau au chloramphénicol chez *S. aureus* est liée à la production d'un chloramphénicol acétyltransférase (*cat*) codée par un gène *cat* localisé sur un plasmide. Par ailleurs, les mécanismes d'efflux multiples (MDR) comme *norA* peuvent entraîner une augmentation des CMI des phénicolés vis-à-vis de *S. aureus* (DONNIO, 2010).

4-10- Résistance aux MLS

Les MLS représentent trois classes d'antibiotiques complètement différents au niveau de leur structure. Cependant, elles ont un mode d'action similaire. Les MLS se fixent sur la sous- unité 50S du ribosome bactérien, inhibant ainsi l'étape de translocation lors de la traduction. Elles peuvent donc être sujettes aux mêmes mécanismes de résistance (DONNIO, 2010). Le principal mécanisme de résistance décrit chez *S.aureus* est la modification de la cible ribosomale par méthylation (CHAMBERS, 2009; STRAHILEVITZ et HOOPER, 2009).

Les souches résistantes produisent une méthylase qui va agir sur une adénine de l'ARN_r 23S, causant un changement de conformation de ce dernier. Ce mécanisme aura pour effet de diminuer considérablement l'affinité de l'antibiotique vis-à-vis de sa cible, conférant ainsi une résistance croisée aux trois classes (TANKOVIC *et al*, 1997).

L'inactivation de l'antibiotique par voie enzymatique est un autre mécanisme de résistance aux MLS. Chez *S.aureus*, ce type de mécanisme est surtout décrit dans la résistance aux lincosamides et aux streptogramines. Dans le premier cas, il s'agit d'une nucléotidylation par une nucléotidyltransférase, et dans le deuxième cas, c'est une acétylation par une acétyltransférase (STRAHILEVITZ et HOOPER, 2009).

Enfin, la résistance aux MLS peut être due à un mécanisme d'efflux actif qui expulse les molécules d'antibiotiques à l'extérieur de la cellule. Ce mécanisme est décrit pour les macrolides et les streptogramines (TANKOVIC *et al*, 1997).

4-11-Autres résistances

- La résistance aux sulfamides est de nature chromosomique, liée à une hyperproduction d'acide para-amino-benzoïque.
- La résistance à la rifampicine est liée à la sélection de mutants résistants au niveau de la sous-unité bêta de l'ARN polymérase ADN dépendant.
- La résistance à la fosfomycine est due à la sélection de mutants au niveau du système de transport de la molécule dans la bactérie (gènes *glgT* et *uhp*).
- La résistance à l'acide fusidique est secondaire soit à la sélection de mutants résistants au niveau du facteur d'élongation intervenant dans la synthèse protéique soit à une modification de la perméabilité d'origine plasmidique (LECLERCQ, 2002).

La figure 08 illustre les différents mécanismes de résistance liés au mode d'action des antibiotiques.

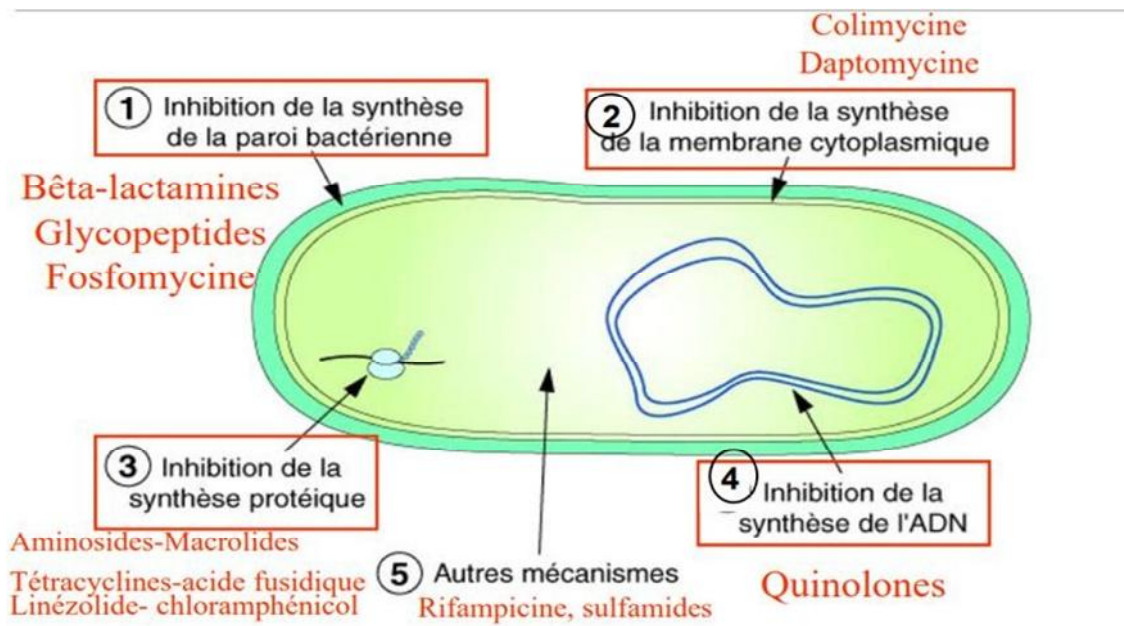


Figure 8 : Mécanisme de résistance lié au mode d'action des antibiotiques(MAINARDI, 2015)

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre I

Matériels et méthodes

1- Objectifs de l'étude

L'objectif principal de notre étude consiste à isoler différentes souches de *S. aureus* à partir de prélèvements nasaux effectués chez le poulet de chair. Ceci, permet donc d'étudier la prévalence de ce germe chez cet animal et d'évaluer par la suite la sensibilité des souches de *S. aureus* isolées vis-à-vis de différentes familles d'antibiotiques;et par conséquent,mettre en évidence le risque sanitaire associé à la présence de souches multi-résistantes (SARM) chez ces animaux de rente.

2- Matériels

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

2-1-Matériels biologiques

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

3-Milieus de culture et réactifs

- Bouillon Mueller-Hinton (CondaPronadisa, Espagne)
- Bouillon BHIB (CondaPronadisa, Espagne)
- Gélose Baird Parker (CondaPronadisa, Espagne)
- Gélose à ADN (CondaPronadisa, Espagne)
- Gélose BHI (CondaPronadisa, Espagne)

- Gélose Muller-Hinton (CondaPronadisa, Espagne)
- HCL à 2N
- Eau physiologique à 0,9 %.
- Téllurite de potassium (Institut Pasteur d'Alger)
- Emulsion de jaune d'œuf
- Agar bactériologique (CondaPronadisa, Espagne)
- Plasma de lapin (Bio-Rad, France)
- Glycérol (BiochemChemopharma, France)
- Peroxyde d'hydrogène(H₂O₂)
- Eau distillée stérile
- Disques d'antibiotique (Liofilchem, Italy)

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

4-Méthodes

4-1- Lieu et durée de l'étude

L'étude a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou durant la période qui s'écoule entre le mois de Février et le mois de Septembre 2020.

4-2-Collecte des échantillons

La collecte des échantillons a été réalisée au niveau de deux abattoirs différents situés dans la commune de Tizi-Ouzou. Au totale 149 échantillons ont été prélevés. Les échantillons ont été collectés la matinée lors de l'abattage, chaque tête a été mise dans un sachet en plastique, puis acheminée au laboratoire dans une glacière empilée de pochettes de glace.

Ces échantillons sont identifiés par un code contenant des lettres indiquant leurs origines et le numéro de l'échantillon.

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

Tableau 02 : Nature et nombre de prélèvements

Prélèvement	Abattoir	Origines des échantillons	Taille de l'élevage	Age des échantillons	Nombre des échantillons
Premier	Houamdi (commune de DBK)	Oued Fali	1200	47 jours	20
		Sidi Naamane	1000	55 jours	10
		Bejaia	1200	50 jours	10
		Akerrou	600	48 jours	10
		Maâtkas	1000	49 jours	10
Deuxième	Chernai (commune Sidi Naamane)	Mekla	1200	57 jours	10
		Makouda	1200	58 jours	10
		Ouagenoun	1200	50 jours	10
		Tigzirt	1000	52 jours	10
		Yakourene	1000	48 jours	10
Troisième	Houamdi (commune de DBK)	Sidi Naamane	2300	45 jours	10
		Mizrana	500	60 jours	10
		Beni Douala	1000	54 jours	19

5-Analyse des échantillons au laboratoire

5-1- Écouvillonnage et enrichissement

L'écouvillonnage de la partie nasale a été effectué dans des conditions aseptiques entre deux bacs bunsen en introduisant un coton-tige stérile dans la cavité nasale du poulet. Nous avons effectué de légers mouvements rotatifs en frottant délicatement leurs parois nasales, dans le but de recueillir un maximum de sécrétions nasales. Nous avons ensuite mis le coton-

tige dans un tube à essai contenant un milieu d'enrichissement, Mueller Hinton additionné de 6.5% de NaCl. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 à 48h.



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

5-2- Isolement de *S. aureus*

A l'aide d'une micropipette, un volume de 0.1 ml de chaque bouillon Mueller-Hinton ayant un trouble est déposé aseptiquement en surface sur la gélose Baird Parker (BP) additionnée de jaune d'œuf et de tellurites de potassium. L'inoculum est étalé grâce à un râteau stérile. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48heures.

5-3- Purification des isolats

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

5-4- Identification biochimique

En plus des caractères morphologiques (caractères macroscopiques des colonies), l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques : catalase, coagulase, et ADNase

5-4-1- Mise en évidence de la catalase

Une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est déposée à la surface d'une lame en verre. Une colonie provenant d'une boîte de BHI contenant une souche suspecte est prélevée et

déposée à côté de la goutte d' H₂O₂. Puis, la lame est inclinée de manière à ce que la goutte rentre en contact avec la colonie. La souche est dite catalase+ si des bulles de gaz (O₂) apparaissent dans la goutte d' H₂O₂ (effervescence)

5-4-2- Test d'ADNase

A partir d'une culture pure, nous avons ensemencé la gélose à ADN avec la souche à tester (sous forme d'une strie). Nous avons inclus un témoin positif *S. aureus* ATCC 25923. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Après incubation, les boîtes ont été inondées avec du HCl à 2N. Après 2 à 3 minutes de contact, l'excès de HCl a été éliminé. Les souches ADNase (+) sont entourées d'une zone claire autour de la strie.

5-4-3- Test de la coagulase

Après avoir repiqué la souche pure dans du Bouillon BHIB (BrainHeart Infusion Broth) et incubé à 37°C pendant 24 heures ; un volume de 0.5 ml de cette culture est mis dans un tube à hémolyse contenant un volume égale de plasma de lapin. Ces tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 1 heure à 4 heures. La réaction de la coagulase est considérée comme positive s'il y'aura formation d'un coagulum (prise en masse).

5-5-Antibiorésistance des souches isolées

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

❖ Technique de l'antibiogramme

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

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

L'ensemencement des boîtes de Pétri contenant la gélose MH est effectué par la méthode d'écouvillonnage.

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

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

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

Tableau 03 :Listes des molécules d'antibiotiques testés.

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

5-6- Conservation des souches

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

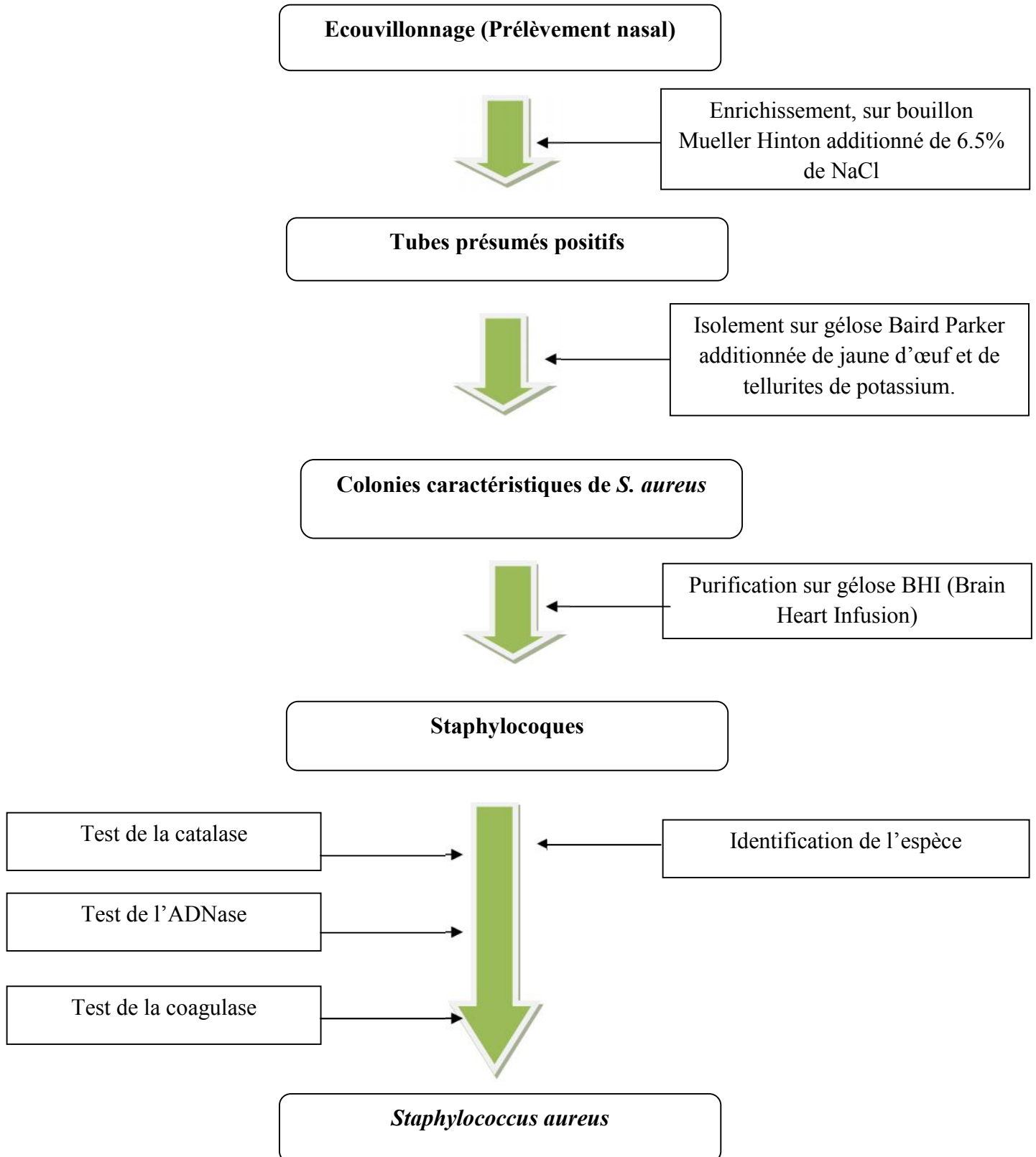


Figure 09: Diagramme montrant les différentes étapes d'identification de *S. aureus*

Chapitre II

Résultats et discussion

1- Résultats

1-1-Prévalence de *S. aureus*

Durant cette étude, 149 échantillons de poulet de chair ont été prélevés au niveau de deux abattoirs situés dans la Wilaya de Tizi-Ouzou. Après l'enrichissement sur le bouillon Muller-Hinton additionné de NaCl à 6.5%, 101 prélèvements se sont révélés positifs.

L'isolement sur la gélose sélective de Baird-Parker, nous a permis d'avoir 54 colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus*. Ces dernières ont été soumises à des tests biochimiques, ce qui a permis de confirmer 18 souches de *Staphylococcus aureus*.

La fréquence d'isolement de *S. aureus* est de 8.05%. Celle-ci est variable selon la région de l'étude (Tableau 4).

Tableau 04: Prévalence de *S. aureus* et nombre de souches isolées selon la région

Origine Des prélèvements	Nombre de Prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Prévalence de <i>S. aureus</i> (%)	Nombre de <i>S. aureus</i> isolées
Oued Fali	20	0	0	0
Sidi Naamane	10	0	0	0
Bejaia	10	0	0	0
Akerrou	10	0	0	0
Maâtkas	10	0	0	0
Makouda	10	6	60	4
Ouagenoun	10	0	0	0
Tigzirt	10	0	0	0
Yakourene	10	0	0	0
Sidi Naamane	10	0	0	0
Mizrana	10	0	0	0
Beni Douala	19	6	31.57	14
Mekla	10	0	0	0
Total	149	12	8.05	18

1-2- Antibiorésistance des souches isolées

Les résultats obtenus ont montré la présence de résistances, avec des proportions variables selon les familles d'antibiotiques étudiées. En effet, un taux élevé de résistance à la pénicilline, à l'érythromycine, à l'Ofloxacin et à la tétracycline ont été observées, avec des fréquences de 88.88%, 77.77%, 77.77% et 66.66%, respectivement. En outre, une faible résistance a été enregistrée pour la néomycine, avec un pourcentage de 11.11 %.

Aucune résistance n'a été observée pour la gentamycine, la céfoxitine, le chloramphénicol et le triméthoprime/sulfaméthoxazole (Tableau 5).

Tableau 05: Résistance des souches de *S. aureus* aux antibiotiques testés (n=18).

Antibiotiques	Nombre (%) de souches de <i>S. aureus</i>		
	Résistantes	Intermédiaires	Sensibles
P	16 (88.88)	0 (0)	2 (11.12)
FOX	0 (0)	0 (0)	18 (100)
TE	12 (66.66)	4 (22.22)	2 (11.12)
C	0(0)	0 (0)	18 (100)
SXT	0 (0)	0 (0)	18 (100)
E	14 (77.77)	0 (0)	4 (22.23)
CN	0 (0)	0 (0)	18 (100)
N	2 (11.11)	0 (0)	16 (88.89)
OFX	14 (77.77)	0 (0)	4 (22.23)

P : pénicilline, **FOX** : céfoxitine, **TE** : tétracycline, **C** : chloramphénicol, **STX** : triméthoprime/sulfaméthoxazole, **E** : érythromycine, **CN** : gentamicine, **N** : néomycine, **OFX** : ofloxacin.

Quatorze souches (77.77%) présentent des multi-résistances et 2 phénotypes de multi-résistance ont été observés. Le phénotype le plus observé est celui de P-TE-E-OFX. Les phénotypes de multi-résistance sont résumés dans le tableau 07.

Tableau 06 : Phénotypes de multi-résistances

Phénotype de multi-résistance	Nombre de souches
P-TE-E-OFX	12
P-E-OFX	02
Total	14

Dans cette étude, aucune souche n'est résistante à la méticilline, toutes les souches sont des *S. aureus* sensibles à la méticilline (SASM)

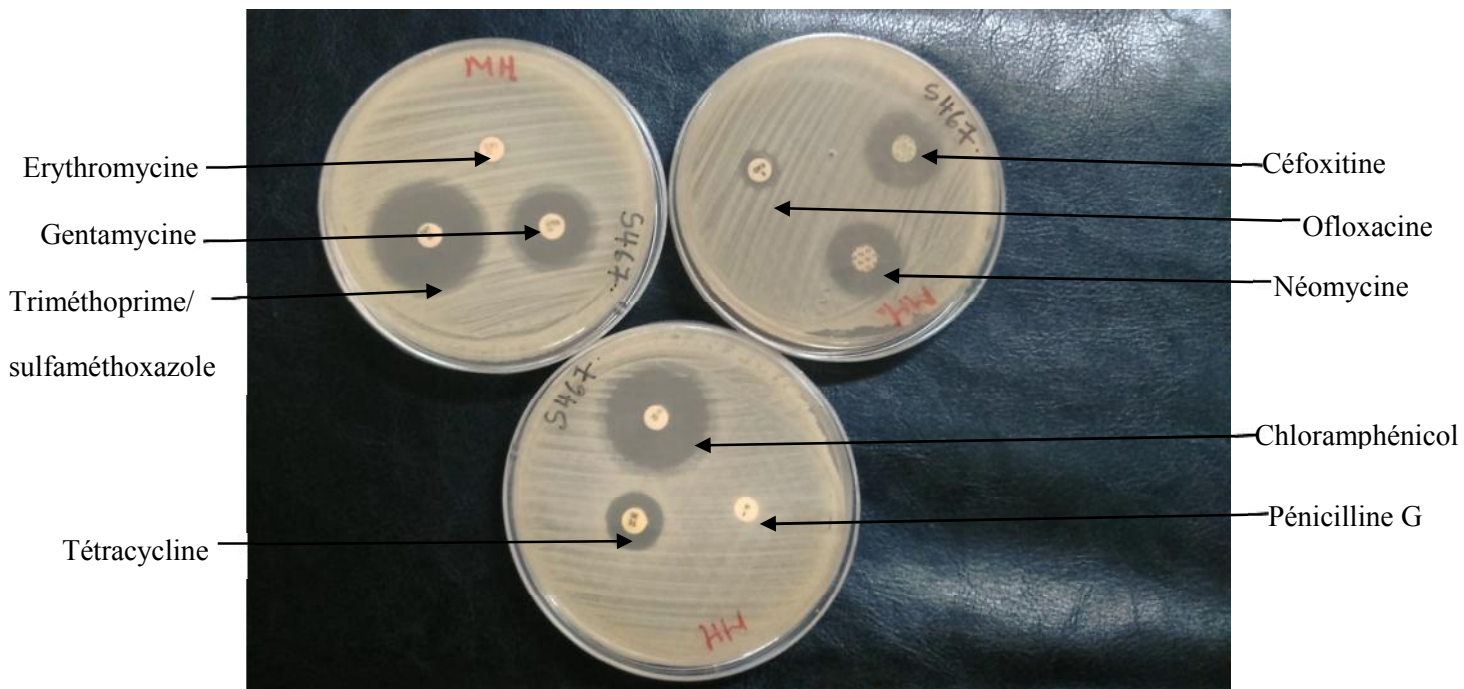


Figure 10 : Profil de résistance d'une souche SARM (Photo personnelle prise au laboratoire)

2- Discussion

Les résultats de notre étude montrent que la prévalence de *S. aureus* dans nos prélèvements est faible, qui est de l'ordre de 8.05%, sur un total de 149 échantillons du poulet de chair. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par NEELA et al(2013), qui ont enregistré une très faible prévalence de *S.aureus* chez le poulet, qui est de 1.4% (n=7 sur 503 prélèvements nasaux) en Malaisie. En revanche, HAENNI et al (2011) ont annoncé un taux de contaminations du poulet de chair de 44% en Corée. KOREGHLI et SMAIL (2019) ont rapporté une prévalence légèrement supérieure (11.37%) à celle observée dans notre étude. La même fréquence d'isolement de *S. aureus* a été annoncée par BOUNAR-KECHIH et al (2018), qui est de l'ordre de 12%. Tandis que, une autre étude réalisée en Algérie a montré une forte prévalence de *S. aureus* dans le poulet de chair (BENRABIA et al, 2020).

Toutes les souches isolées dans notre étude étaient des SARM, ce qui écarte le risque associé à la présence des SARM. En revanche, des taux variables de SARM chez le poulet de chair ont été enregistrées (BOUNAR-KECHIH et al, 2018 ; KOREGHLI et SMAIL, 2019 ; BENRABIA et al, 2020).

Staphylococcus aureus est un pathogène contagieux opportuniste qui provoque des infections cliniques ou infra cliniques chez l'homme et l'animal, et c'est une cause importante

de maladies d'origine alimentaire dans le monde. En Algérie, une forte prévalence de *S. aureus* et de SARM multi-résistants est régulièrement retrouvée chez les patients admis dans les établissements de santé (REBIAHI *et al*, 2011 ; OUIDRI, 2018 ; ANTRI *et al*, 2018).

Durant notre étude, nous avons enregistré des taux de résistance très élevés vis-à-vis de la pénicilline G (88.88%), de l'érythromycine (77.77%), de l'ofloxacine (77.77%) et de la tétracycline (66.66%). Nos résultats concordent avec ceux présentés par YEASMEEN *et al*, (2017), qui ont annoncé un taux de résistance de 83.33%, 86.67% et 93.33% vis-à-vis de la tétracycline, l'érythromycine et de la pénicilline G, respectivement, concernant des souches isolées de la volaille. Un résultat similaire au notre est observé par BENRABIA *et al*, (2020) qui ont annoncés une résistance de 73.7% pour l'érythromycine et 85% pour la tétracycline. De fortes résistances vis-à-vis de la pénicilline (92%), de la tétracycline (74%) et de l'érythromycine (45%) ont été rapportées par BOUNAR-KECHIH *et al* (2018), concernant des souches de *S. aureus* isolées du portage nasal chez le poulet de chair dans le nord Algérien.

L'augmentation de la résistance n'est que le résultat de l'utilisation des antibiotiques. Chez la volaille, la pénicilline, la tétracycline et l'érythromycine sont des antimicrobiens largement utilisés pour le traitement des infections à staphylocoques, c'est la raison pour laquelle le taux de résistance contre ces trois antibiotiques est élevée (TANNER, 2000 ; WHITE *et al*, 2003).

Quant à l'ofloxacine, notre résultat est élevé (77.77%). Des valeurs relativement élevées ont été enregistrées par SULEIMAN *et al* (2013), qui ont signalé une résistance de l'ordre de 57.4%.

Nous n'avons enregistré aucune résistance vis-à-vis de la céfoxitine, du chloramphénicol, du triméthoprim/sulfaméthoxazole et de la gentamicine, ces antibiotiques ont gardé de bonnes activités à l'encontre de nos souches isolées. Par contre, nous avons observé une faible résistance vis-à-vis de la néomycine (11.11%), ce résultat concorde avec celui annoncé par NEMATI *et al* (2008), qui ont signalé une faible résistance de l'ordre 17.3% à l'encontre de la néomycine. Un autre résultat plus faible de l'ordre de 3% a été obtenu par BOUNAR- KECHIH *et al* (2018).

L'étude de la sensibilité de nos souches à la céfoxitine nous a permis d'observer une absence totale de résistance vis-à-vis de cette molécule. Ces souches sont donc considérées comme des SASM (100%).Un résultat similaire a été observé par de NEELA *et al* (2013).

Des taux semblables ont été annoncés par JOCELYN BERNIER-LACHANCE (2015), qui n'a détecté aucun SARM dans les 400 écouvillons nasaux et caecaux prélevés sur 200 poulets de chair échantillonnés dans deux abattoirs représentant 38 exploitations, ce qui donne une prévalence estimée de 0% de poulets positifs pour chaque type d'échantillon.

En revanche, de nombreuses études réalisées à travers plusieurs pays ont enregistré des prévalences variables de SARM. En effet, BOUNAR-KECHIH *et al* (2018) ont annoncé des fréquences relativement élevées chez le poulet de chair et la poule pondeuse, qui sont de l'ordre de 53% et 57%, respectivement. BENRABIA *et al* (2020) ont rapporté un taux de 27.5%. D'autres fréquences d'isolement de SARM ont été rapportées en Egypte et en Bangladesh, qui sont de l'ordre de 42.5% et 50% (BAKEET *et DARWISH*, 2014; YEASMEEN *et al*, 2017).

La détection de SARM chez la volaille dans les abattoirs peut constituer un risque pour la santé humaine, non seulement pour le consommateur, mais aussi pour le professionnels (vétérinaires, éleveurs, boucher,...etc.) (CHAIRAT *et al*, 2015). En effet, plusieurs travaux ont rapporté que le contact étroit et répété avec ces animaux constitue un facteur de risque d'acquisition du SARM (EL OUAHABI *et al*, 2016).

Conclusion

Conclusion

Il est devenu clair que la résistance aux antibiotiques est l'une des menaces les plus graves pour l'utilisation continue des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire. Les maladies causées par les bactéries multi-résistantes sont désormais vus au quotidien, et certains agents pathogènes ont acquis une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques. L'acquisition des gènes de résistance par le transfert horizontal, la chaîne alimentaire ainsi que le potentiel zoonotique de certains agents pathogènes comme *S.aureus* constituent des enjeux majeurs pour la filière avicole.

Durant cette étude, des souches de *S. aureus* ont été isolées à partir de poulet de chair (n=18) avec une prévalence de 8.05 %. L'étude de la résistance des isolats aux antibiotiques montre de fortes résistances vis-à-vis de la pénicilline G, de la tétracycline, de l'érythromycine et de l'ofloxacine. En revanche aucune souche SARM n'a été détectée, toutes les souches identifiées sont donc qualifiées de SASM (100%).

Les résultats de cette étude montrent bien le risque sanitaire associé à la présence de *S. aureus* chez le poulet de chair, ce qui témoigne de la nécessité d'une bonne application des mesures de biosécurité et d'un bon usage des antibiotiques.

Néanmoins, les résultats obtenus au cours de notre étude sont limités et doivent être complétés par :

- Elargissement de la zone de l'étude en incluant plus d'élevages
- Inclure des prélèvements chez les éleveurs et les professionnels pour étudier le potentiel de transmission Homme-Animal et Animal-Homme.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **ALDRED, K.J., KERNS, R.J. ET OSHEROFF N. (2014).** «Mechanism of Quinolone Action and Resistance », *Biochemistry*, 53, 1565-1574.
- **ALI, Y., ISLAM, M.A., MUZAHID, N.H., SIKDER, M.O.F., AMZAD HOSSAIN, M.A., MARZAN, L.W. (2017).** Characterization, prevalence and antibiogram study of *Staphylococcus aureus* in poultry. *Asian Pac J Trop Biomed*, 7 (3): 253–256.
- **ALY R., LEVIT S. (1987).** Adherence of *Staphylococcus aureus* to squamous epithelium: role of fibronectin and teichoic acid. *Rev. Infect. Dis.* 9,341-350.
- **ANANTHANARAYAN, PANIKER. (2006).** Textbook of Microbiology. *Edition Seventh*, India. 665pages.
- **ANTRI, K.; AKKOU, M.; BOUCHIAT, C.; BES, M.; MARTINS-SIMÕES, P.; DAUWALDER, O.; TRISTAN, A.; MEUGNIER, H.; RASIGADE, J.P.; ETIENNE, J.; ET AL (2018).** High levels of *Staphylococcus aureus* and MRSA carriage in healthy population of Algiers revealed by additional enrichment and multisite screening. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 37, 1521–1529.
- **APPELBAUM PC (2006).**MRSA the tip of the iceberg. *Clin Microbiol Infect.* 12: 3-10.
- **AVRIL JL, DABARNET H, DENIS F, ONTEIL H. (1992).** *Bactériologie clinique. 2ème édition. Ellipses, Paris. 9-31.*
- **AVRIL, J.L., DABERNAT, H., DENIS, F. et MONTEIL, H. (2000).** « Les cocci à gram positif », In «Bactériologie Clinique », *Ellipses*,Paris.

B

- **BAKEET, A.A.M., DARWISH, S.F. 2014.**Phenotypic and genotypic detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in broiler chickens. *Assiut Vet. Med. J*
- **BALABAN N., RASOOLY A. (2000).** Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 61,1–10.
- **BELLIDO, J.L.M., MANZANARES, M.A.A., ANDRES, J.A.M., ZUFIAURRE,**

- M.N.G., ORTIZ, G., HERNANDEZ, M.S. ET RODRIGUEZ, J.A.G. (1999). «Efflux Pump-Mediated Quinolone Resistance in *Staphylococcus aureus* Strains Wild Type for *gyrA*, *gyrB*, *griA*, and *norA* », *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,43 (2), 354-356
- BENDAHOU A., ABID M., BOUTELDOUN N., CATELEJINE D., LEBBADI M. (2009). Enterotoxigenic coagulase positive *Staphylococcus* in milk and milk products, lben and jben, in northern Morocco. *J. Infect. Developing Countries* 3(3),169-176.
 - BENRABIA, I ., HAMDI, T., SHEHATA, A., NEUBAUER, H., WARETH G. (2020) Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)in Poultry Species in Algeria: Long-Term Study on Prevalence and Antimicrobial Resistance
 - BILJANA M.S., DINIC M., ORLOVIC J. et BABIC T (2015). «*Staphylococcus aureus*: immunopathogenesis and human immunity». *Acta Facultatis Medical Naissensis*, 32(4), 243-257.
 - BOISSET, S. et VANDENESCH, F. (2010). « Les Facteurs de Virulence Autres que les Entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc, Paris*.
 - BOUNAR-KECHIH, S., TAHA HAMDI, M., AGGAD, H., MEGUENNI, N., CANTEKIN, Z. (2018).Carriage Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Poultry and Cattle in Northern Algeria. *Veterinary Medicine International*, ID 4636121, 5 pages.

e

- CARLE, S. (2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel. Supplément 2*
- CASTRO, A., SANTOS, C., MEIRELES, H., SILVA, J., TEIXEIRA, P. (2016). Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *Journal of Infection and Public Health*, 9, 153-160.
- CATTOIR, V. (2012) Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue francophone des laboratoires, édition Masson SAS. France*.
- CAVALLO J.D., FABRER., JEHLF ., RAPPCC .et GARRABEE. (2004). « Bétalactamines: Beta-lactam antibiotics ». *Edition ELSEVIER SAS*, 1, 129-202.
- CHAMBERS, H.F.(2009).« Antimicrobial Resistance and Therapy of *Staphylococcus*

aureus Infection », in : «*Staphylococcus aureus* : Molecular and Clinical Aspect », Horwood Publishing, Chichester

- **CHARLIER, C., MONTEL, M, C., BEUVIER, E., LE LOIR, Y. (2010).** « Les Entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc*, Paris.
- **CHAVAKIS T., WIECHMANN K., PREISSNER K.T. et HERRMANN M. (2005).** «*Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: The role of bacterial “secretable expanded repertoire adhesive molecules” (SERAM) in disturbing host defense systems». *Thrombosis and Haemostasis*, **94**, 278–285
- **CHOPRA, I. ET ROBERTS, M. (2001).** « Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance », *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **65** (2), 232-260.
- **CLARKE, S.R. ET DYKE, K.G. (2001).** «The signal transducer (BlaRI) and the repressor (BlaI) of the *Staphylococcus aureus* β -lactamase operon are inducible», *Microbiology*, **147**, 803-810.
- **CONNELL, S.R., TRACZ, D.M., NIERHAUS, K.H. ET TAYLOR, D.E. (2003).** «Ribosomal Protection Proteins and Their Mechanism of Tetracycline Resistance», *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **47** (12), 3675–3681.
- **COSTA, S.S., VIVEIROS, M., MARALL. ET COUTO I. (2013).** « Multidrug Efflux Pumps in *Staphylococcus aureus*: an Update », *The Open Microbiology Journal*, **7**, 59-71.
- **COUTURE B. (1990).** Bactériologie médicale «Etude et méthodes d’identification des bactéries aérobies et facultatives d’intérêt médical». *Vigot, Paris*. 15-32.

D

- **DAUREL C. et LECLERQ R. (2008).** «L’antibiogramme de *Staphylococcus aureus*». *Elsevier Masson SAS*, N°407.
- **DE BOER, E., et al, (2009)** Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *International Journal of Food Microbiology*, **134**(1-2): p. 52-6.
- **DEBORAH, J.Z., CHARLES, W.S., DOUGLAS, S.K. (1992).** « Characterization of Four β Lactamases Produced by *Staphylococcus aureus*», *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **36** (02), 440-445.
- **DELARRAS C. (2007).** « Microbiologie pratique pour le laboratoire d’analyses ou de contrôle sanitaire ». *Tec et Doc, Lavoisier. Paris*.

- **DELBÈS, C. (2010)** « Habitat », in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc, Paris*.
- **DI GIANNATALE E., VINCENZA P., ALFREDA T., CRISTINA M., GIACOMO M. (2011)**. Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food for human consumption. *Veterinria Italiana*, 47(2), 165-173.
- **DINGES M.M., ORWIN P.M., SCHLIEVERT P.M. (2000)**. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13, 16–34.
- **DONIO, P, Y. (2010)**. Sensibilité de la bactérie aux agents bactériostatiques ou bactéricides. In. *Staphylococcus aureus. Le Loir, Y., Gautier, M. Tec & Doc, Lavoisier. France.* p 112-133

Ε

- **ENRIGHT, M.C., et WITT, W. (2009)**. « Epidemiology of MRSA and MSSA », in: « *Staphylococcus aureus: Molecular and Clinical Aspect* », *Horwood Publishing, Chichester*

Ζ

- **FARNANDEZ L.G. et TURNER M.C. (2017)**.«The chronicles of incision management: clinical insights, perspectives, and treatment approaches». *Duke University Medical Center and University of Texas Medical Center. Volume 1*.
- **FASQUELLE R. (1974)**. Eléments de bactériologie médicale. 9^{ème} édition. *Flammarion, Paris.* 27-36.
- **FAUCHERE JL AND AVRIL JL (2002)**. Bactériologie générale et médicale. *ellipses, Paris.* 213-217.
- **FAYE K. (2005)**. Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques: impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. *Masson, Paris.* 7,45-52.
- **FERRON A. (1984)**. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} édition. *CROUAN et ROQUES, Paris.* 87-94.
- **FLANDROIS J.P. (1997)**. Bacteriologie médicale. *Presse Universitaire de Lyon.* pp108-109.
- **FREEMAN-COOK, L., ET FREEMAN-COOK, K. (2006)**. « *Staphylococcus aureus Infections* », *Chelsea House Publishers, Philadelphia*

- **FRENEY J., KLOOS W., HAJEK V., WEBSTER J., BES M., BRUN Y., VERNOZY ROZAND C. (1999).** *Recommended minimal standers for description of new Staphylococcal species. International Journal of Systematic Bacteriology* 49,489-502

G

- **GAUDY, C., BUXERAUD, J. (2005).** Antibiotiques : Pharmacologie et thérapeutique. *Collection Pharma. Masson. Paris.*
- **GENESTIER A.L., MICHALLET M.C., PREVOST G., BELLOT G., CHALABREYSSE C., PEYROL S., THIVOLET F., ETIENNE J., LINA G., VALLETTE F.M., VANDENESCH F. et GENESTIER L. (2005).** « Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines », in «*Staphylococcus aureus*», *Tec et Doc*, Paris.
- **GRUNDMANN H, AIRES DE SOUSA M, BOYCE J, TIEMERSMA E (2006).** Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*. 368: 874–885.
- **GUILFOILE, P.G. (2007).** Antibiotic-resistant bacteria. *Chelsea house.*
- **GUILLOT, J. (1989).** Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *pp.* 3–16.
- **GUIRAUD JP., ROSEC JP, (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. *Edition AFNOR, Paris. pp 168-178.*

H

- **HILL, L.R. (1981).** *Taxonomy of the staphylococci. Aberdeen University Press.*
- **HIRAMATSU, K. (2001).** «Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a New Model of Antibiotic Resistance », *The Lancet Infectious Diseases*, 147-155.
- **HIRON A. (2007).** Les transporteurs de peptides de *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat en Microbiologie. *Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech).Paris.*
- **HSU, L.Y., TRISTAN, A., KOH, T.H. (2005).** Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Singapore. Emerg Infect Dis*, 11:341-342.
- **HU, D.L., ET NAKANE, A. (2013).** «Mechanisms of Staphylococcal Enterotoxin-Induced Emesis », *European Journal of Pharmacology.*

9

- **ITO, H., YOSHIDA, H., SHONAI, M.B., NIGA, T., HAYTORI, H., ET NAKAMURA, S. (1994).** « Quinolone Resistance Mutations in the DNA Gyrase *gyrA* and *gyrB* Genes of *Staphylococcus aureus*», *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38 (9), 2014-20

9

- **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.
- **JIN T., BOKAREWA M., MCINTYRE L., TARKOWSKI A, COREY G.R., RELLER L.B. FOWLER V.G. (2003).** Fatal outcome of bacteraemic patients caused by infection with staphylokinase- deficient *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Medical Microbiology* 52, 919– 923

2

- **KAATZ, G.W., et SEO, S.M. (1997).** « Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance in Genetically Related Strains of *Staphylococcus aureus*», *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41 (12), 2733-273
- **KAPRAL F.A., SMITH H., LAL D. (1992).** The esterification of fatty acids by *Staphylococcus aureus* fatty acid modifying enzyme (FAME) and its inhibition by glycerides. *J. Med Microbiol* 37,235-237.
- **KARTHIK SAMBANTHAMOORTHY. (2007).** Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation. The University of Southern Mississippi. *Edition UMI Microform USA. Pp20-24.*
- **KLUYTMANS, J, A, J, W. (2010).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency?. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 16, 11-15.
- **KLUYTMANS, J., VAN BELKUM, A., VERBRUGH, H. (1997).** «Nasal Carriage

of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks», *Clinical Microbiology Reviews*, 10 (3), 505-520.

- **KOREGHILI, I, et SAMAIL, C, (2019)** " portage de *S aureus* chez le poulet de chair et la dinde, caractérisation phénotypique des isolats "



- **LAMBERT, P.A. (2005)**. «Bacterial Resistance to Antibiotics: Modified Target Sites», *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1471-1485.
- **LE LOIR, Y., GAUTIER, M. (2010)**. Monographie de la microbiologie: *Staphylococcus aureus. TEC et DOC. Lavoisier, Paris. France.*
- **LE MINOR L. AND VERON M. (1990)**. Bactériologie médicale «*Staphylococcus et Micrococcus*». *J. Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773- 794.*
- **LE MINOR L. et VERON M. (1982)**. «Bactériologie Médicale», *1ère édition, Flammarion, Paris.*
- **LECLERC, H., GAILLARD, J, L., SIMONET, M. (1995)**. Microbiologie générale. *Ed, DOIN. Paris.*
- **LECLERQR.(2002)**.«Résistancedes*Staphylocoques*auxantibiotiques». *Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, 21, 375-383.*
- **LEE L.Y., MIYAMOTO Y.J., MCINTYRE B.W., HOOK M., MCCREA K.W., MCDEVITTD.et BROWNE.L. (2002)**. «The *Staphylococcus aureus* map protein is an immunomodulator that interferes with T cell-mediated responses». *Journal of Clinical Investigation, 110, 1461–1471.*
- **LE LOIR Y., BARONF. ET GAUTIER M. (2003)**.«*Staphylococcus aureus* and food poisoning ». *Genetic and Molecular Research, 2, 63-76.*
- **LOWY, F.D. (1998)**. «*Staphylococcus aureus* infections», *N Engl J Med, 339 (8), 520, 532.*
- **LOWY, F.D. (2003)**. «Antimicrobial Resistance: the Example of *Staphylococcus aureus*», *the Journal of Clinical investigation, 111 (9), 1265-1273.*

- **LOZNIIEWSKI, A., RABAUD, C. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins .*CCLIN Sud-Est*.
- **LYON, B., ET SKURRAY, R. (1987).** « Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus*: Genetic basis ». *American Society for Microbiology*, 51 (1), 88-134.

M

- **MACIAS, E.S., PEREIRA, F.A., RIETKERK, W., SAFAI, B. (2011).** «Superantigens in Dermatology », *J Am AcadDermatol*, 64 (3), 455-472.
- **MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. (2000).** In Brock biology of microorganismes, *prentice Hall Saddle River, NJ, USA.Ninth Edition*, pp.
- **MAINARDI J.L. (2015).** « Mécanisme d'action et de résistance aux antibiotiques/ session interactive autour de l'antibiogramme». *Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service deMicrobiologie, Hôpital Européen Georges POMPIDOU et Faculté de Médecine Paris RenéDESCARTES*.
- **MILES, G., JAYASINGHE, L., BAYLEY, H. (2006).** Assembly of the Bi-component leukocidin pore examined by truncation mutagenesis. *J BiolChem*, 281(4)9 : 2205-14.
- **M. HAENNI, P. CHATRE, S. BOISSET et al., (2011)** “Staphylococcal nasal carriage in calves: Multiresistant *Staphylococcus sciuri* and immune evasion cluster (IEC) genes in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ST398,” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 66, no. 8, Article ID dkr196, pp. 1927-1928.

N

- **NAUCIEL, C. et VILDÉ, J.L. (2005).** «Bactériologie Médicale », 2^e édition, *Masson, Paris*.
- **NEELA, V., GHAZNAVI-RAD, E., GHASEMZADEH- MOGHADDAM, H., NOR SHAMSUDIN, M., BELKUM, A., KARUNANIDHI, A. (2013).** Frequency of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the noses of Malaysian chicken farmers, and their chicken. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University*, 14: 226-231.
- **Nemati, M., Hermans, K., Lipinska, U., Denis, O., Deplano, A., Struelens, M. (2008).** Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates

from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrob Agents Chemother*, 52 (10): 3817-3819.

O

- **ONICIUC, E. A., NICOLAU, A.I., HERNANDEZ, M., RODRIGUEZ-LAZARO. (2017).** Presence of methicillin *Staphylococcus aureus* in the food chain. *Trends in Food Science & Technology*. 61, 49-59.
- **OTTER JA AND FRENCH GL (2010).** Molecular epidemiology of community associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infect Dis*. 10: 227-239
- **OIDRI, M.A. (2018)** Screening of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during admission of patients to Frantz Fanon Hospital, Blida, Algeria. *New Microbes Neaw. Infect.*, 23, 52–60

P

- **PANCHOLI, V. (2002).** « Staphylococcal Extracellular/ Surface Enzymatic Activity », in « *Staphylococcus aureus* Infection and Disease » , *Kluwer Academic Publishers, New York*.
- **PELLERIN, J.L., GAUTIER, M., et LE LOIR, Y. (2010).** « Identification de l'Espèce au Sein du Genre », in « *Staphylococcus aureus* ». *Tec et Doc, Paris*.
- **PETINKI E. et SPILLIOPOULOU. (2012).** « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food chain animals: impacts of human contacts ». *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18, 626-634.
- **PIDDOCK, L.J.V. (1999).** « Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance: An Update 1994-1998 ». *Drugs*, 58, 11-18.
- **PLATA, K., ROSATO, A.E., WEGRZYN, G. (2009).** « *Staphylococcus aureus* as an Infectious Agent: Overview of Biochemistry and Molecular Genetics of its Pathogenicity », *Acta Biochimica Polonica*, (4), 597-612.
- **PRESCOTT J.F., BAGGOT J.D., WALKER R.D.** Antimicrobial drug resistance and its epidemiology. In: Iowa State University Press. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 3rd edition. pp 27-49.

- **PRÉVOST G. (2004)** .Toxins in *Staphylococcus aureus* pathogenesis. Proft (Ed.), Microbial toxins: molecular and cellular biology, *Horizon Bioscience*,243-284

R

- **REBIAHI, S.A.; ABDELOUAHID, D.E.; RAHMOUN, M.; ABDELALI, S.; AZZAOU, H (2011)**,.Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). *Med. Mal. Infect.* 41, 646–651.
- **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*.
- **ROBERTS, M. C. ET SCHWARZ, S. (2009)**. «Tetracycline and Chloramphenicol Resistance Mechanisms», in «Antimicrobial Drug Resistance: Mechanisms of Drug Resistance», *Humana Press, New York*.

S

- **SCHITO, G.C. (2006)**. « The Importance of the Development of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus* ». *Clin Microbiol Infect*, 12, 03-08
- **SCHLEIFER, K.H., et BELL, J.A. (2009)**. « *Staphylococcaceae*», in: « Bergy's Manual Of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: the Firmicutes », *Springer, New York*.
- **SCHLIEVERT, P.M. (2010)**. «Les facteurs de virulence autres que les entérotoxines», in « *Staphylococcus aureus* », *Tec et Doc, Paris*
- **SCHNAPPINGER, D., HILLEN, W. (1996)**. «Tetracyclines: Antibiotic Action, Uptake, and Resistance Mechanisms ». *Arch Microbiol*, 165, 359-369.
- **SCHWARZ S., CHASLUS-DANCLA E. (2001)**. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *J. Vet. Res.* 32,201-25.
- **SMELTZER, M.S., LEE, C.Y., HARIK, N., HART, M.E. (2009)**. «Molecular Basis of Pathogenicity», in «Staphylococci in Human Disease», *Wiley-BlackWell, Singapore*.

- **STEPHEN H.G., HAWKEY M.P. (2006).** Principles and practice of clinical bacteriology - 2^{ème} édition. Birmingham, John Wiley and Sons. pp73-86.
- **STEPHEN, H., GILLESPIE, P.M. (2006).** Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2^{ème} édition. Wiley Office England, pp. 586.
- **STRAHILEVITZ, J., et HOOPER, D.C. (2009).** « Resistance to Other Agents », in «Staphylococci in Human Disease », Wiley-BlackWell, Singapore.
- **SULEIMAN, A., ZARIA, LT., GREMA, HA., AND AHMADU, P. (2013)** «Antimicrobial resistant coagulase positive *Staphylococcus aureus* from chickens in Maiduguri, Nigeria ». *Sokoto Journal of Veterinary Sciences, Volume 11 (Number 1).*
- **SUTRA L., POUTREL B. (1994).**Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* 40, 79- 89.

7

- **TALLY, F.P. (1993).** «Les Staphylocoques: Abscesses et Autres Maladies», in «Microbiologies et Pathologies Infectieuses», DeBoeck, Paris.
- **TANKOVIC, J., DAMON, H, A., LECLERCQ, R. (1997).** «Résistance aux Antibiotiques Autres que les β -lactamines chez *Staphylococcus aureus*». *Méd Mal Infect*, 27, 207-21

U

- **VIEU G.(2014).**«Diversité génétique des isolats de *S.aureus* producteur de toxine de panton valentine isolés au CHU de Toulouse ». *Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Toulouse III, PAUL SABATIER ,France.*
- **VINCENOT, F., SALEH, M., PREVOST, G. (2008).**Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*, 407:61-69.
- **VISCIANO, P., POMILIO, F., TOFALO, R., SACCHINI, L., SALETTI, M, A., TIERI, E., SCHIRONE, M., SUZZI, G. (2014).**Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cow farms. *Food Control.* 46,532-538.

3

- **ZHANG S., IANDOLO J.J., STEWART G.C. (1998)** . The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* second enterotoxin determinant (*sej*). *FEMS Microbiol.Lett.*168, 227-233.
- **ZHU, X.Y., WU, C.C., HESTER, P.Y., (2001)**. Systemic distribution of *Staphylococcus aureus* following intradermal footpad challenge of broilers. *Poult. Sci.* 80, 145–150.

Annexes

Annexes 01: Milieux de culture utilisés et leur composition

❖ **Gélose de Baird-Parker**

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

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

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

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

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

Désinfecter l'œuf en le plongeant dans une solution d'éthanol à 70% pendant 30s, puis en les laissant sécher à l'air libre ou réaliser un flambage.

Aseptiquement, casser chaque œuf et séparer le blanc du jaune par transferts répétés de demi-coquille à l'autre.

Recueillir les jaunes d'œufs dans un récipient stérile et compléter avec quatre fois leur volume d'eau distillée stérile. Homogénéiser vigoureusement.

Chauffer le mélange à 47°C pendant 2h.

Entreposer à 3°C ± 2°C pendant 18 à 24h, le temps nécessaire pour la formation d'un précipité.

Recueillir stérilement dans un flacon le surnageant constituant l'émulsion (Durée de conservation est au maximum 72h à 3°C ± 2°C).

• **Composition du milieu complet**

Milieu de base (Baird- Parker).....	100ml
Solution de téllurite de potassium.....	1 ml

Émulsion de jaune d'œuf.....5ml

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

Composition en g/l

Peptone pancréatique de gélatine.....10

Chlorure de sodium.....5

Phosphate disodique.....2.5

Glucose.....2

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

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

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

❖ **Gélose à ADN**

Composition en g/l

Peptone de viande.....20

Acide désoxyribonucléique.....02

Chlorure de sodium.....05

Agar.....18

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

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

❖ **Milieu Mueller Hinton**

Composition en g/l

Amidon.....1.5

Infusion de bœuf.....2.0

Agar bactériologique.....17.0

Peptone de caséine acide.....17.5

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

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

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

	Catalase	Coagulase	ADNase	Code
C1SN9	(+)	(-)	(+)	/
C3SN10	(+)	(-)	(+)	/
C5SN10	(+)	(-)	(+)	/
C1OF4	(-)	(-)	(+)	/
C2OF5	(+)	(-)	(+)	/
C1OF7	(-)	(-)	(+)	/
C2OF7	(-)	(-)	(+)	/
C1OF9	(+)	(-)	(+)	/
C3OF9	(-)	(-)	(+)	/
C1OF10	(-)	(-)	(+)	/
C2OF10	(-)	(-)	(+)	/
C1OF5	(-)	(-)	(+)	/
C2OF4	(-)	(-)	(-)	/
C1SN5	(-)	(-)	(+)	/
C1SN3	(-)	(-)	(+)	/
C4SN10	(-)	(-)	(-)	/

C1SN10	(-)	(-)	(-)	/
C2OF9	(-)	(-)	(-)	/
C1OG5	(-)	(-)	(-)	/
C1OG10	()	(-)	(+)	/
C1MKD3	(+)	(+)	(+)	S465
C2MKD3	(+)	(-)	(+)	/
C1MKD4	(+)	(-)	(+)	/
C2MKD4	(-)	(-)	(+)	/
C1MKD6	(+)	(-)	(+)	/
C2MKD6	(+)	(-)	(-)	/
C1MKD7	(+)	(-)	(-)	/
C2MKD7	(+)	(-)	(-)	/
C1MKD8	(+)	(+)	(+)	S454
C2MKD8	(+)	(-)	(-)	/
C3MKD8	(+)	(+)	(+)	S453
C1MKD9	(-)	(-)	(-)	/
C2MKD9	(+)	(+)	(+)	S449
C1BD11	(+)	(+)	(+)	S472
C2BD11	(+)	(+)	(+)	S471
C3BD11	(+)	(+)	(+)	S470
C4BD11	(+)	(+)	(+)	S478
C1BD13	(-)	(-)	(+)	/
C2BD13	(+)	(+)	(+)	S479
C3BD13	(+)	(+)	(+)	S480
C1BD14	(+)	(+)	(+)	S476
C2BD14	(+)	(+)	(+)	S475

C3BD14	(+)	(+)	(+)	S473
C4BD14	(+)	(+)	(+)	S469
C1BD16	(+)	(+)	(+)	S467
C2BD16	(+)	(+)	(+)	S474
C3BD16	(+)	(+)	(+)	S468
C1BD17	(+)	(+)	(-)	/
C3BD17	NT	(-)	(+)	/
C4BD17	NT	(-)	(-)	/
C1BD18	(+)	(+)	(+)	S477
C2BD18	(+)	(-)	(-)	/
C3BD18	(+)	(-)	(-)	/
C4BD18	(-)	(-)	(-)	/

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

C, colonie ; SN, SidiNaamane ; OF, OuedFali ; OG, Ouagenoun ; MKD, Makouda ;

BD, Beni douala.

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

Famille	Antibiotique	Diamètre critique			Références
		Sensible	Intermédiaire	Résistant	
β-lactamines	Pénicilline G	≥ 29	-	< 28	CLSI 2018
	Céfoxitine	≥ 22	-	< 21	CLSI 2018
Aminoglycosides	Gentamycine	≥ 15	13-14	≤ 12	CLSI 2018
	Néomycine	≥ 17	-	< 15	CASFM 2018
Macrolides	Erythromycine	≥ 21	-	< 18	CLSI 2018

Tétracyclines	Tétracycline	≥ 19	15-18	≤ 14	CLSI 2018
Quinolones	Ofloxacine	≥ 18	15-17	≤ 14	CLSI 2018
Phénicol	Chloramphénicol	≥ 18	13-17	≤ 12	CLSI 2018
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	≥ 16	11-15	≤ 10	CLSI 2018


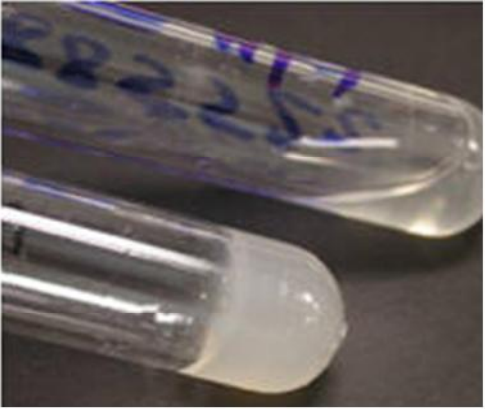


Annexe 04 : Résultats détaillés de l'antibiogramme pour chaque souche de *S. aureus* isolée

Souches	FOX	N	OFX	C	TE	P	E	CN	SXT
C1MKD3	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C1MKD8	S	R	S	S	I	R	I	S	S
C3MKD8	S	R	S	S	I	R	S	S	S
C2MKD9	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C1BD11	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C2BD11	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C3BD11	S	S	R	S	I	R	R	S	S
C4BD11	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C2BD13	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C3BD13	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C1BD14	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C2BD14	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C3BD14	S	S	R	S	I	R	R	S	S
C4BD14	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C1BD16	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C2BD16	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C3BD16	S	S	R	S	R	R	R	S	S
C1BD18	S	S	R	S	R	R	R	S	S

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

Souches	FOX	N	OFX	C	TE	P	E	CN	SXT
C1MKD3	29	18	32	30	31	40	30	20	29
C1MKD8	28	11	27	25	16	14	22	20	27
C3MKD8	31	12	29	26	16	16	26	18	28
C2MKD9	29	19	27	26	28	35	23	20	28
C1BD11	26	19	8	26	13	6	6	22	30
C2BD11	30	18	8	26	14	12	6	19	27
C3BD11	29	20	10	28	16	16	6	24	30
C4BD11	28	21	7	28	13	6	6	22	31
C2BD13	26	17	06	24	12	06	06	19	21
C3BD13	26	18	06	24	13	06	06	19	24
C1BD14	28	20	08	25	13	13	06	20	28
C2BD14	28	19	10	25	13	06	06	22	28
C3BD14	28	20	10	26	15	13	06	20	29
C4BD14	30	18	08	24	14	11	06	21	30
C1BD16	28	18	09	26	14	06	06	22	30
C2BD16	28	18	09	24	12	06	06	20	25
C3BD16	30	18	09	25	13	10	06	20	27
C1BD18	30	20	08	25	13	13	06	21	30

Annexe 06 : Tests biochimiques utilisés pour l'identification de *S. aureus*

	
<p>Colonies de <i>S. aureus</i> sur milieu BHI</p>	<p>Test de la coagulase</p>
	
<p>Test de la catalase</p>	<p>Test de l'ADNase</p>