

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**



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

***Mémoire :***

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
Spécialité : Microbiologie Appliquée

**Prévalence et antibiorésistance de  
*Staphylococcus aureus* dans la viande hachée et  
les pâtisseries commercialisées dans la ville de  
Tizi-Ouzou**

**Présenté par :**

- *RAMDANI Idir*
- *MENANA Koceila*

**Soutenu le 06/07/2017 devant le jury :**

- Président : *Mr AMROUCHE. T.*, MCA à l'UMMTO
- Encadreur : *Mr TITOUCHE. Y.*, MAA à l'UMMTO
- Examinatrice : *M<sup>elle</sup> ASMANI. K.*, MCB à l'UMMTO
- Examinatrice : *M<sup>elle</sup> DERMECHE. S.*, MAA à l'UMMTO

*Promotion : 2016/2017*

## ***Remerciements***

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à :

Monsieur TITOUCHE YACINE, maitre-assistant à l'université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou, qui nous a guidé tout au long de ce travail, pour ces conseils précieux, son assistance morale et physique, son dévouement pour le savoir et sa transmission.

Monsieur AMROUCHE, maitre de conférences à l'université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

M<sup>elle</sup> ASMANI et M<sup>elle</sup> DERMECHE, maitres-assistantes à l'université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes parents et grands-parents, qui ont tout sacrifié pour nous.*

*Mes deux frères, Yugurten et Aghilas*

*A ma fiancée Katia*

*A tous mes amis, surtout Koceila et Amokrane*

**Idir.**

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes parents, qui ont tout sacrifié pour nous.*

*Mes deux frères, Lounes et Amazigh*

*A tous mes amis, surtout Idir et Amokrane.*

**Koceila.**

## Table des matières

Liste des abréviations.....	I
Liste des tableaux et figures .....	II
Introduction .....	1
Synthèse bibliographique .....	3
Chapitre I : Généralités .....	3
1. Historique.....	3
2. Taxonomie.....	3
3. Habitat et épidémiologie .....	4
4. Caractères bactériologiques .....	5
4.1. Caractères morphologiques.....	5
4.2. Caractères cultureux.....	5
4.3. Caractères biochimiques.....	6
Chapitre II : Facteurs de virulence .....	7
1. Les composants de la paroi.....	7
1.1. Le peptidoglycane.....	7
1.2. Les acides téichoïques .....	7
1.3. Capsule .....	7
2. Les protéines de surface.....	7
2.1. Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules.....	7
2.2. Secretable expanded repertoire adhesive molecules .....	8
2.3. La protéine A .....	8
3. Les protéines extracellulaires .....	8
3.1. Les enzymes staphylococciques.....	8
3.1.1. La coagulase libre .....	8
3.1.2. La catalase .....	9
3.1.3. Les protéases.....	9
3.1.4. Les staphylokinases (fibrinolysines).....	9
3.1.5. L'hyaluronidase .....	9
3.1.6. Les lipases .....	10
3.2. Les toxines staphylococciques .....	10
3.2.1. Les hémolysines .....	10
3.2.2. La leucocidine de Pantou et Valentin (PLV) .....	11
3.2.3. L'exfoliatine (ou épidermolysine).....	11
3.2.4. Les entérotoxines.....	11

3.2.5. Superantigène .....	12
<b>Chapitre III : Résistance aux antibiotiques chez <i>S. aureus</i></b> .....	<b>15</b>
1. Résistance aux $\beta$ -lactamines .....	15
1.1. Production de $\beta$ -lactamases .....	15
1.2. Production de PLP modifiée.....	15
2. Résistance aux glycopeptides.....	16
3. Résistance aux aminoglycosides .....	16
4. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) .....	17
5. Résistance aux tétracyclines .....	17
6. Résistance aux quinolones .....	18
7. Résistance aux rifamycines.....	18
8. Résistance aux sulfamides .....	18
9. Transfert horizontal des gènes de résistance .....	19
<b>Partie expérimentale</b> .....	<b>20</b>
<b>Chapitre I : Matériels et méthodes</b> .....	<b>20</b>
1. Matériels.....	20
2. Milieux de culture et réactifs .....	20
3. Méthode.....	20
3.1. Collecte des échantillons .....	20
3.2. Analyse des échantillons .....	21
3.2.1. Préparation de la suspension mère.....	21
3.2.2. Isolement des souches suspectes de <i>S. aureus</i> .....	21
3.2.3. Identification de <i>S. aureus</i> .....	22
3.2.3.1. Coloration de Gram.....	22
3.2.3.2. Mise en évidence de la catalase.....	22
3.2.3.3. Mise en évidence de l'ADNase .....	22
3.2.3.4. Production d'acétoïne et de nitrate réductase .....	23
3.2.3.5. Mise en évidence de la coagulase.....	23
3.3. Antibiorésistance .....	23
3.4. Analyse statistique.....	24
<b>Chapitre II : résultats et discussion</b> .....	<b>26</b>
1. Résultats .....	26
1.1. Prévalence de <i>S. aureus</i> .....	26
1.2. Antibiorésistance .....	26
2. Discussion .....	28

<b>Conclusion</b> .....	31
<b>Bibliographie</b> .....	i
<b>Annexes</b> .....	x

## Liste des abréviations

<b>APC</b>	Antigen presenting cell
<b>Bap</b>	Biofilm associated proteins
<b>BHI</b>	Brain Heart Infusion
<b>BHIB</b>	Brain Heart Infusion Broth
<b>BP</b>	Baird-Parker
<b>CASFM</b>	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
<b>CIF</b>	Clumping factors
<b>CLSI</b>	Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>CMH</b>	Complexe majeur d'histocompatibilité
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>Cna</b>	Collagen binding protein
<b>DHPS</b>	Dihydroptéroate synthase
<b>Eap</b>	Extracellular adherence protein
<b>Efb</b>	Extracellular fibrinogen binding protein
<b>Emp</b>	Extracellular matrix binding protein
<b>Fbp</b>	Fibronectin binding protein
<b>Ig</b>	Immunoglobuline
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharide
<b>MH</b>	Muller-Hinton
<b>MLS</b>	Macrolides, lincosamides et Streptogamine
<b>MSCRAMM</b>	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
<b>MSSA</b>	<i>S. aureus</i> sensible à la méticilline
<b>NR</b>	Nitrate Réductase
<b>PABA</b>	Acide para-nitrobenzoïque
<b>PLP</b>	Protéine liant les pénicillines
<b>PLV</b>	Leucocidine de Pantou et Valentin
<b>SARM</b>	<i>S. aureus</i> résistante à la méticilline
<b>SARV</b>	<i>S. aureus</i> résistante à la vancomycine
<b>SCT</b>	Syndrome du choc toxique
<b>SE</b>	Staphylococcal enterotoxin
<b>SEI</b>	Staphylococcal enterotoxin-like toxin
<b>SERAM</b>	Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules
<b>TIA</b>	Toxiinfection alimentaire
<b>TSST</b>	Toxic Shock Syndrome Toxin
<b>VISA</b>	Vancomycine intermediate <i>S. aureus</i>
<b>VP</b>	Voges Proskauer
<b>VRE</b>	Entérocoque résistants à la vancomycine
<b>VWf</b>	Facteurs de Von Willebrand

## Liste des tableaux et figures

<b>Tableau I</b> : caractères biochimiques de <i>S. aureus</i> .....	<b>6</b>
<b>Tableau II</b> : caractéristiques des SE et SEI .....	<b>12</b>
<b>Tableau III</b> : facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> .....	<b>14</b>
<b>Tableau IV</b> : liste des antibiotiques testés .....	<b>24</b>
<b>Tableau V</b> : prévalence des souches de <i>S. aureus</i> par produit.....	<b>25</b>
<b>Tableau VI</b> : prévalence des souches de <i>S. aureus</i> isolées des pâtisseries par origine.....	<b>25</b>
<b>Tableau VII</b> : résistance des souches de <i>S. aureus</i> (n=33) aux antibiotiques testés.....	<b>26</b>
<b>Tableau VIII</b> : profil d'antibiorésistance des souches de <i>S. aureus</i> isolées .....	<b>26</b>
<b>Figure 01</b> : prévalence de <i>S. aureus</i> dans les différentes parties du corps humain .....	<b>4</b>
<b>Figure 02</b> : observation de <i>S. aureus</i> sous microscope électronique à balayage au Gx34000 .....	<b>5</b>
<b>Figure 03</b> : observation de <i>S. aureus</i> après coloration de Gram sous microscope optique au Gx1500 .....	<b>5</b>
<b>Figure 04</b> : mécanisme d'action des superantigènes de <i>S. aureus</i> .....	<b>13</b>
<b>Figure 05</b> : facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> et leur cinétique de production au cours du développement de l'infection .....	<b>13</b>
<b>Figure 06</b> : préparation des solutions mères .....	<b>21</b>
<b>Figure 07</b> : schéma récapitulatif de la méthode suivie .....	<b>24</b>
<b>Figure 08</b> : Profil de résistance de la souche (S139) .....	<b>27</b>

## Introduction

*Staphylococcus aureus* est un habitant naturel de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud, qui constituent ses principaux réservoirs. Dans la plupart des cas, cette bactérie cohabite sans problème avec son hôte. Cependant, dès que les défenses de ce dernier faiblissent (plaie, immunodéficience), elle passe du stade de commensale à celui de pathogène extrêmement virulent (SHINEFIELD et RUFF, 2009). Elle peut causer différentes maladies, allant du simple furoncle à la septicémie, passant par la pneumonie, l'endocardite, la toxiinfection alimentaire ou l'ostéomyélite (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

Cette faculté à infecter aussi bien les os, le cœur, les intestins ou les poumons, est due à la production d'un nombre important de facteurs de virulence. Ces derniers sont impliqués dans l'adhésion aux muqueuses, l'invasion des tissus et l'échappement au système immunitaire (MARTIN *et al.*, 2014). Il peut s'agir des composants de la paroi (acides lipotéichoïques, peptidoglycane), des adhésines (clumping factor), des exopolysaccharides (microcapsule), des exotoxines (entérotoxines, leucocidine de Pantan-Valentine) ou encore des enzymes comme les sérines-protéases (SMELTZER *et al.*, 2009).

Avant 1941, le taux de mortalité associé à une bactériémie à *S. aureus* était supérieur à 80% (SKINNER et KEEFER, 1941), mais l'introduction de la pénicilline a nettement amélioré le pronostic des malades (LIGON, 2004). Quelques années plus tard, une souche de *S. aureus* productrice de pénicillinases a été décrite par KIRBY (1944). Vers la fin des années 1940, les souches résistantes à la pénicilline étaient plus abondantes que les souches sensibles dans les hôpitaux (BARBER et ROZWADOWSKA-DOWZENKO, 1948). Depuis, la découverte de nouvelles molécules antibiotiques précède toujours celle de nouvelles souches de *S. aureus* résistantes à ces molécules. Cette observation témoigne de l'extraordinaire capacité d'adaptation de cette bactérie (SHINEFIELD et RUFF, 2009). Ces souches résistantes sont d'abord limitées aux hôpitaux puis passent à la communauté, colonisant l'homme et son environnement (CHAMBERS, 2001).

L'industrialisation des pratiques d'élevage en Europe et aux Etats Unis a engendré une utilisation disproportionnée des antibiotiques. En effet, ces derniers ne sont plus prescrits pour guérir, mais pour prévenir toute infection ou maladie chez l'animal. Cette pratique a exercé une pression de sélection des souches multirésistantes d'origine animale qui ont émergé dans les fermes (CUNY *et al.*, 2010). Ces souches sont ensuite transmises vers l'homme via contact direct ou après ingestion des aliments à base de matière première d'origine animale (VANDERHAEGHEN *et al.*, 2010). A titre d'exemple ST398, une souche d'origine animale qui a été rapportée dans la littérature, a causé 20% des cas d'infections à *S. aureus* résistant à la méticilline chez l'homme aux pays bas (VAN LOO *et al.*, 2007). En Algérie, les études de prévalence des souches multirésistantes sont surtout focalisées sur les structures hospitalières. Cependant, AKKOU *et al.* (2016) ont rapporté la présence de *S. aureus* multirésistant dans les mammites bovines et les ouvriers impliqués dans la traite, et CHAALAL *et al.* (2014 ; 2016) dans la viande et le lait cru respectivement.

Aujourd'hui, les infections à *S. aureus* présentent un défi économique aux pays. Aux Etats Unis, les toxiinfections alimentaires (TIA) à *S. aureus* coûtent 176 millions de dollars par année (BYRD-BREDBENNER *et al.*, 2013). En 2005, les autres maladies causées par cette bactérie

(bactériémies, pneumonies, ostéomyélite, endocardites, septicémies) coûtent la bagatelle de 9.7 milliards de dollars par année (KLEIN *et al.*, 2007) : 9 000 dollars par patient pour les souches de *S. aureus* sensibles à la méticilline (MSSA), et 45 000 dollars par patient pour les souches résistantes à la méticilline (MRSA) (MCHUGH et RILEY, 2004). 90% de ce coût sont attribués à la prise en charge du patient à l'hôpital et la gestion des décès (RUBIN *et al.*, 1999). Autant dire que l'efficacité d'intervention, incluant la disponibilité du bon traitement, peut faire économiser beaucoup d'argent aux États, ou même sauver des vies. Pour atteindre cet objectif, une surveillance permanente de l'évolution des souches communautaires et hospitalières (notamment leur résistance aux antibiotiques) est requise (GOULD, 2006).

Le présent travail s'inscrit dans cette démarche de veille, dans le but de fournir un support répondant à deux questions principales. La première concerne la fréquence de présence de *S. aureus* dans la viande hachée et les pâtisseries à crème fraîche. La seconde traite le profil d'antibiorésistance des souches isolées. Le choix de ces deux denrées est motivé par leur importance dans la dissémination de *S. aureus* d'une part, et l'absence de données relative à ce sujet dans la ville de Tizi-Ouzou d'autre part.

Pour répondre à ces deux questions, le présent travail est divisé en deux parties. La première est une synthèse bibliographique qui permet de cerner les principales caractéristiques de *S. aureus*. La seconde partie décrit la méthodologie suivie pour mener à bien notre étude, les résultats obtenus et la discussion de ces résultats. En fin, nous avons terminé par une conclusion.

## Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Généralités

#### 1. Historique

Les micrococci ont été observés et décrits pour la première fois par Robert Koch en 1878 puis par Louis Pasteur en 1880, dans le pus d'un furoncle (SOMERVILLE et PROCTOR, 2009). La même année, Alexander Ogston les décrit comme étant l'agent causal majeur des abcès post opératoires lors du neuvième congrès de chirurgie de Berlin (OGSTON, 1984). En 1882, il leur donna, pour la première fois, le nom de *Staphylococcus* en raison de leur agencement en grappe de raisin. En 1884, le chirurgien allemand Anton Rosenbach réussit à les cultiver in vitro et isola deux souches de staphylocoques qu'il nomma *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus albus* (qu'on connaît sous le nom de *S. épidermidis*) par rapport à leur pigmentation sur milieu de culture ; la première avait une pigmentation dorée et l'autre était blanche (KENT *et al.*, 2009). En 1903, Loeb découvrit la staphylocoagulase qui va devenir un critère majeur de l'identification des staphylocoques dorés (PETER *et al.*, 2010). En 1914, Barber découvre qu'une toxine produite par *Staphylococcus* est responsable des intoxications alimentaires à staphylocoques (BHUNIA, 2008).

En 1941, un patient guérit d'une septicémie à *S. aureus* grâce à la pénicilline, découverte en 1928 par Alexander Fleming. En 1944, la première souche de *S. aureus* résistante à la pénicilline fut isolée par KIRBY. En 1961 c'est au Royaume Uni qu'une souche résistante à la méticilline (SARM) a été isolée, soit une année seulement après la découverte de cet antibiotique (PELLERIN *et al.* 2010). En 1952, un spécialiste en chimie organique des laboratoires Eli Lilly & Compagny, le Dr Kornfield et son équipe isolèrent la vancomycine de *Streptomyces orientalis* aujourd'hui rebaptisée *Amycolatopsis orientalis* (LEVIN, 2006). Cet antibiotique c'est avéré très efficace pour le traitement des infections à *S. aureus* (BHATTACHARJEE, 2016). Cependant, en 1996, la première souche de *S. aureus* résistant à la vancomycine (SARV) fut isolée au Japon (HIRAMATSU, 2001). En 2015, LING *et al.* ont découvert un antibiotique baptisé teixobactin, actif vis-à-vis des SARV. Récemment QIN *et al.* (2017) ont découvert une nouvelle molécule, la formicamycine ; Un polypeptide qui s'avère être très efficace contre les *S. aureus* multi-résistants, y compris les SARM et les SARV. OKANO *et al.* (2017), réussissent à modifier chimiquement la vancomycine pour en faire un antibiotique très efficace contre les SARV.

#### 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*, à savoir, ce sont des cocci à Gram+, non sporulés, non capsulés, immobiles, formant des amas irréguliers et produisant une catalase. 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). En plus, l'analyse de la composition chimique de la paroi montre que celle de *Staphylococcus* est caractérisée par la présence de ponts pentaglycines dans le peptidoglycane, ce qu'on ne trouve pas chez les *Micrococcus* (DE BUYSER et SUTRAT, 2005).

Avec l'avènement de la biologie moléculaire et les techniques de séquençage, l'analyse de la composition en (G+C) % du génome des deux genres (30-39% pour *Staphylococcus* et 63-73% pour *Micrococcus*) et la comparaison des séquences de l'ARN<sub>r</sub> 16S ont confirmé la

nécessité de séparer ces deux genres dans deux familles différentes, ce qui s'est réalisé dans la deuxième édition du Bergy's Manual of Systematic Bacteriology (PRESCOTT *et al*, 2002).

Selon SCHLEIFER et BELL (2009), le genre *Staphylococcus* est classé comme suit :

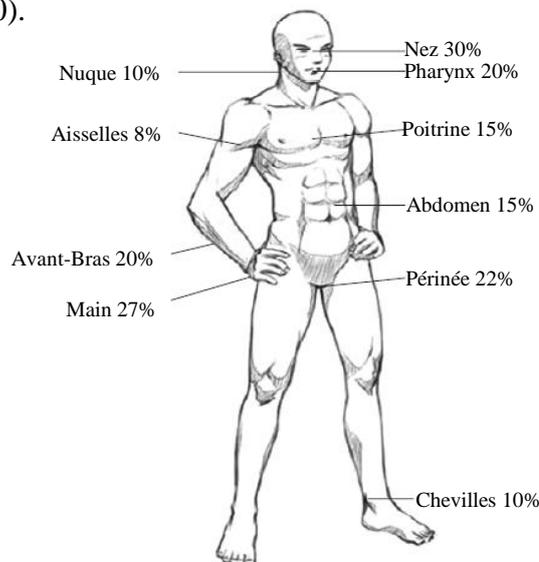
Domaine : ..... Bacteria  
 Embranchement : ..... Eubacteria  
 Phylum : ..... Firmicutes  
 Classe : ..... Bacilli  
 Ordre : ..... Bacillales  
 Famille : ..... Staphylococcaceae  
 Genre : ..... *Staphylococcus*

Espèces : *S. aureus*, *S. arlettae*, *S. auricularis*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. carnosus*, *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. condimenti*, *S. delphini*, *S. epidermidis*, *S. equorum*, *S. felis*, *S. fleurettii*, *S. gallinarum*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. kloosii*, *S. lentus*, *S. lugdunensis*, *S. lutrae*, *S. muscae*, *S. pasteurii*, *S. piscifermentans*, *S. pulvereri*, *S. saccharolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. schleiferi*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. succinus*, *S. vitulinus*, *S. xylosus*, *S. warneri*.

Parmi ces espèces, *S. aureus*, sans doute la plus connue et la plus communément liée aux pathologies de l'homme, compte deux sous-espèces à savoir *S. aureus* subsp *aureus* et *S. aureus* subsp *anaerobius*. La première, constituant la majorité des souches appartenant à cette espèce, est catalase positive, tandis que la deuxième est catalase négative (PELLERIN *et al.*, 2010).

### 3. Habitat et épidémiologie

*S. aureus* est un germe ubiquitaire et cosmopolite. Il est présent dans tous les continents et colonise divers milieux. On le trouve dans l'air, l'eau, le sol, les aliments et différentes surfaces. Cependant, le réservoir principal de ce germe est l'Homme et les animaux à sang chaud (DELBÈS, 2010).



**Figure 01** : Prévalence de *S. aureus* dans les différentes parties du corps humain (VERBRUGH, 2009).

*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 de *S. aureus* est essentiellement interhumaine par contact direct, ou via les aliments et les surfaces, après contamination. 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).

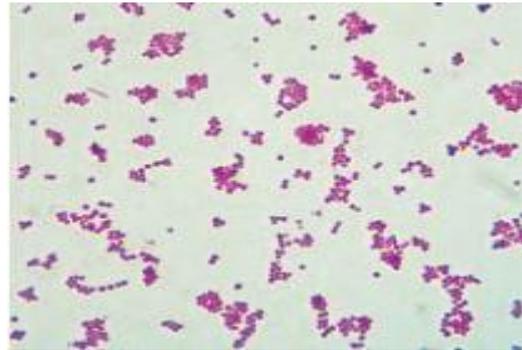
#### 4. Caractères bactériologiques

##### 4.1. Caractères morphologiques

*S. aureus* est un cocci à Gram + de 0,5 à 1,0µm de diamètre, agencé en amas irréguliers sous forme de grappe de raisin en culture sur milieu solide, et en diplocoques ou isolé en culture sur milieu liquide (DE BUYSER et SUTRAT, 2005). C'est un germe immobile, non sporulé et non capsulé (sauf pour une souche rare appelée souche Smith). Néanmoins, la plupart des souches synthétisent des exo-polysaccharides formant une microcapsule, non visible sous microscope optique après coloration à l'encre de chine (LE MINOR et VERON, 1982).



**Figure 02 :** Observation de *S. aureus* sous microscope électronique à balayage au Gx34000 (PRESCOTT *et al.*, 2002)



**Figure 03 :** Observation de *S. aureus* après coloration de Gram sous microscope optique au G x1500 (PRESCOTT *et al.*, 2002)

##### 4.2. Caractères cultureux

*S. aureus* est subdivisé en deux sous-espèces, *S. aureus* subsp *aureus* qui est anaérobie facultatif et *S. aureus* subsp *anaerobius* est anaérobie strict. En plus de cette différence fondamentale, la première présente une pigmentation jaune en culture solide, contrairement à la deuxième, et la taille des colonies de *S. aureus* subsp *aureus* est plus importante que celle de *S. aureus* subsp *anaerobius* (DE BUYSER et HENNEKINNE, 2010).

*S. aureus* est facilement cultivable sur des milieux ordinaires synthétiques contenant les facteurs indispensables à sa croissance, à savoir, la thiamine, l'acide nicotinique, la cystéine et l'arginine (LE MINOR et VERON, 1982 ; DE BUYSER et HENNEKINNE, 2010). C'est un germe mésophile pouvant croître à des températures allant de 6 à 48°C avec un optimum qui se situe entre 35 et 41°C. Son pH optimal est compris entre 6 et 7, mais il peut se multiplier dans une fourchette de pH comprise entre 4 et 9.8 (DE BUYSER et SUTRAT, 2005). Il peut également se développer dans un milieu ayant une activité de l'eau ( $a_w$ ) comprise entre 0.91 et

0.95, mais peut survivre sans se multiplier à une  $a_w$  de 0.83. Halotolérant, il peut supporter des teneurs en chlorures de sodium (NaCl) pouvant atteindre les 20% (FOSSE et MAGRAS, 2004 ; DE BUYSER et SUTRAT, 2005).

Sur milieu liquide, il donne un trouble homogène après incubation à 37°C pendant 24h, au-delà, il y a formation d'un dépôt. Sur milieu solide, il forme des colonies rondes à bords réguliers, lisses, bombées, brillantes, pigmentées (jaune orangé de nature caroténoïde) et translucides, d'un diamètre qui varie entre 1 et 3mm après incubation à 37°C pendant 24h (DE BUYSER, 1991 ; SCHLEIFER et BELL, 2009). L'isolement de *S. aureus* se fait sur des milieux hyper-salés comme le milieu Chapman (7.5% de NaCl), ou des milieux contenant de puissants inhibiteurs, comme le milieu Baird Parker ou le milieu plasma de lapin au fibrinogène (JOFFIN C. et JOFFIN J-N., 2010).

### 4.3. Caractères biochimiques

Pour l'identification de l'espèce, il est nécessaire de passer par certains tests biochimiques résumés dans le Tableau I.

**Tableau I** : Caractères biochimiques de *S. aureus* (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	-
$\beta$ -Glucosidase	+	D	ND	-	d
$\beta$ -Galactosidase	-	-	ND	-	d
ADNase	+	-	+	-	+
Hémolysine	+	-	+	-	d
Oxydase	-	-	ND	-	-
Uréase	+r	+	+	+	+
Nitrate réductase	+	+	+	d	+
Thermonucléase	+	-	-	-	+
Production d'acétoïne	+	+	-	d	-
Production d'acide lactique	+	+	ND	+	+
Fructose	+	+	+	+	+
Galactose	+	d	ND	d	+
Lactose	+	d	+	d	d
Mannitol	+	-	+	-	d
Raffinose	-	-	ND	-	-
Ribose	+	d	ND	-	+
Sucrose	+	+	+	+r	+
Tréhalose	+	-	-	d	+
Xylose	-	-	-	-	-

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

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

*S. aureus* est équipé d'une grande variété de facteurs de virulence, incluant des composés structuraux et d'autres sécrétés dans l'environnement de la bactérie. Ils sont responsables de la pathogénicité de ce germe (PLATA *et al.*, 2009) et impliqués dans les différentes étapes de l'infection (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

Les facteurs de virulence sont subdivisés en 3 catégories : Les composants de la paroi, les protéines de surface et les protéines sécrétées (TALLY, 1993). Ces dernières sont codées par des gènes chromosomiques ou portés par des éléments extra-chromosomiques qui peuvent être acquis par transfert horizontal (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

### **1. Les composants de la paroi**

#### **1.1. Le peptidoglycane**

Le peptidoglycane de *S. aureus* possède une structure particulière, c'est l'une des rares parois possédant un pontage de pentaglycines reliant la L-Lysine en position 3 et la D-Alanine en position 4 (PRESCOTT *et al.*, 2002).

La muréine a un effet similaire à celui du lipopolysaccharide (LPS) des Gram -, elle est capable d'induire une réponse inflammatoire et activer le complément par la voie alterne (TALLY, 1993). A de fortes doses, elle peut conduire à un choc septique (SMELTZER, 2009).

#### **1.2. Les acides téichoïques**

Ce sont des polymères linéaires de ribitols reliés par des groupements phosphates (PRESCOTT *et al.*, 2002). Ils contribuent à la colonisation nasale en se liant aux cellules épithéliales (BHUNIA, 2008). Ils sont aussi impliqués dans l'activation du complément (TALLY, 1993) et peuvent entraîner une hypersensibilité (LE MINOR et VERON, 1982).

#### **1.3. Capsule**

Constituée d'un polymère de nature polysaccharidique, codée par le gène *cap*. Les souches capables de produire cet exo-polysaccharide, présentent une résistance contre l'opsonophagocytose par les neutrophiles (SMELTZER, 2009 ; BOISSET et VANDENESCH, 2010).

### **2. Les protéines de surface**

#### **2.1. Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules**

*S. aureus* possède un ensemble de molécules d'adhésion reliées au peptidoglycane par des liaisons covalentes appelé MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules). La plupart de ces protéines jouent un rôle dans la colonisation des tissus (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

Les MSCRAMM incluent, les Bap (Biofilm associated proteins), responsables de la formation du biofilm bactérien et la colonisation des glandes mammaires ; les protéines liant la fibronectine (Fbp) de type A et B (BHUNIA, 2008) ; les CIFA et CIFB, qui sont des protéines de liaison au fibrinogène ou Clumping factors, jouant un rôle dans l'arthrite staphylococcique par l'agrégation des plaquettes sanguines ; Les Cna (Collagen binding protein), des protéines

liant le collagène, nécessaires pour l'adhérence de *S. aureus* aux tissus collagèneux et cartilagineux (BHUNIA, 2008 ; PLATA *et al.*, 2009 ; BOISSET et VANDENESCH, 2010).

## **2.2. Secretable expanded repertoire adhesive molecules**

De récentes recherches, ont montré la présence d'un autre mécanisme d'adhésion qui se base sur des adhésines sécrétées vers le milieu extérieur appelées SERAM (Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules). Ce groupe inclue, les Eap (Extracellular adherence protein), les Emp (Extracellular matrix binding protein), ainsi que les Efb (Extracellular fibrinogen binding protein) (SMELTZER, 2009).

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

## **2.3. La protéine A**

La Protéine A est une exo-protéine de 42 kDa caractéristique de l'espèce *S. aureus*. Elle est sous forme associée à la paroi ou excrétée vers le milieu externe. Cette protéine est codée par un gène chromosomique appelé *spa*. Elle est dite facteur de virulence pléiotropique, à cause de la diversité des interactions existant avec l'hôte (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

En effet, cette protéine peut lier de manière non spécifique les fragments Fc de presque tous les types d'immunoglobulines (Ig) G, et faiblement les régions variables Fab des Ig M. Le complexe formé permet l'activation du complément par la voie classique, cela va altérer le bon fonctionnement des immunoglobulines en empêchant l'opsonisation par la réduction du nombre de fragments Fc disponibles. Elle joue aussi un rôle important dans l'endocardite infectieuse par sa capacité à se lier aux facteurs de Von Willebrand (VWf), qui sont des protéines présentes dans l'endothélium (TALLY, 1993 ; PLATA *et al.*, 2009).

## **3. Les protéines extracellulaires**

*S. aureus* synthétise un lot de protéines qui peuvent être subdivisées en deux types, celles qui ont une activité enzymatique, et celles qui ont une activité toxique. Ces substances permettent à la bactérie de se diffuser dans les tissus et échapper aux défenses de l'hôte.

### **3.1. Les enzymes staphylococciques**

#### **3.1.1. La coagulase libre**

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

### **3.1.2. La catalase**

C'est une enzyme permettant la transformation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>. Par cette enzyme, *S. aureus* inhibe probablement l'activité destructrice des polynucléaires neutrophiles et cela par la dégradation des radicaux libres d'oxygène, produits par ces globules blancs. Par conséquent, la catalase donne une protection pour ce germe à l'intérieur des cellules phagocytaires, lui permettant d'échapper au système immunitaire (TALLY, 1993 ; PANCHOLI, 2002).

### **3.1.3. 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).

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

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

En plus des diverses protéases, *S. aureus* synthétise de nombreuses enzymes protéolytiques : L'élastase, la gélatinase et la caséinase (LE MINOR et VERON, 1982).

### **3.1.4. Les staphylokinases (fibrinolysines)**

Ce sont des protéines activatrices du plasminogène en plasmine, 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).

### **3.1.5. 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).

### 3.1.6. Les lipases

Les principales enzymes qui attaquent les lipides sont les lipases, les estérases et les phosphatidases, qui appartiennent toutes aux glycérol-ester-hydrolases. Leur mise en évidence est effectuée sur des milieux contenant du jaune d'œuf et des tweens. Le rôle des lipases dans la pathogénicité n'est pas pleinement connu, mais des suggestions mentionnent qu'elles ont la capacité de détériorer les fonctions des neutrophiles (LE MINOR et VERON, 1982 ; PANCHOLI, 2002).

## 3.2. Les toxines staphylococciques

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

### 3.2.1. Les hémolysines

*S. aureus* synthétise quatre types d'hémolysines, l' $\alpha$ -hémolysine, la  $\beta$ -hémolysine, la  $\gamma$ -hémolysine et la  $\delta$ -hémolysine.

La première est une toxine de 31 kDa, 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  $\alpha$  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).

La seconde 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. Son action n'est visible sur gélose au sang qu'après refroidissement à 4°C (LE MINOR et VERON, 1982 ; BOISSET et VANDENESCH, 2010).

La  $\gamma$ -hémolysine 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).

La dernière 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).

### 3.2.2. La leucocidine de Panton et Valentin (PLV)

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 (Fast eluted) (VINCENOT *et al.*, 2008). Ces 2 composés agissent en synergie, leur assemblage à la surface des cellules leucocytaires est nécessaire pour la formation des pores (TALLY, 1993 ; PLATA *et al.*, 2009).

Elle exerce son activité uniquement sur les granulocytes, les macrophages et les basophiles d'homme et de lapin (LE MINOR et VERON, 1982). A forte concentration, elle induit la nécrose cellulaire des polynucléaires. A faible concentration, elle permet la formation de pores dans la membrane mitochondriale conduisant à l'apoptose (BOISSET et VANDENESCH, 2010).

### 3.2.3. L'exfoliatine (ou épidermolysine)

On dénombre 4 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 2 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).

### 3.2.4. Les entérotoxines

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, mais à faible dose, elles peuvent être inactivées par le traitement thermique utilisé en appertisation (CHARLIER *et al.*, 2010).

En 2004, le comité international de nomenclature des superantigènes staphylococciques a proposé une nouvelle nomenclature pour les entérotoxines de *S. aureus*. Elle stipule que si la toxine possède une activité émétique prouvée, elle est désignée par le préfixe SE (staphylococcal enterotoxin). Si l'activité émétique est absente ou n'est pas prouvée, elle est désignée par SEI (staphylococcal enterotoxin-like toxin) (BOISSET et VANDENESCH, 2010). Jusqu'en 2013, vingt-trois entérotoxines (SE et SEI) ont été décrites (HU et NAKANE, 2013). Le tableau II résume les principales caractéristiques des entérotoxines de *S. aureus*.

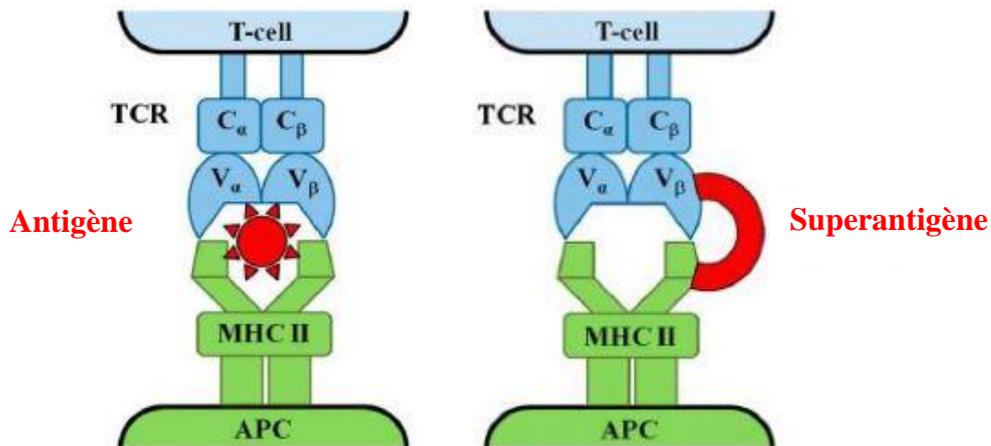
L'activité émétique des entérotoxines n'est pas aussi bien caractérisée que l'activité superantigénique. Elles agiraient directement sur les récepteurs neuronaux du système gastro-intestinal, mais elles n'ont pas d'effet cytotoxique sur les cellules épithéliales de l'intestin (DE BUYSER, 1996). Cette stimulation envoie un signal nerveux à travers les nerfs vague et sympathique qui déclenchent le centre vomitif du cerveau (ARGUDIN *et al.*, 2010). Après un temps d'incubation court (1 à 6 h), elles provoquent des crampes abdominales douloureuses, des vomissements, des diarrhées, mais pas de fièvre (VINCENOT *et al.*, 2008).

**Tableau II** : Caractéristiques des SE et SEI chez *S. aureus* (HU et NAKANE, 2013).

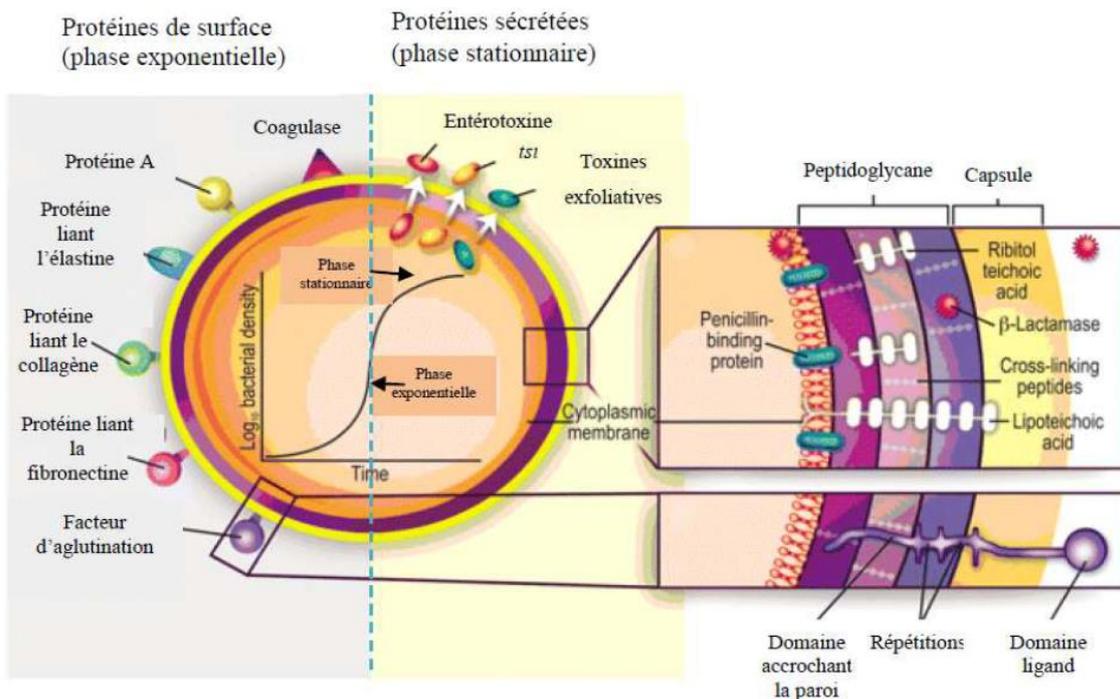
Toxine	Localisation génétique	PM (kDa)	Longueur (acides aminés)	Activité superantigénique	Activité émétique chez le singe (µg)
SEA	Prophage	27.1	233	+	25
SEB	Chromosome, plasmide	28.4	239	+	100
SEC1	Chromosome	27.5	239	+	5
SEC2	Chromosome	27.6	239	+	Non déterminé
SEC3	Chromosome	27.6	239	+	<50
SED	Plasmide	26.9	233	+	Non déterminé
SEE	Prophage	26.4	230	+	Non déterminé
SEG	Chromosome	27.0	233	+	160-320
SEH	Transposon	25.1	217	+	30
SEI	Chromosome	24.9	218	+	300-600
SEIJ	Plasmide	28.6	245	+	Non déterminé
SEIK	Chromosome	25.3	219	+	Non déterminé
SEIL	Chromosome	24.7	216	+	Non émétique
SEIM	Chromosome	24.8	217	+	Non déterminé
SEIN	Chromosome	26.1	227	+	Non déterminé
SEIO	Chromosome	26.8	232	+	Non déterminé
SEIP	Prophage	26.7	233	+	Non déterminé
SEIQ	Chromosome	25.2	216	+	Non émétique
SER	Plasmide	27.0	233	+	<100
SES	Plasmide	26.2	257	+	<100
SET	Plasmide	22.6	216	+	<100
SEIU	Chromosome	27.2	256	+	Non déterminé
SEIV	Chromosome	27.6	239	+	Non déterminé
SEIX	Chromosome	19.3	168	+	Non déterminé

### 3.2.5. Superantigène

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).



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



**Figure 05** : Facteurs de virulence de *S. aureus* et leur cinétique de production au cours du développement de l'infection (LOWY *et al.* 1998).

**Tableau III** : Facteurs de virulence de *S. aureus* (Adapté par SMELTZER *et al.*, 2009)

Gène	Produit	Rôle dans la virulence
<b>Composants de la paroi</b>	Acide téichoïque Acide lipotéichoïque Peptidoglycane	Colonisation nazale Choc septic Choc septic
<b>Exopolysaccharides</b> <i>cap</i> <i>icaADBC</i>	Polysaccharides capsulaires Adhésines polysaccharidiques intercellulaires	Inhibition de l'opsonophagocytose Formation de biofilms Résistance contre la phagocytose et les peptides antimicrobiens
<b>Adhésines de la surface</b> <i>cna</i> <i>spa</i> <i>fnbA, fnbB</i>  <i>clfA, clfB</i>	Protéines de liaison au collagène Protéine A Protéines de liaison à la fibronectine A et B Clumping factors A et B	Fixation au collagène Inhibition de l'opsonophagocytose Fixation à la fibronectine  Fixation au fibrinogène Colonisation nazale
<b>Adhésines secrétées</b> <i>Efb</i>  <i>emp</i>  <i>eap</i>	Protéine extracellulaire de liaison au fibrinogène Protéine extracellulaire de liaison à la matrice Protéine adhésive extracellulaire	Inconnu  Inconnu  Inconnu
<b>Exoenzymes</b> <i>sspA</i> <i>aur</i> <i>sspB</i> <i>Geh</i> <i>Nuc</i> <i>Coa</i> <i>Sak</i> <i>hysA</i>	Protéase V8 Métalloprotéases Cystéine protéase Glycerol ester hydrolase Nucléase Coagulase Staphylokinase Hyaluronidase	Diffusion Formation du thrombus Inconnu Diffusion Inconnu Empêche la phagocytose Activateur du plasminogène Diffusion
<b>Exotoxines</b> <i>hla, hlb, hld, hlg</i> <i>lukF-PV, lukS-PV</i> <i>etA, etB, etC, etD</i>  <i>tst</i> <i>sea, seb, sec, sed, see</i>	Hémolysine $\alpha, \beta, \delta, \gamma$ PLV Exfoliatine (epidermolysine)  TSST-1 Entérotoxines staphylococcique	Hémolyse, nécrose Lyse des polynucléaires Syndrome de la peau ébouillantée Syndrome du choc toxique SCT Intoxication alimentaire, SCT

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

La résistance aux antibiotiques chez *S. aureus* est assurée par trois mécanismes de base ; à savoir, la modification de l'antibiotique par voie enzymatique ; la production de cibles mutées que l'antibiotique ne reconnaît plus ; et enfin, empêcher l'antibiotique d'arriver à sa cible. Ces mécanismes sont mis en œuvre par la bactérie selon le mode d'action de l'antibiotique (CHAMBERS, 2009).

#### 1. Résistance aux $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines et leurs dérivés forment la plus grande famille d'antibiotiques. Leur cible principale est la protéine liant les pénicillines (PLP), il s'agit d'une transpeptidase indispensable à la formation du peptidoglycane (BERGER-BÄCHI, 1997). Les  $\beta$ -lactamines ont une homologie de structure avec le D-Alanyl-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  $\beta$ -lactamines : la production de  $\beta$ -lactamase et la production de PLP modifiées (CHAMBERS, 2009).

##### 1.1. Production de $\beta$ -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  $\beta$ -lactamases (LOWY, 2003). Ce sont des PLP extracellulaires particulières, capables d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame de l'antibiotique (CHAMBERS, 2009). Elles sont codées par un gène inductible par la présence de  $\beta$ -lactamines appelé blaZ (CLARKE et DYKE, 2001).

*S. aureus* synthétise quatre types de  $\beta$ -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  $\beta$ -lactamases, les scientifiques utilisent deux stratégies. La première consiste à modifier les antibiotiques de telle manière à ce que les enzymes ne peuvent plus les reconnaître (le cas de la méticilline). La seconde consiste à combiner deux molécules ou plus, l'une 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).

##### 1.2. Production de PLP modifiée

Ce mécanisme caractérise la résistance à la méticilline et les autres pénicillines résistantes aux  $\beta$ -lactamases. Il requiert la présence, dans le chromosome de la bactérie, du gène *mecA* qui code pour la PLP2a (CHAMBERS, 1997). Ce gène est porté par un élément mobile appelé staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) (KATAYAMA *et al.*, 2000). SCC*mec* possède deux sites de recombinaison *ccrA* et *ccrB* (pour cassette chromosome recombinase A et B) responsables de sa mobilité (ITO *et al.*, 2014).

La PLP2a possède une affinité très faible vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines résistantes aux  $\beta$ -lactamases, conférant ainsi une résistance vis-à-vis de toutes les  $\beta$ -lactamines (LOWY, 2003). C'est une enzyme capable d'assurer à elle seule la réaction de transpeptidation du

peptidoglycane au niveau du septum de division. Elle permet ainsi à la bactérie de survivre à des concentrations d'antibiotique (notamment de méticilline) normalement létale pour une souche sensible (CHAMBERS, 2009).

## 2. Résistance aux glycopeptides

Dans la famille des glycopeptides, l'antibiotique de référence utilisé pour le traitement des infections à SARM est la vancomycine (TANKOVIC *et al.*, 1997). Cependant, il n'est utilisé qu'en dernier recours à cause de sa toxicité rénale (BAMGBOLA, 2016).

Comme pour les  $\beta$ -lactamines, la vancomycine inhibe la synthèse de la paroi. Elle se fixe sur le D-Ala-D-Ala du précurseur du peptidoglycane, et crée un encombrement stérique qui empêche les PLP de catalyser la réaction de transpeptidation (HAMMES et NEUHAUS, 1974). Ceci va empêcher la réticulation du peptidoglycane et les cellules meurent par lyse osmotique (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

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

Le second type de résistance vient de l'acquisition par *S. aureus* du transposon Tn 1546 par conjugaison avec *Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine (VRE) (GARDETE et TOMASZ, 2014). Ce transposon contient neuf gènes responsables de la synthèse d'un précurseur du peptidoglycane modifié, où le D-Ala-D-Ala est substitué par un D-Alanyl-D-Lactate (D-Ala-D-Lac) qui a une très faible affinité vis-à-vis de la vancomycine (BONECA et CHIOSIS, 2003). Il en résulte des souches dont la CMI est supérieure à 128  $\mu\text{g/ml}$ , qui sont dénommées : *S. aureus* résistant à la vancomycine (VRSA) (LOWY, 2003).

## 3. Résistance aux aminoglycosides

Les aminoglycosides sont des antibiotiques à très large spectre (STRAHILEVITZ et HOOPER, 2009). Ils sont souvent utilisés en association avec d'autres antibiotiques tels que les  $\beta$ -lactamines, pour augmenter la bactéricidie et éviter la sélection de mutants résistants (TANKOVIC *et al.*, 1997). Ce 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 10 mg/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 (DOWDING, 1976 ; 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. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (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<sub>r</sub> 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).

#### **5. 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<sub>r</sub>-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 (principalement TetM et TetO) se fixent sur le ribosome, induisant l'augmentation de la constante de dissociation du complexe ribosome-tétracycline. Cela a pour effet de relarguer la molécule 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).

## 6. Résistance aux quinolones

Les quinolones sont des molécules entièrement synthétiques, obtenues à partir de produits dérivés de l'industrie de la chloroquine (ITO *et al.*, 1994 ; SMITH et ZEILER, 1998). Elles 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. Les plus étudiées sont : NorA, NorB, NorC, MepA et MdeA (COSTA *et al.*, 2013).

## 7. Résistance aux rifamycines

Les rifamycines sont des métabolites secondaires d'*Amycolaptosis mediterranei*. Elles se fixent sur la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase ADN-dépendante codée par le gène *rpoB*, et interfèrent avec la phase d'initiation de la transcription. Par conséquent, cette dernière est bloquée et la bactérie meurt (WEHRLI et STAEHELIN, 1971 ; FLOSS et YU, 2005).

Le principal mécanisme de résistance aux rifamycines chez *S. aureus*, est une modification de la cible par des mutations ponctuelles au niveau de sites particuliers du gène *rpoB* (DAMON *et al.*, 1998 ; ZHOU *et al.*, 2012). La fréquence de mutation est de l'ordre de  $10^{-7}$ . Par conséquent, ce type d'antibiotiques est prescrit en association avec d'autres molécules afin de prévenir l'apparition de mutants résistants (STRAHILEVITZ et HOOPER, 2009).

Une fois la cible modifiée, son affinité à l'antibiotique diminue en fonction du nombre de bases substituées. En effet, la substitution d'une seule base confère à la bactérie une faible résistance (CMI = 1-4  $\mu\text{g/ml}$ ), tandis que la substitution de plusieurs bases lui confère une résistance de haut niveau (CMI  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ ) (GOLDSTEIN, 2014).

## 8. Résistance aux sulfamides

Les sulfamides forment l'une des rares familles d'antibiotiques dont le mécanisme d'action est élucidé à l'échelle moléculaire (BUSHBY, 1983). Il a été démontré qu'ils agissent sur la dihydroptéroate synthase (DHPS), une enzyme indispensable à la formation du précurseur de certains acides aminés et de bases azotées, à savoir, l'acide folique. Ces antibiotiques présentent une homologie de structure avec l'acide para-nitrobenzoïque (PABA) qui est le

substrat naturel de la DHPS. De ce fait, les sulfamides affectent le fonctionnement de cette dernière par compétition avec son substrat (SKÖLD, 2000).

La résistance de *S. aureus* vis-à-vis des sulfamides est due à des mutations chromosomiques. Ces dernières peuvent induire une surproduction du PABA (OAKBERG et LURIA, 1947 ; LYON et SKURRAY, 1987), ou produire des DHPS ayant une affinité réduite à l'antibiotique (THEN, 1989).

## **9. Transfert horizontal des gènes de résistance**

Chez *S. aureus*, deux modes de transfert horizontal des gènes de résistance ont été observés. Le plus répandu est la transduction via des bactériophages lysogéniques. Au cours de ce processus, l'ADN viral intègre le chromosome bactérien sous forme de prophage. Dès que la bactérie se trouve en état de stress, le prophage se détache du chromosome bactérien apportant des séquences voisines. Il arrive parfois qu'une séquence appartenant à la bactérie soit accidentellement encapsidée. Après l'infection d'une autre bactérie, ces séquences peuvent être intégrées au nouveau chromosome. Le second mode, moins fréquent, est la conjugaison bactérienne. Au cours de cette dernière, une cellule donatrice transfère à travers un pilus sexuel, une partie ou la totalité d'un élément génétique (plasmide libre ou intégré au chromosome, transposon) (BEN ZAKOUR *et al.*, 2010).

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et méthodes**

#### **1. Matériels**

- Verrerie et outils : boîtes de Pétri, tubes à essai, pipettes Pasteur, écouvillons, tubes à hémolyse, anse à boucle, micropipette, embouts (0.1 et 1mL), spatules, cuves de spectrophotomètre, lames pour microscope, flacons en verre.
- Etuve microbiologique (Mettler, Allemagne)
- Vortex (Heidolph, Allemagne)
- Bec Bunsen
- Autoclave (PBI International, Italie)
- Balance électronique (Denver Instrument, États-Unis)
- Spectrophotomètre (Medline, Grande Bretagne)
- Microscope optique (Ceti, Royaume-Uni)
- Réfrigérateur (Maxipower, Algérie)
- Bain-Marie (Mettler, Allemagne)

#### **2. Milieux de culture et réactifs**

- Gélose Baird Parker (Biokar diagnostics, France)
- Tellurite de potassium (Institut Pasteur d'Alger)
- Emulsion de jaune d'œuf
- Eau peptonée tamponnée (Conda Pronadisa, Espagne)
- Bouillon nitraté (Conda Pronadisa, Espagne)
- Bouillon Clark et Lubs (Institut Pasteur d'Alger)
- Gélose Muller-Hinton (Biokar diagnostics, France)
- Bouillon cœur-cerveau (Biokar diagnostics, France)
- Gélose à ADN (Conda Pronadisa, Espagne)
- Agar bactériologique (Biokar diagnostics, France)
- Plasma de lapin (bioMérieux SA, France)
- Nitrate réductase 1 (NR1) et 2 (NR2) (Institut Pasteur d'Alger)
- Voges Proskauer I (VPI) et II (VPII) (Institut Pasteur d'Alger)
- Poudre de zinc
- Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Scharlau, Espagne)
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée stérile
- Violet de Gentiane
- Lugol, alcool, fushine

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

#### **3. Méthode**

##### **3.1. Collecte des échantillons**

La collecte des échantillons s'est faite entre février et avril 2017, dans la ville de Tizi-Ouzou. Au total, 88 échantillons ont été analysés. 45 échantillons de viande hachée fraîche non épicée (environ 100g par échantillon) ont été achetés dans 45 boucheries différentes. 43 échantillons de pâtisseries à crème fraîche (une génoise par échantillon) ont été achetés, dont 25 dans des points de vente de pâtisseries et 18 dans des cafétérias.

Au cours de l'étude, toute la population (boucheries, points de ventes et cafétérias de la ville de Tizi-Ouzou) a été ciblée. Pour cela, les listes exhaustives des boucheries, des pâtisseries et des cafétérias ont été récupérées auprès de la direction du commerce de la wilaya de Tizi-Ouzou. Cependant, la fermeture de certains points de vente de pâtisseries et boucheries le jour de collecte, ainsi que l'indisponibilité de pâtisseries à crème fraîche dans certaines cafétérias ont fait que l'analyse n'a pas été faite sur l'ensemble de la population.

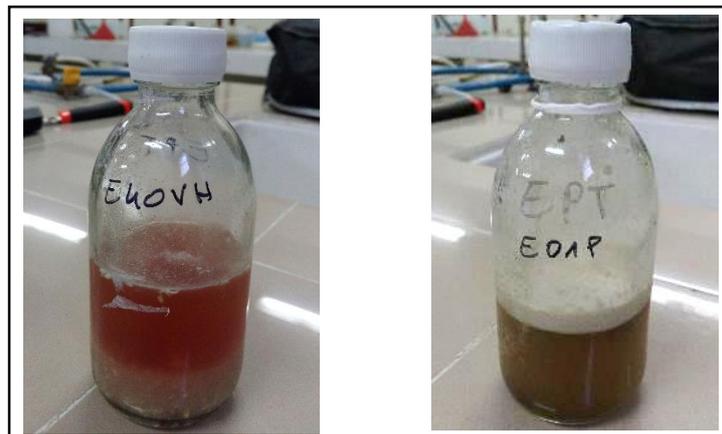
Les échantillons ont été collectés de la manière dont les clients sont servis. Ils sont identifiés par un code contenant la lettre E (pour échantillon), suivie du numéro de l'échantillon et du type de produit (VH : pour viande hachée ; P : pour pâtisserie des points de vente ; C : pour les pâtisseries des cafétérias). Ainsi le premier échantillon de viande hachée est noté E01VH. Puis ils sont mis dans des sachets en plastique et transportés au laboratoire dans une glacière. L'analyse débute 2 à 3 heures après la collecte. Enfin, les points de collecte sont nommés et localisés sur une carte (Annexe 05).

### 3.2. Analyse des échantillons

L'analyse des échantillons est réalisée au laboratoire de recherche de biochimie analytique et de biotechnologie de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Elle est faite conformément à la norme ISO 6888-1 relative à l'isolement et le dénombrement des staphylocoques à coagulase positives, adaptée aux moyens disponibles.

#### 3.2.1. Préparation de la suspension mère

10g de chaque échantillon sont mis aseptiquement dans un flacon contenant 90ml d'eau peptonée tamponnée stérile. Le mélange est agité pour homogénéiser, et laissé à température ambiante pendant 02 heures, afin de revivifier les germes contenus dans l'échantillon.



**Figure 06** : Préparation des suspensions mères  
à gauche : suspension mère de viande hachée ; à droite : suspension mère de pâtisserie

#### 3.2.2. Isolement des souches suspectes de *S. aureus*

A l'aide d'une micropipette, 0.1 ml de chaque suspension mère est déposée aseptiquement en surface sur milieu Baird Parker (BP) additionné de jaune d'œuf et de tellurites de potassium. Puis l'inoculum est étalé grâce à un étaloir stérile. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Une à cinq colonies caractéristiques de *S. aureus* (colonies rondes à bords réguliers, lisses, bombées, d'un diamètre de 1 à 3mm, noires et ayant un halo clair), sont prélevées de chaque boîte de milieu BP positive, et sont purifiées sur gélose BHI (Brain Heart Infusion).

### **3.2.3. Identification de *S. aureus***

En plus de la coloration de Gram, cinq tests biochimiques ont été réalisés pour identifier *S. aureus* parmi les souches suspectées. Il s'agit de la mise en évidence de la catalase, la coagulase, l'ADNase, la nitrate réductase (NR) et la production d'acétoïne. Une souche doit présenter un résultat positif à tous ces tests pour confirmer son appartenance à l'espèce *S. aureus*. La souche de référence MU50 est utilisée comme témoin positif pour les tests biochimiques.

Dans un souci d'économie de milieux de culture et de réactifs, ces tests sont réalisés les uns après les autres. Ainsi, dès qu'une souche présente un résultat négatif à un test, elle est éliminée et ne subit pas les autres tests. Une fois confirmée, la souche est codifiée et conservée dans du BHIB (Brain Heart Infusion Broth), additionné d'un même volume de glycérol à -20°C.

#### **3.2.3.1. Coloration de Gram**

La coloration de Gram est réalisée sur un frottis préalablement préparé à partir d'une culture jeune sur milieu BHI et fixé sur une lame, en appliquant les étapes suivantes :

- Application du violet de Gentiane pendant 1mn
- Ajout du lugol deux fois pendant 45s (2×45s)
- Décolorer à l'alcool pendant 15s
- Laver à l'eau distillée
- Colorer à la fushine basique pendant 1mn
- Laver à l'eau distillée
- Sécher et observer au microscope optique à l'immersion au grossissement x1000

Les bactéries du genre *Staphylococcus* apparaissent sous forme de cocci Gram+, agencées en grappes de raisin.

#### **3.2.3.2. Mise en évidence de la catalase**

Une goutte de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) est déposée au fond d'une boîte de Pétri vide. Une colonie provenant d'une boîte de BHI contenant une souche suspecte est prélevée et déposée à côté de la goutte d'  $H_2O_2$ . Puis, la boîte 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 ( $O_2$ ) apparaissent dans la goutte d'  $H_2O_2$ .

#### **3.2.3.3. Mise en évidence de l'ADNase**

Une colonie issue d'une culture suspecte sur BHI est ensemencée en strie centrale dans une boîte contenant la gélose à ADN. Après une incubation à 37°C pendant 24 heures, la révélation se fait en ajoutant de l'acide chlorhydrique (HCl) à 2N. La souche est considérée ADNase+ si une zone claire apparaît autour de la strie.

#### **3.2.3.4. Production d'acétoïne et de nitrate réductase**

Deux colonies issues d'une boîte de BHI d'une souche suspecte sont repiquées, l'une sur bouillon Clark et Lubs et l'autre sur bouillon nitraté. Les deux milieux sont incubés à 37°C pendant 48 heures.

La révélation de l'acétoïne sur milieu Clark et Lubs est réalisée en ajoutant 15 gouttes de réactif VPI ( $\alpha$  naphthol à 6%), et 15 gouttes de VPII (NaOH à 4N). La souche est considéré VP+ si un halo rouge apparait en surface du tube au bout de 20 à 30mn.

La révélation de la nitrate-réductase sur bouillon nitraté se fait en ajoutant deux gouttes de réactif NR1 et deux gouttes de réactif NR2, qui réagissent avec les nitrites et forment un composé de couleur rouge. S'il y a apparition de cette couleur rouge, cela veut dire que la souche a réduit les nitrates en nitrites, et elle est considérée NR+.

Dans le cas où il y'aura pas cette couleur rouge, lié à l'absence de l'enzyme ou à la dénitrification totale des nitrites en azote, une confirmation par l'ajout d'une poudre de zinc s'impose. L'apparition d'une couleur rouge après l'ajout de zinc signifie que l'enzyme est absente (la réduction est due au zinc).

#### **3.2.3.5. Mise en évidence de la coagulase**

Un inoculum issu d'une culture suspecte est repiqué sur BHIB (Brain Heart Infusion Broth) et incubé à 37°C pendant 24 heures. Puis, 0.1ml de cette culture est ajouté à un tube à hémolyse contenant 0.1ml de plasma de lapin. Ces tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 2 à 4 heures (la réaction est plus ou moins lente selon les souches).

### **3.3. Antibiorésistance**

L'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées a été étudiée conformément aux recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), en appliquant la méthode de diffusion en gélose Muller-Hinton (MH). La résistance des souches a été testée vis-à-vis de 15 molécules d'antibiotiques listées dans le tableau IV. L'interprétation des résultats, a été faite selon le manuel du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CASFM) et les recommandations du CLSI.

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

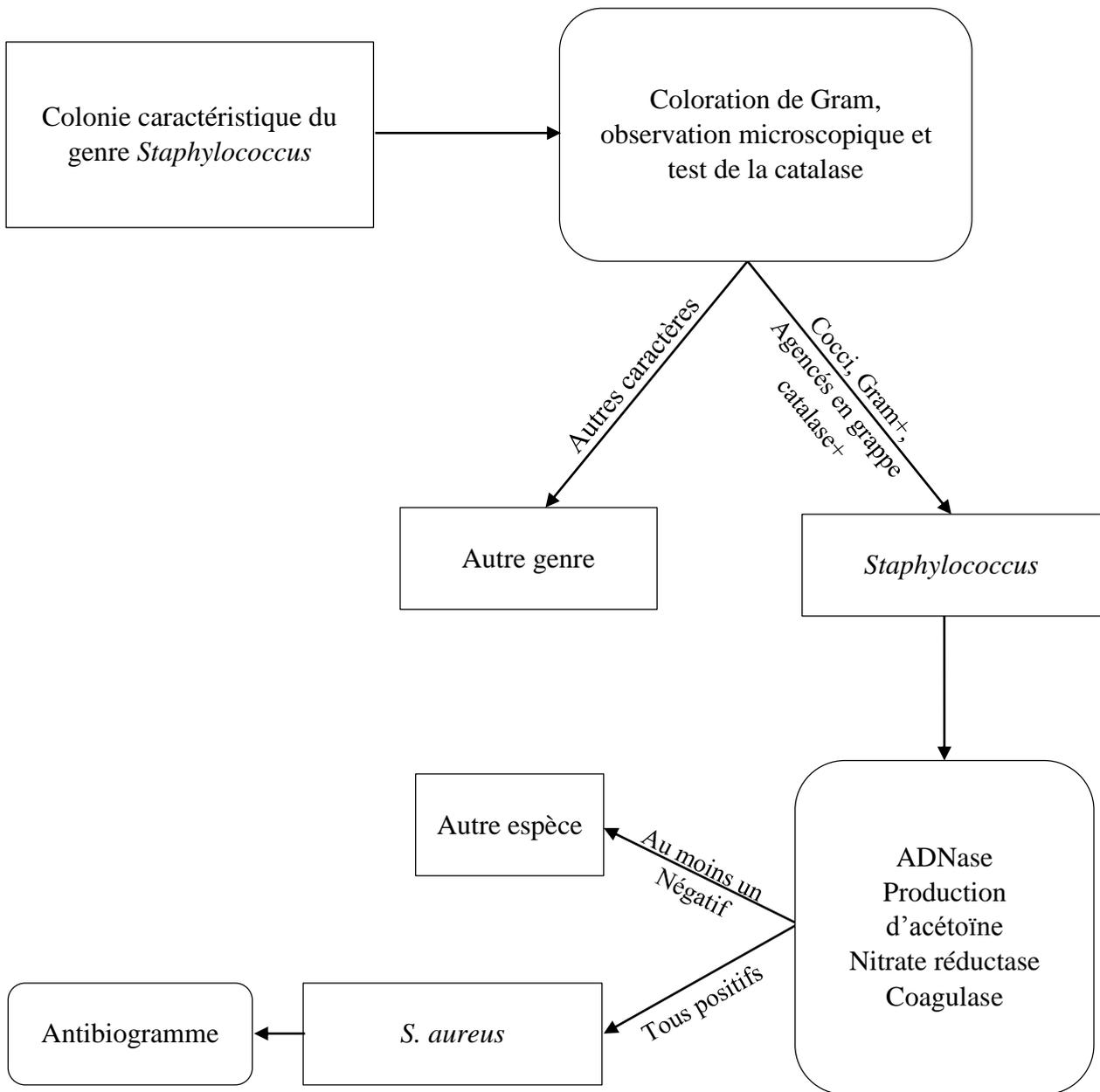
**Tableau IV** : Liste des antibiotiques testés.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Marque
β-lactamines	Pénicilline G	P	10	Liofilchem, Italie
	Oxacilline	OXC	1	Bio-rad, France
	Céfoxitine	FOX	30	Bio-rad, France
Glycopeptide	Vancomycine	VA	30	Liofilchem, Italie
Aminoglycoside	Gentamycine	CN	10	Liofilchem, Italie
	Néomycine	N	30	Liofilchem, Italie
	Tobramycine	TMN	10	Liofilchem, Italie
Macrolides	Erythromycine	ERY	15	Bio-rad, France
	Spiramycine	SP	100	Liofilchem, Italie
Lincosamides	Lincomycine	MY	15	Liofilchem, Italie
	Clindamycine	CMN	2	Bio-rad, France
Tétracyclines	Tétracycline	TET	30	Bio-rad, France
Quinolones	Ofloxacine	OFX	5	Bio-rad, France
Phénicol	Chloramphénicol	CHL	30	Liofilchem, Italie
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Trimétoprim-Sulfamethoxazole	SXT	25	Liofilchem, Italie

### 3.4. Analyse statistique

L'analyse statistique a été faite en utilisant le logiciel Statistica 7.1. Le test de khi deux ( $\chi^2$ ) a permis de vérifier les relations entre la prévalence et la nature du produit (viande hachée ou pâtisserie), et entre la prévalence et l'origine du produit (cafétéria ou point de vente de pâtisseries) ; ainsi que la relation entre le profil d'antibiorésistance et la nature du produit, et entre le profil d'antibiorésistance et l'origine du produit.

Le test de Student a permis de vérifier la relation entre le nombre de souches de *S. aureus* par échantillon positif et la nature du produit, et entre le nombre de souches de *S. aureus* par échantillon positif et l'origine du produit.



**Figure 07** : Schéma récapitulatif de la méthode suivie.

## Chapitre II : résultats et discussion

### 1. Résultats

#### 1.1. Prévalence de *S. aureus*

Sur les 88 échantillons analysés, 52 colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été soumises aux différents tests biochimiques pour l'identification de l'espèce de *S. aureus*. Ainsi, 33 souches de *S. aureus* ont été isolées et confirmées à partir de 13 échantillons positifs, ce qui fait une prévalence totale de 14.77% (13/88). Parmi ces échantillons positifs, 6 représentent des prélèvements de viande hachée, et 7 des prélèvements de pâtisseries, ce qui fait une prévalence par type de produit de 13.33% (6/45) et 16.27% (7/43) respectivement.

**Tableau V** : Prévalence des souches de *S. aureus* par type de produit.

Produit	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons positifs	Nombre de souches de <i>S. aureus</i>	Prévalence (%)
Viande hachée	45	6	6	13.33
Pâtisserie	43	7	27	16.27
<b>Total</b>	88	13	33	14.77

**Tableau VI** : Prévalence des souches de *S. aureus* isolées des pâtisseries par origine.

Origine	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons positifs	Nombre de souches de <i>S. aureus</i>	Prévalence (%)
Pâtisseries	25	2	5	8
Cafétérias	18	5	22	27.77
<b>Total</b>	43	7	27	16.27

Les résultats du test  $\chi^2$  ont montré que la prévalence est indépendante de la nature du produit et de son origine (p-value > 0.05). Cependant, le test de Student montre que le nombre de souches de *S. aureus* (nombre de colonies caractéristiques de *S. aureus*) par échantillon positif dépend de la nature du produit (p-value < 0.05) mais pas de son origine (p-value > 0.05).

#### 1.2. Antibiorésistance

L'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées a été étudiée vis-à-vis de 15 molécules d'antibiotiques, cela a montré l'existence de résistances vis-à-vis de certaines molécules. En effet, un taux élevé de résistance à la pénicilline a été enregistré, avec une fréquence de 96.96%. De faibles résistances à la néomycine, la tobramycine et la tétracycline, ont été observées, avec des taux de 12.12%, 6.06%, 3.03%, respectivement. Aucune résistance vis-à-vis des autres molécules n'a été observée.

**Tableau VII :** Résistance des souches de *S. aureus* (n=33) aux antibiotiques testés.

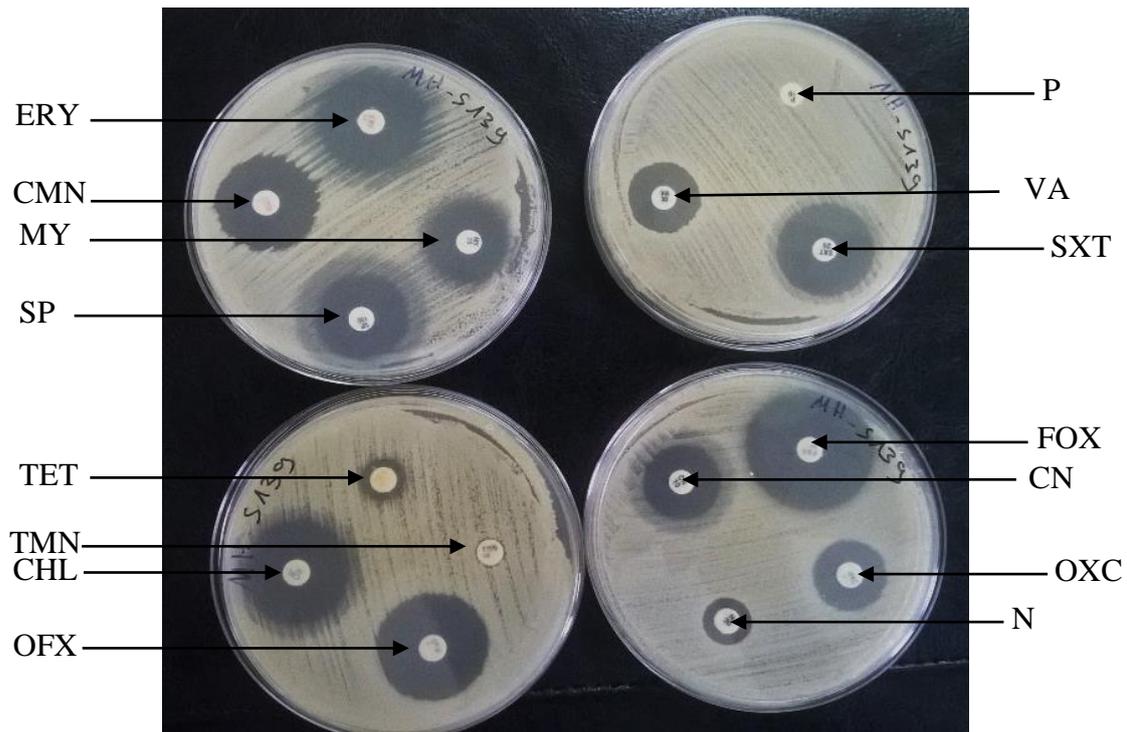
Antibiotique	Résistantes	Intermédiaires	Sensibles
	Nombre (%)	Nombre (%)	Nombre (%)
P	32 (96.96)	0 (0)	1 (3.03)
OXC	0 (0)	0 (0)	33 (100)
FOX	0 (0)	0 (0)	33 (100)
CN	0 (0)	1 (3.03)	32 (96.96)
N	4 (12.12)	1 (3.03)	28 (84.84)
TMN	2 (6.06)	0 (0)	31 (93.93)
ERY	0 (0)	0 (0)	33 (100)
SP	0 (0)	32 (96.96)	1 (3.03)
MY	0 (0)	0 (0)	33 (100)
CMN	0 (0)	0 (0)	33 (100)
TET	1 (3.03)	0 (0)	32 (96.96)
OFX	0 (0)	0 (0)	33 (100)
CHL	0 (0)	0 (0)	33 (100)
SXT	0 (0)	0 (0)	33 (100)
VA	0 (0)	0 (0)	33 (100)

27 souches (81.81%) présentent une résistance à un seul antibiotique. 4 souches (12.12%) possèdent une résistance vis-à-vis de deux molécules. Une seule souche (3.03%) est multirésistante (vis-à-vis de 3 molécules). Les profils de résistance sont résumés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII :** Profil d'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées.

Souche	Résistance	Souche	Résistance
S125	P	S181	P
S126	P	S182	P
S127	P.N	S183	P
S128	P.TMN	S184	P
S129	/	S185	P
S130	P.N	S186	P
S135	P	S187	P
S136	P	S188	P
S137	P	S189	P
S138	P.N	S190	P
S139	P.N.TMN.TET	S191	P
S175	P	S192	P
S176	P	S193	P
S177	P	S194	P
S178	P	S195	P
S179	P	S196	P
S180	P		

Le test  $\chi^2$  montre que le profil d'antibiorésistance dépend du type de produit (p-value < 0.05), mais aussi de son origine (p-value < 0.05).



**Figure 08** : Profil de résistance de la souche S139.

## 2. Discussion

Au cours de ce travail, nous avons déterminé la prévalence et le profil d'antibiorésistance de *S. aureus* isolé à partir de la viande hachée et de la pâtisserie à crème fraîche commercialisées dans la ville de Tizi-Ouzou. La fréquence de contamination par *S. aureus* est plus importante dans les pâtisseries à crème fraîche, comparée à la viande hachée (16.2% contre 13.3%). Cette différence est statistiquement non significative, et une étude du biotype des souches isolées est nécessaire pour confirmer leur origine. Cependant, ces résultats suggèrent que la contamination des échantillons est surtout due à un problème d'hygiène du personnel et l'environnement de travail, plutôt qu'à la nature du produit ou son origine (GUNDOGAN *et al.*, 2005 ; BENNETT *et al.*, 2013).

En effet, d'une part, le portage asymptomatique de *S. aureus* est considéré comme un facteur important dans la contamination croisée et la survenue de toxiinfections alimentaires (GRAHAM *et al.*, 2006). Beaucoup d'études ont montré que les manipulateurs en contact avec les denrées alimentaires sont souvent des porteurs sains de *S. aureus*, notamment au niveau des mains et des fosses nasales (KAMAL *et al.*, 2013; TAN *et al.*, 2014 ; CASTRO *et al.*, 2016). En outre, les surfaces et le matériel en contact avec le produit, y compris le lieu de stockage et d'exposition, contribuent de manière encore plus importante à la contamination des aliments par *S. aureus* (SYNE *et al.*, 2013). D'autre part, la fréquence des intoxications incriminant une contamination en amont des denrées alimentaires est plus faible, et ne dépasse pas les 2% (BENNETT *et al.*, 2013).

Bien que la qualité hygiénique des échantillons analysés n'a pas été traitée dans notre travail, la présence de *S. aureus* dans un aliment représente un risque potentiel pour la santé du

consommateur (KADARIYA *et al.*, 2014), sachant que cette bactérie produit des entérotoxines thermostables, actives à une dose estimée à 144 ng chez l'enfant (EVENSON *et al.*, 1988). Pour éviter les toxiinfections alimentaires à staphylocoques, tout le personnel impliqué dans le processus de fabrication des denrées doit donc être formé aux bonnes pratiques d'hygiène.

Concernant la prévalence de *S. aureus* dans la viande hachée, des valeurs similaires à celles obtenues dans la présente étude ont été rapportées au Maroc (LOZANO, 2016), en Turquie (OZDEMIR et KEYVAN, 2016), en Corée (HEO *et al.*, 2008) et aux Etats Unis (HANSON *et al.*, 2011). Des valeurs supérieures ont été trouvées en Algérie (CHAALAL, 2013), en Ethiopie (LOZANO, 2016), en Italie (PESAVENTO *et al.*, 2005), en Turquie (GUNDOGAN *et al.*, 2005), aux Etats Unis (WATERS *et al.*, 2011 ; ABDALRAHMAN *et al.*, 2015) et aux Pays Bas (VAN LOO *et al.*, 2007). Enfin, NORMANNO *et al.* (2007) et SULTAN-DALLAL *et al.* (2010) ont obtenu des valeurs inférieures en Italie et en Iran respectivement.

Quant aux pâtisseries, des résultats similaires aux nôtres ont été décrits en Iran (SHARIFZADEH *et al.*, 2014). Des valeurs inférieures ont été rapportées en Grèce (KOTZEKIDOU, 2013) et en Italie (NORMANNO *et al.*, 2005). Enfin, des résultats supérieurs ont été obtenus en Algérie (CHAALAL, 2013) et au Brésil (LIMA *et al.*, 2012).

Il est difficile de tirer des conclusions en comparant les résultats de prévalence de *S. aureus* dans les aliments entre les différentes études, car un nombre important de paramètres (technique utilisée, situation géographique, période d'étude, nombre d'échantillons analysés) varie d'une étude à l'autre (HANSON *et al.*, 2011). En Algérie, les données sur ce thème sont rares. Ce qui en revanche est évident, c'est que *S. aureus* est fréquemment isolé des produits alimentaires à travers différentes régions du monde, montrant ainsi le caractère cosmopolite de cette bactérie.

Concernant l'antibiorésistance, aucune souche n'est résistante à la méticilline ou à la vancomycine, alors que 96.9% des souches isolées sont résistantes à la pénicilline G. Ce résultat conforte l'idée selon laquelle les souches communautaires de *S. aureus* résistantes à la méticilline ou à la vancomycine sont rares. En revanche celles résistantes à la pénicilline G représentent la majorité des souches, comme cela a été énoncé dans le journal de l'autorité européenne pour la sécurité alimentaire de 2009. Cette différence est due à la pression exercée par la pénicilline G utilisée aussi bien en médecine humaine (BAUD et GORDON, 2009) qu'en médecine vétérinaire (TAHRAT *et al.*, 2005). Ajouté à cela les mesures prises par les différents pays (suivant les recommandations de l'organisation mondiale de la santé) pour limiter l'utilisation des deux autres antibiotiques (STRUELENS et DENIS, 2000). Globalement ces résultats sont en accord avec les études menées par HANSON *et al.* (2011) et ABDALRAHMAN *et al.* (2015) aux Etats Unis, HEO *et al.* (2008) en Corée et OZDEMIR et KEYVAN (2015) en Turquie. Aucune souche résistante à la méticilline (SARM) n'a été isolée dans cette étude, ceci n'écarte pas la possibilité de présence de ce type de souches dans de telles matrices alimentaires. Beaucoup d'études menées à travers le monde montrent l'invasion des souches MRSA des denrées alimentaires d'origine animale. Dans une enquête japonaise, KITAI *et al.* (2005) ont isolé deux souches SARM (0.5%) à partir de 444 échantillons de viande de poulet. En Corée, une prévalence de 0.2% de MRSA a été rapportée par KWON *et al.* (2006)

dans la même matrice alimentaire. VAN LOO *et al.* (2007) ont isolé deux souches SARM (2.5%) à partir de 79 échantillons de viande de porc crue et de viande bovine. DE BOER *et al.* (2009) ont isolé 264 MRSA (11.9%) sur un total de 2217 échantillons de viande. Toutes ces données suggèrent que les denrées d'origine animale sont des réservoirs potentiels des SARM (CARGO *et al.*, 2012).

Une faible résistance aux aminoglycosides est retrouvée, notamment vis-à-vis de la néomycine (12.1%), et la tobramycine (6%). Par contre, aucune souche n'a montré de résistance à la gentamycine. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par HANSON *et al.* (2011), LI *et al.* (2015) et CHAALAL (2013) qui ont tous observé un taux de résistance à la gentamycine de 0%.

La résistance à la tétracycline a été signalée pour une seule souche (3%), résultat nettement inférieur à ce qui est rapporté dans la littérature. En effet, une fréquence de 66.7% a été signalée par HANSON *et al.* (2011), 25% pour PESAVENTO *et al.* (2007), 47.7% pour OZDEMIR et KEYVAN (2016), 43.4% pour ABDALRAHMAN *et al.* (2015) et 26.6% pour LI *et al.* (2015). Les lincosamides et les macrolides se sont avérés très efficaces. En effet, aucune des souches isolées n'est résistante à la lincomycine, la clindamycine, la spiramycine et l'érythromycine. Une résistance très faible à la lincomycine a été décrite en Algérie par CHAALAL (2013). Cependant, des taux élevés de résistance vis-à-vis de ces deux familles d'antibiotiques, ont été rapportés par PESAVENTO *et al.* (2007), HANSON *et al.* (2011) et LI *et al.* (2015). Ces différences s'expliquent par l'utilisation des antibiotiques comme compléments alimentaires pour les animaux d'élevage dans certains pays tels que les Etats-Unis (CORPET, 2000) alors qu'en Algérie, les antibiotiques sont réservés pour l'usage thérapeutique (TAHRAT *et al.*, 2005).

Toutes les souches isolées se sont révélées sensibles à l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole, ce qui est en accord avec les études menées aux Etats-unis (HANSON *et al.*, 2011 ; ABDALRAHMAN *et al.*, 2015) et en Italie (PESAVENTO *et al.*, 2007). Il en est de même pour le chloramphénicol qui présente une efficacité de 100%. Le même résultat est rapporté par CHAALAL (2013) et LI *et al.* (2015). De faibles résistances ont été par ailleurs décrites par OZDEMIR et KEYVAN (2015) et ABDALRAHMAN *et al.* (2015) avec des taux de 5.2% et 7.9% respectivement.

Une seule souche s'est avérée multirésistante, ce qui est équivalent à une fréquence de 3.03%. Ce résultat est nettement inférieur à ce qui est rapporté en Corée du sud (HEO *et al.*, 2008) et aux Etats Unis (WATERS *et al.*, 2011). Quatre souches (12.12%) présentent une résistance vis-à-vis de deux antibiotiques. Une valeur similaire a été rapportée par CHAALAL (2013) et PESAVENTO *et al.* (2007). 27 souches (81.8%) présentent une résistance pour un seul antibiotique. Un résultat inférieur a été décrit par HEO *et al.* (2008). Enfin, une seule souche (3.03%) ne présente aucune résistance vis-à-vis des antibiotiques testés. Un résultat supérieur est décrit par HEO *et al.* (2008) et TAN *et al.* (2014). Cette différence est probablement due à la politique d'utilisation des antibiotiques, qui est totalement différente d'un pays à l'autre.

## **Conclusion**

L'antibiorésistance liée à *S. aureus* est un problème de santé publique à l'échelle mondiale. Dans le but d'optimiser l'intervention des praticiens de santé et des instances concernées par la protection du consommateur, une surveillance de l'évolution des souches communautaires est donc nécessaire.

La prévalence de *S. aureus* dans la viande hachée et les pâtisseries à crèmes fraiche vendues dans la ville de Tizi-Ouzou, est estimée à 13.33% et 16.27% respectivement. Ces taux relativement élevés soulignent l'importance des aliments dans la transmission interhumaine et entre l'animal et l'homme, des agents pathogènes tels que *S. aureus*. En outre, la présence de souches résistantes dans les échantillons analysés, implique que les aliments peuvent jouer un rôle dans le transfert horizontal des gènes de résistance. Par conséquent, des mesures strictes doivent être prises par tous les acteurs intervenant dans la transformation et la commercialisation des denrées alimentaires afin d'améliorer la qualité hygiénique de celles-ci.

A partir de là, des études pour déterminer la prévalence de *S. aureus* dans d'autres matrices alimentaires, le type d'agents pathogènes présents dans les différents produits alimentaires, ainsi que l'origine de leur contamination, peuvent être envisagées.

## **Bibliographie**

**ABDALRAHMAN, L. S., WELLS, H., FAKHR, M.K.** 2015. « *Staphylococcus aureus* Is More Prevalent in Retail Beef Livers than in Pork and Other Beef Cuts », *Pathogens*, 4, 182-198.

**AKKOU, M., ANTRI, K., BACHTARZI, M.A., BES, M., TRISTA, A., DAUWALDER, O., KAIDI, R., MEUGNIER, H., TAZIR, M., ETIENNE, J., LAURENT, F., ET RAMDANI-BOUGUessa, N.** 2016. « Phenotypic and Genotypic Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains Associated with Bovine Mastitis and Nasal Carriage of Workers in Contact to Animals in Algeria », *Pakistan Veterinary Journal*, 36 (2), 184-188.

**ALDRED, K.J., KERNS, R.J. et OSHEROFF N.** 2014. « Mechanism of Quinolone Action and Resistance », *Biochemistry*, 53, 1565-1574.

**ARGUDIN, M.A., MENDOZA, M.C. et RODICIO, M.R.** 2010. « Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins », *Toxins*, 2, 1751-1773.

**Autorité Européenne pour la Sécurité Alimentaire.** 2009. « Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Commission on Assessment of the Public Health significance of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods ». *The EFSA Journal*, 993, 1-73.

**BAMGBOLA, O.** 2016. « Review of vancomycin-induced renal toxicity: an update », *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 07 (3), 136-147.

**BARBER, M. et ROZWADOWSKA-DOWZENKO, M.** 1948. « Infection by Penicillin-Resistant *Staphylococci* », *The Lancet*, 641-644.

**BAUD O. et GOURDON F.** 2009. « Antibio-guide », C. Clin, Clermont Ferrand.

**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.

**BENNETT, S. D., WALSH, K. A., et GOULD, V.** 2013. « Foodborne disease outbreaks caused by *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*—United States, 1998–2008 », *Clinical Infectious Diseases*, 57, 425–433.

**BEN ZAKOUR, N., PETIT, M-A., LE LOIR, Y.** 2010. « Variabilité génomique des souches de *Staphylococcus aureus* », in « *Staphylococcus aureus* », Tec et Doc, Paris.

**BERGER-BÄCHI, B.** 1997. «  $\beta$ -Lactam Resistance », *Médecine des Maladies Infectieuses*, 27, 201-206.

**BHATTACHARJEE, M.K.** 2016. « Chemistry of Antibiotics and Related Drugs », Springer, Suisse.

**BHUNIA, A.K.** 2008. « Foodborne Microbial Pathogens : Mechanisms and Pathogenesis », Springer, New York.

**BOISSET, S. et VANDENESCH, F.** 2010. « Les Facteurs de Virulence Autres que les Entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », Tec et Doc, Paris.

- BONECA, I.G. et CHIOSIS, G.** 2003. « Vancomycin Resistance : Occurrence, Mechanisms and Strategies to Combat it », *Expert Opin. Ther. Targets*, 7 (3), 311-328.
- BUSHBY, S.R.M.** 1983. « Antibacterial Activity », in « Handbook of Experimental Pharmacology, 64 », Springer, New York.
- BYRD-BREDBENNER, C., BERNING, J., MARTIN-BIGGERS, J., ET QUICK V.** 2013. « Food Safety in Home Kitchens: A Synthesis of the Literature », *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10, 4060-4085.
- 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.
- CHAALAL, W.** 2013. « Occurrence et Profil d'Antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés de Produits alimentaires ». Mémoire de magister, Université d'Es-Senia, Oran.
- CHAALAL, W., AGGAD, H., SAIDI, N., ET KIHAL, M.** 2014. « Prevalence and Antimicrobial Resistance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw Meat and Bovine Milk in Algeria », *Adv. Environ. Biol.*, 8 (1), 1-5.
- CHAALAL, W., AGGAD, H., ZIDANE, K., SAIDI, N., ET KIHAL, M.** 2016. « Antimicrobial Susceptibility Profiling of *Staphylococcus aureus* Isolates from Milk », *British Microbiology Research Journal*, 13 (1), 1-7.
- CHAMBERS, H.F.** 2001. « The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus*? », *Emerging Infectious Diseases*, 7 (2), 178-182.
- 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.
- 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*  $\beta$ -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.
- CORPET, D.E.** 2000. « Mécanismes de la Promotion de Croissance des Animaux par les Additifs Alimentaires Antibiotiques », *Revue Méd Vét*, 151 (2), 99-104.
- 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.
- CRAGO, B., FERRATO, C ., DREWS, S.J ., SVENSON, L.W., TYRRELL, G., LOUIE, M.** 2012. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. Aureus* (MRSA)

in Food Samples Associated With Foodborne Illness in Alberta, Canada From 2007 to 2010. *Food Microbiology* 32 (1), 202-205.

**CUNY, C., FRIEDRICH, A., KOZYTSKA, S., LAYER, F., NÜBEL, U., OHLSEN, K., STROMMINGER, B., WALTHER, B., WIELER, L., WITTE, W.** 2010. « Emergence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Different Animal Species », *International Journal of Medical Microbiology*, 300, 109–117.

**DAMON, H.A., SOUSSY, C.J. et COURVALIN, P.** 1998. « Characterization of Mutations in the *rpoB* Gene That Confer Rifampin Resistance in *Staphylococcus aureus* », *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42 (10), 2590-2594.

**DE BOER, E., ZWARTKRUIS-NAHUIS, J.T.M., WIT, B., HUIJSDENS, X.W., DE NEELING, A.J., BOSCH, T., VAN OOSTEROM, R.A.A., VILA, A., HEUVELINK, A.E.** 2009. « Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Meat », *International Journal of Food Microbiology*, 134, 52-56.

**DE BUYSER, M.L.** 1991. « Les Staphylocoques Coagulase-Positifs », in : « Techniques d'Analyse et de Contrôle dans les Industries Agroalimentaires », 2<sup>ème</sup> édition, Tec & Doc, Paris.

**DE BUYSER, M.L.** 1996. « Les Staphylocoques », in « Microbiologie Alimentaire : Aspect Microbiologique de la Sécurité et de la Qualité des Aliments », Tec et Doc, Paris.

**DE BUYSER, M.L. et HENNEKINNE, J.A.** 2010. « Culture en Laboratoire, Méthodes d'Isolement et Détection », in « *Staphylococcus aureus* », Tec et Doc, Paris.

**DE BUYSER, M.L. et SUTRAT, L.** 2005. « *Staphylococcus aureus* », In : « Bactériologie Alimentaire : Compendium d'Hygiène des Aliments », 2<sup>ème</sup> édition, Economica, Paris.

**DEBORAH, J.Z., CHARLES, W.S., DOUGLAS, S.K.** 1992. « Characterization of Four  $\beta$ -Lactamases Produced by *Staphylococcus aureus* », *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36 (02), 440-445.

**DELBÈS, C.** « Habitat », in « *Staphylococcus aureus* », Tec et Doc, Paris.

**DONNIO, P.Y.** 2010. « Sensibilité de la Bactérie aux Agents Bactériostatiques ou Bactéricides » in « *Staphylococcus aureus* », Tec et Doc, Paris.

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

**EVENSON, M.L., HINDS, M.W., BERNSTEIN, R.S., et BERGDOLL, M.S.** 1988. « Estimation of Human Dose of Staphylococcal Enterotoxin A from a Large Outbreak of Staphylococcal Food Poisoning Involving Chocolate Milk », *International Journal of Food Microbiology*, 7, 311-316.

**FLOSS, H.G., et YU, T.W.** 2005. « Rifamycins-Mode of Action, Resistance, and Biosynthesis », *Chemical Review*, 105 (2), 621-632.

**FREEMAN-COOK, L., et FREEMAN-COOK, K.** 2006. « *Staphylococcus aureus* Infections », Chelsea House Publishers, Philadelphia.

**GARDETE, S., et TOMASZ, A.** 2014. « Mechanisms of Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus* », *The Journal of Clinical Investigation*, 124 (7), 2836-2840.

- GOLDSTEIN, B, P.** 2014. « Resistance to Rifampicin: a Review », *The Journal of Antibiotics*, 67, 625-630.
- GOULD, I. M.** 2006. « Costs of Hospital-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and its Control », *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28, 379-384.
- GRAHAM, P. L. 3<sup>rd</sup>, LIN, S. X., ET LARSON, E. L.** 2006. « A U.S. population-based survey of *Staphylococcus aureus* colonization », *Annals of Internal Medicine*, 144 (5), 318–325.
- GUNDOGAN, N., CITAK, S., YUCEL, N., DEVREN, A.** 2005. « A Note On The Incidence and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated From Meat and Chicken Samples ». *Meat Science*, 69, 807-810.
- HAMMES, W.P., et NEUHAUS, F.C.** 1974. « On the Mechanism of Action of Vancomycin: Inhibition: of Peptidoglycan Synthesis in *Gaffkya homari* ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 6 (6), 722-728.
- HANSON, B.M., DRESSLER, A.E., HARPER, A.L., SCHEIBEL, R.P., WARDYN, S.E., ROBERTS, L.K., KROEGER, J.S., SMITH, T.C.** 2011. « Prevalence of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on Retail Meat in Iowa », *Journal of Infection and Public Health*, 4, 169-174.
- HEO, H.J., KU, B.K., BAE, D.H., PARK, C.K., YOUNG, J.L.** 2008. « Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated From Domestic and Imported Raw Meat in Korea », *Korean J Vet Res*, 48 (1), 75-81.
- HIRAMATSU, K.** 2001. « Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* : a New Model of Antibiotic Resistance », *The Lancet Infectious Diseases*, 147-155.
- HU, D.L., et NAKANE, A.** 2013. « Mechanisms of Staphylococcal Enterotoxin-Induced Emesis », *European Journal of Pharmacology*.
- 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), 2014-2023.
- ITO, T., KUWAHARA-ARAI, K., KATAYAMA, Y., UEHARA, Y., HAN, X., KONDO, Y., HIRAMATSU, K.** 2014. « Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) Analysis of MRSA » in « Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Protocols », Second edition, Humana Press, Minnesota.
- JOFFIN, C., et JOFFIN, J.N.** 2010. « Microbiologie Alimentaire », Scérén, CRDP Aquitaine.
- 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), 2733-2737.
- KADARIYA, J., SMITH, T.C., et THAPALIYA, D.** 2014. « *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease : An Ongoing Challenge in Public Health », *BioMed Research International*, 2014, 01-09.

- KAMAL, R.M., BAYOUMI, M.A., ABD EL AAL, S.F.A.** 2013. « MRSA Detection in Raw Milk, some Dairy Products and Hands of Dairy Workers in Egypt, A Mini-Survey », *Food Control*, 33, 49-53.
- KAMIO, Y., TOMITA, T., et KANEKO, J.** 2002. « Pore-forming Cytolysins  $\alpha$ - and  $\gamma$ -Hemolysins and Leukocidin from *Staphylococcus aureus* », in « *Staphylococcus aureus* Infection and Disease », Kluwer Academic Publishers, New York.
- KATAYAMA, Y., ITO, T., et HIRAMATSU, K.** 2000. « A New Class of Genetic Element, *Staphylococcus* Cassette Chromosome *mec*, Encodes Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* », *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44 (6), 1549-1555.
- KIRBY, W.M.M.** 1944. « Extraction of a Highly Potent Penicillin Inactivator from Penicillin Resistant *Staphylococci* », *Science*, 99 (2579), 452-453.
- KITAI, S., SHIMIZU, A., KAWANO, J., SATO, E., NAKANO, C., UJI, T., KITAGAWA, H.** 2005. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. *Journal of Veterinary Medicine* 67, 107-110.
- KLEIN, E., SMITH, D.L., ET LAXMINARAYAN, R.** 2007. « Hospitalizations and Deaths Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999–2005 », *Emerging Infectious Diseases*, 13 (12), 1840-1846.
- 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.
- KOTZEKIDOU, P.** 2013. « Microbiological Examination of Ready-to-Eat Foods and Ready-to-Bake Frozen Pastries from University Canteens », *Food Microbiology*, 34, 337-343.
- KWON, N, H., PARK, K, T., JUNG, W, K., YOUN, H, Y., LEE, Y., KIM, S, H., BAE, W., LIM, J, Y., KIM, J, Y., KIM, J, M., HONG, S, K. PARK, Y, H.** 2006. « Characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness », *Veterinary Microbiology* 117, 304-312.
- LAMBERT, P.A.** 2005. « Bacterial Resistance to Antibiotics : Modified Target Sites », *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1471-1485.
- LE MINOR, L., ET VERON, M.** 1982. « Bactériologie Médicale », Flammarion, Paris.
- LEVIN, D.P.** 2006. « Vancomycin : a History », *Clinical Infectious Diseases*, S5-S12.
- LIGON, B.L.** 2004. « Penicillin: Its Discovery and Early Development », *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 15 (1), 52-57.
- LIMA, G.C., LOIKO, M.R., CASARIN, L.S., et TONDO, E.C.** 2013. « Assessing the Epidemiological Data of *Staphylococcus aureus* Food Poisoning Occurred in the State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil », *Brazilian Journal of Microbiology*, 44 (3), 759-763.

- LING1, L.L., SCHNEIDER, T., PEOPLES, A.J., SPOERING, A.L., ENGELS, I., CONLON, B.P., MUELLER, A., SCHÄBERLE, T.F., HUGHES, D.E., EPSTEIN, S., JONES, M., LAZARIDES, L., STEADMAN, V.A., COHEN, D.R., FELIX, C.R., FETTERMAN, K.A., MILLETT, W.P., NITTI, A.G., ZULLO, A.M., CHEN, C., ET LEWIS, K.** 2015. « A New Antibiotic Kills Pathogens without Detectable Resistance », *Nature*, 517, 455-459.
- 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.
- LOZANO, C., GHARSA, H., BEN SLAMA, K., ZARAZAGA, M., TORRES, C.** 2016. « *Staphylococcus aureus* in Animals and Food : Methicillin Resistance, Prevalence and Population Structure. A Review in the African Continent ». *Microorganisms*, 4 (12), 1-19.
- LYON, B., et SKURRAY, R.** 1987. « Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* : Genetic basis ». *American Society for Microbiology*, 51 (1), 88-134.
- MACIAS, E.S., PEREIRA, F.A., RIETKERK, W., SAFAI, B.** 2011. « Superantigens in Dermatology », *J Am Acad Dermatol*, 64 (3), 455-472.
- MARTIN, E., LINA, G., DUMITRESCU, O.** 2014. « *Staphylococcus aureus* ». *Encyclopedia of Food Microbiology*, 3, 501-507.
- MCHUGH, C.G., ET RILEY, L.W.** 2004. « Risk Factors and Costs Associated With Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections ». *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 25 (5), 425-430.
- NAUCIEL, C. et VILDÉ, J.L.** 2005. « *Bactériologie Médicale* », 2<sup>e</sup> édition, Masson, Paris.
- NORMANNO, G., FIRINU, A., VIRGILIO, S., MULA, G., DAMBROSIO, A., POGGIU, A., DECASTELLI, L., MIONI, R., SCUOTA, S., BOLZONI, G., DI GIANNATALE, E., SALINETTI, A.P., LA SALANDRA, G., BARTOLI, M., ZUCCON, F., PIRINOT. SIAS, S., PARISI, A., QUAGLIA, N.C., et CELANO, G.V.** 2005. « Coagulase-Positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in Food Products Marketed in Italy », *International Journal of Food Microbiology*, 98, 73-79.
- NORMANNO, G., LA SALANDRA, G., DAMBROSIO, A., QUAGLIA, N.C., CORRENTE, M., PARISI, A., SANTAGADA, G., FIRINU, A., CRISSETTI, E., CELANO, G.V.** 2007 « Occurrence, Characterization and Antimicrobial Resistance of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* Isolated From Meat and Dairy Products », *International Journal of Food Microbiology*, 15, 290-296.
- OAKBERG, E.F., et LURIA, S.E.** 1947. « Mutations to Sulfonamide Resistance in *Staphylococcus aureus* », *Genetics*, 32, 249-261.
- OKANO, A., ISLEYA, N.A., ET BOGERA, D.L.** 2017. « Peripheral Modifications of [Ψ[CH<sub>2</sub>NH]Tpg<sup>4</sup>] Vancomycin with Added Synergistic Mechanisms of Action Provide Durable and Potent Antibiotics », *PNAS*, early edition, 1-10.
- OGSTON, A.** 1882. « Micrococcus Poisoning », *Journal Of Anatomy*, 24-58.

- OGSTON, A.** 1984. « On Abscesse ». *Reviews Of Infectious Diseases*, 6 (1), 122-128.
- ÖZDEMİR, H., et KEYVAN E.** 2016. « Isolation and Characterisation of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated From Beef, Sheep and Chicken Meat ». *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 63, 333-338.
- 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.
- PESAVENTO, G., DUCCI, B., COMODO, N., LO NOSTRO, N.** 2005. « Antimicrobial Resistance Profile Of *Staphylococcus aureus* Isolated From Raw Meat: A Research for Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ». *Food Control*, 18, 196-200.
- PETER, P., HEATHER, K.K., PABLO, F.P., PAUL, E.B.** 2010. « Staphylocoagulase », in : « Toxins and Hemostasis », Springer, New York.
- 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, L.M., HARLEY, J.P., KLEIN, D., BACQ-CALBERG, C.M., DUSART, J.** 2002. « Microbiologie », 5<sup>e</sup> édition, De Boeck.
- QIN, Z., MUNNOCH, J.T., DEVINE, R., HOLMES, N.A., SEIPK, R.F., WILKINSON, K.A., WILKINSON, B., HUTCHINGS, M.I.** 2017. « Formicamycins, Antibacterial Polyketides Produced by *Streptomyces formicae* Isolated from African *Tetraponera* Plant-Ants », *Royal Society of Chemistry*.
- ROBERTS, M. C. et SCHWARZ, S.** 2009. « Tetracycline and Chloramphenicol Resistance Mechanisms », in « Antimicrobial Drug Resistance : Mechanisms of Drug Resistance », Humana Press, New York.
- RUBIN, R.J., HARRINGTON, C.A., POON, A., DIETRICH, K., GREENE, J.A., ET MOIDUDDIN, A.** 1999. « The Economic Impact of *Staphylococcus aureus* Infection in New York City Hospitals ». *Emerging Infectious Diseases*, 5 (1), 9-17.
- 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.
- SCHNAPPINGER, D., HILLEN, W.** 1996. « Tetracyclines : Antibiotic Action, Uptake, and Resistance Mechanisms ». *Arch Microbiol*, 165, 359-369.

- SHARIFZADEH, A., HAJSHARIFI-SHAHREZA, M., et GHASEMI-DEHKORDI, P.** 2016. « Evaluation of Microbial Contamination and Chemical Qualities of Cream-filled Pastries in Confectioneries of Chaharmahal Va Bakhtiari Province (Southwestern Iran) », *Osong Public Health Res Perspect*, 7 (6), 346-350.
- SHINEFIELD, H.R., RUFF, N.L.** 2009. « Staphylococcal Infections: A Historical Perspective ». *Infect Dis Clin N Am*, 23, 1–15.
- SKINNER, D., et KEEFER, C.S.** 1941. « Significance of Bacteremia Caused by *Staphylococcus aureus* », *American Medical Association*, 68 (5), 851-875.
- SKÖLD, O.** 2000. « Sulfonamide Resistance : Mechanisms and Trends », *Drug Resistance Update*, 3, 155-160.
- SMELTZER, M.S., LEE, C.Y., HARIK, N., HART, M.E.** 2009. « Molecular Basis of Pathogenicity », in « *Staphylococci in Human Disease* », Wiley-BlackWell, Singapore.
- SMITH, J.T., et ZEILER HJ.** 1998. « History and Introduction », in « *Quinolone Antibacterials* », Springer, Berlin.
- SOLTAN DALLAL, M.M., SALEHIPOUR, Z., ESHRAGHI, S., MEHRABADI, J.F., BAKHTIARI, R.** 2010. « Occurrence and Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated From Meat and Dairy Products by PCR-RFLP », *Ann Microbiol*, 60, 189-196.
- SOMERVILLE, G.A., et PROCTOR, R.A.** 2009. « The Biology of Staphylococci », in : « *Staphylococci in Human Disease* », Wiley-BlackWell, Singapore.
- SPEER, B.S., SHOEMAKER, N.B., et SALYERS, A.A.** 1992. « Bacterial Resistance to Tetracycline : Mechanisms, Transfer, and Clinical Significance », *Clinical Microbiology Reviews*, 5 (5), 387-399.
- SRINIVASAN, A., DICK, D.J., PERL, M.T.** 2002. « Vancomycin Resistance in Staphylococci », *Clinical Microbiology Review*, 15 (03), 430-438.
- STRAHILEVITZ, J., et HOOPER, D.C.** 2009. « Resistance to Other Agents », in « *Staphylococci in Human Disease* », Wiley-BlackWell, Singapore.
- STRUELENS, M.J., et DENIS, O.** 2000. « *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline : Vers une Réponse Coordonnée à un Défi Persistant », *Eurosurveillance*, 5 (3), 25-38.
- SYNE, S.M., RAMSUBHAG, A., ET ADESIYUN, A. A.** 2013. « Microbiological Hazard Analysis of Ready-to-Eat Meats Processed at a Food Plant in Trinidad, West Indies », *Infection Ecology & Epidemiology*, 3.
- TAHRAT, N.Z., BOUHERAOUA, M., et BOUDOUANE, M.** 2005. « Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Vétérinaire ». Ministère de l'agriculture et ministère de la santé en collaboration avec de la population et de la réforme hospitalière.
- TALLY, F.P.** 1993. « Les Staphylocoques : Abscesses et Autres Maladies », in « *Microbiologies et Pathologies Infectieuses* », DeBoeck, Paris.

- TAN, S.L., LEE, H.Y., MAHYUDIN, N.A.** 2014. « Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Handler's Hands ». *Food Control*, 44, 203-207.
- TANAKA, M., WANG, T., ONODERA, Y., UCHIDA, Y., et SATO K.** 2000. « Mechanism of Quinolone Resistance in *Staphylococcus aureus* », *J Infect Chemother*, 6, 131-139.
- TANKOVIC, J., DAMON, H, A., LECLERCQ, R.** 1997. « Résistance aux Antibiotiques Autres que les  $\beta$ -lactamines chez *Staphylococcus aureus* ». *Méd Mal Infect*, 27, 207-216.
- THEN, R.L.** 1989. « Resistance to Sulfonamides », in « Handbook of Experimental Pharmacology, Vol 91 », Springer, New york.
- TODD, E.C.D.** 2014. « *Staphylococcus aureus* », *Encyclopedia of Food Safety*, 1, 530-534.
- VANDERHAEGHEN, W., HERMANS, K., HAESEBROUCK, F., et BUTAYE, P.** 2010. « Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Food Production Animals », *Epidemiol. Infect*, 138, 606-625.
- VAN LOO, I.H.M., DIEDEREN, B.M.W., SAVELKOUL, P.H.M., WOUDEBERG, J.H.C., ROOSEDAAL, R., VAN BELKUM, A., LEMMENS-DEN TOOM, N., VERHULST, C., VAN KEULEN, P.H.J., KLUYTMANS, J.A.J.W.** 2007. « Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Meat Products, the Netherlands », *Emerging Infectious Diseases*, 13 (11), 1753-1755.
- VAN LOO, I., HUIJSDENS, X., TIEMERSMA, E., NEELING, A., SANDE-BRUIJNSMA, N.V., BEAUJEAN, D., VOSS, A., ET KLUYTMANS, J.** 2007. « Emergence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* of Animal Origin in Humans », *Emerging Infectious Diseases*, 13 (12), 1834-1839.
- VERBRUGH, H, A.** 2009. « Colonization with *Staphylococcus aureus* and the Role of Colonization in Causing Infection », in : « *Staphylococci in Human Disease* », Wiley-BlackWell, Singapore.
- VINCENOT, F., SALEH, M., PRÉVOST, G.** 2008. « Les Facteurs de Virulence de *Staphylococcus aureus* », *Revue Francophone des Laboratoires*, 407, 61-69.
- WATERS, A, E., CONTENTE-CUOMO, T., BUCHHAGEN, J., LIU, CM., WATSON, L., PEARCE, K., FOSTER, J.T., BOWERS, J., DRIEBE, E.M., ENGELTHALER, D.M., KEIM, P.S., PRICE, L.B.** 2011. « Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* in US Meat and Poultry », *Clinical Infectious Diseases*, 52 (10), 1227-1230.
- WEHRLI, W., et STAEHELIN, M.** 1971. « Actions of the Rifamycins », *Bacteriological reviews*, 35 (3), 290-309.
- ZHOU, W., SHAN, W., MA, X., CHANG, W., ZHOU, X., LU, H., et DAI Y.** 2012. « Molecular Characterization of Rifampicin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates in a Chinese Teaching Hospital from Anhui, China », *BMC Microbiology*, 12 (240), 1-5.

## 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 tellurite de potassium.....	1ml
Émulsion de jaune d'œuf.....	5ml

#### • Muller Hinton

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

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

Suite annexe 01 :

- **Eau peptonée tamponnée**

bacto peptone.....20 g  
NaCl.....5 g  
Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>.....9 g  
K H<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>.....1,5 g  
Eau D..... 1000 ml  
pH = 7,2

**Préparation** : 20g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 mn.

- **Gélose à ADN**

Hydrolysate tryptique de caséine.....20 g  
ADN.....2 g  
NaCl.....5 g  
Gélose.....12 g  
Eau D.....1000 ml

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

- **Bouillon cœur-cerveille**

Extrait cœur- cerveau.....17g  
Peptone pancréatique de gélatine.....10g  
Na Cl.....5g  
Phosphate disodique.....2.5g  
Glucose.....2g

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

Pour l'obtention du milieu solide BHI, 20g d'agar bactériologique ont été additionnés à 1L de bouillon BHIB lors de sa préparation.

**Annexe 02 : Résultats des tests biochimiques sur l'ensemble des colonies caractéristiques.**

	<b>Catalase</b>	<b>ADNase</b>	<b>Coagulase</b>	<b>VP</b>	<b>NR</b>	<b>Code</b>
E19VH	+	-	-	+	+	/
E21VH (1)	+	+	+	+	+	S 125
E21VH (2)	+	NT	NT	-	+	/
E21VH (3)	+	-	NT	NT	NT	/
E21VH (4)	+	-	-	+	+	/
E21VH (5)	+	-	-	+	+	/
E25VH	+	+	+	+	+	S 127
E26VH	+	-	NT	NT	NT	/
E27VH	+	+	+	+	+	S 126
E34VH	+	+	+	+	+	S 128
E36VH	+	+	+	+	+	S 129
E39VH	+	-	NT	NT	NT	/
E43VH	+	+	+	+	+	S 130
E01P	+	-	NT	NT	NT	/
E02P	+	-	NT	NT	NT	/
E07P (1)	+	-	NT	NT	NT	/
E07P (2)	+	-	NT	NT	NT	/
E09P (1)	+	+	+	+	+	S 135
E09P (2)	+	+	+	+	+	S 136
E09P (3)	+	+	+	+	+	S 137
E09P (4)	+	+	+	+	+	S 138
E17P	+	-	NT	NT	NT	/
E19P (1)	+	NT	NT	NT	NT	/
E19P (2)	+	+	+	+	+	S 139
E20P (1)	+	NT	-	-	+	/
E20P (2)	+	-	NT	NT	NT	/
E21P	+	-	NT	NT	NT	/
E01C	+	NT	-	-	+	/
E02C (1)	+	+	+	+	+	S 175
E02C (2)	+	+	+	+	+	S 176
E02C (3)	+	+	+	+	+	S 177
E02C (4)	+	+	+	+	+	S 178
E02C (5)	+	+	+	+	+	S 179
E03C (1)	+	+	+	+	+	S 180
E03C (2)	+	+	+	+	+	S 181
E03C (3)	+	+	+	+	+	S 182
E03C (4)	+	+	+	+	+	S 183
E03C (5)	+	+	+	+	+	S 184
E06C (1)	+	+	+	+	+	S 185
E06C (2)	+	+	+	+	+	S 186
E06C (3)	+	+	+	+	+	S 187
E06C (4)	+	+	+	+	+	S 188
E07C (1)	+	+	+	+	+	S 189
E07C (2)	+	+	+	+	+	S 190
E07C (3)	+	+	+	+	+	S 191

Suite annexe 02 :

E07C (4)	+	+	+	+	+	S 192
E13C	+	NT	-	+	+	/
E17C (1)	+	+	+	+	+	S 193
E17C (2)	+	+	+	+	+	S 194
E17C (3)	+	+	+	+	+	S 195
E17C (4)	+	+	+	+	+	S 196
E18C	+	NT	-	-	-	/

**Légende** : +, test positif ; -, test négatif ; NT, non testé ; VP, production d'acétoïne ; NR, nitrate réductase.

**Annexe 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 2015
	Oxacilline	≥ 13	11-12	≤ 10	CLSI 2006
	Céfoxitine	≥ 20	-	≤ 19	CLSI 2006
Aminoglycoside	Gentamycine	≥ 15	13-14	≤ 12	CLSI 2015
	Néomycine	≥ 17	-	< 15	CASFM 2013
	Tobramycine	≥ 15	13-14	≤ 12	CLSI 2015
Macrolides	Erythromycine	≥ 23	14-22	≤ 13	CLSI 2015
	Spiramycine	≥ 24	-	< 19	CASFM 2013
Lincosamides	Lincomycine	≥ 21	-	< 17	CASFM 2013
	Clindamycine	≥ 21	15-20	≤ 14	CLSI 2015
Glycopeptide	Vancomycine	≥ 15	-	-	CLSI 2006
Tétracyclines	Tétracycline	≥ 19	15-18	≤ 14	CLSI 2015
Quinolones	Ofloxacin	≥ 18	15-17	≤ 14	CLSI 2015
Phénicol	Chloramphénicol	≥ 18	13-17	≤ 12	CLSI 2015
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	≥ 16	11-15	≤ 10	CLSI 2015

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

	P	N	OXC	SP	SXT	TMN	TET	DFX	FOX	ERY	MY	CMN	CHL	CN	VA
<b>S125</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S126</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
<b>S127</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S128</b>	R	S	S	I	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S129</b>	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S130</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S135</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S136</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S137</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S138</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S139</b>	R	R	S	I	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S175</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S176</b>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S177</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S178</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S179</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S180</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S181</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S182</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S183</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S184</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S185</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S186</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S187</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S188</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S189</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S190</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S191</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S192</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S193</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S194</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S195</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>S196</b>	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S