

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

## **Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**



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

### ***Mémoire de fin d'étude***

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

Option : Microbiologie Appliquée

## **Portage de *S. aureus* chez le bovin laitier et le caprin. Caractérisation phénotypique des isolats (Région de Tizi-Ouzou et de Bouira)**

### **Présenté par :**

- *M<sup>elle</sup> DJEBBAR Lysa*
- *M<sup>elle</sup> MEGROUS Salma*

Soutenu le 11 /07 /2019 devant le jury :

- Président : *M<sup>elle</sup> OUSSAID. S., MCB à l'UMMTO*
- Encadrant : *Mr TITOUCHE. Y., MCB à l'UMMTO*
- Examinateur : *Mr BOUACEM. K., MCB à l'UMMTO*
- Examinatrice : *M<sup>elle</sup> ASMANI. K., MCB à l'UMMTO*

***Promotion : 2018/2019***

## **Remerciements**

*On remercie avant tous, Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes les longues années d'études afin qu'on puisse arriver là.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à :*

***Notre encadreur Mr TITOUCHE Y.***

*Nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail. Nous avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçues en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance. La pertinence de vos remarques et la justesse de vos corrections sont pour nous un exemple de rigueur. Veuillez, cher Maître, trouver dans ce modeste travail l'expression de notre haute considération, de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.*

***Aux membres du jury***

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury : M<sup>elle</sup> OUSSAID, Mr BOUACEM et M<sup>elle</sup> ASMANI pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

***Aux vétérinaires***

*Notre profonde et sincère gratitude et reconnaissance s'adresse à Melle SMAINI Farida, M<sup>elle</sup> MESSLME Aïcha et à Mr BELKACEM khaled. On les remercie pour leur gentillesse, leur disponibilité, leurs compétences scientifiques, leurs qualités humaines, ainsi que pour leurs inestimables conseils.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A tous les membres de ma famille,*

*En particulier mes parents. Je souhaiterais aujourd'hui leur exprimer toute ma gratitude. Vous avez toujours cru en moi et m'avez laissé libre de mes choix, je ne vous remercierai jamais assez pour cela.*

*A mon cher frère,*

*Je te souhaite un avenir plein d'essor et de réussite.*

*A mon binôme,*

*A toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**LYSA**

*Je dédie ce modeste travail :*

*A la mémoire de mon grand père et ma grande mère*

*J'exprime mes sincères et profondes affections ...*

*Aux personnes les plus chers dans mon cœur, mes Parents*

*Pour leur amour, leur soutien constant, leurs encouragements, leurs sacrifices, leur aide tout au long de mon parcours et qui, sans eux ce travail n'aurait pas été possible. Que dieu les garde pour moi ;*

*À mes sœurs et frères Hawa, Manel , Moh T, Malke , Anis pour leurs aides, soutien, Encouragements et conseils*

*A mon cher binôme*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

**SALMA**

# Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction .....	1

## Partie 1 : SYNTHÈSES BIBLIOGRAPHIQUES

<b>CHAPITRE I : Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....	3
1. Historique.....	3
2. Taxinomie.....	3
3. Habitat et mode de transmission.....	5
4. Caractères bactériologiques .....	6
4.1. Caractères morphologique.....	6
4.2. Caractères cultureux .....	7
4.3. Caractères biochimiques .....	7
<b>CHAPITRE II : FACTEURS DE VIRULENCE DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i></b> ...	9
1. Les composants de la paroi .....	9
1.1. Capsule.....	10
1.2. Peptidoglycane .....	10
1.3. Acide téichoïque.....	10
2. Les facteurs d'invasion et d'adhésion .....	10
2.1. MSCRAM .....	10
2.2. SERAM .....	12
3. les enzymes .....	13
3.1. Catalase .....	13
3.2. Coagulase .....	13
3.3. Bêta -lactamases .....	13
3.4. FAME (Fatty Acid Modifying Enzym).....	13

3.5. Hyaluronidase.....	13
4. <b>Toxines</b> .....	14
4.1. Exotoxines .....	14
4.2. Toxines superantigéniques .....	15

**CHAPITRE III : RESISTANCE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS AUX ANTIBIOTIQUES.....**

<b>1. Historique.....</b>	<b>18</b>
<b>2. Définitions .....</b>	<b>18</b>
2.1. Antibiotique .....	18
2.2. Résistance bactérienne .....	19
<b>3. Classification des antibiotiques et leur mode d'action.....</b>	<b>19</b>
<b>4. Modes de résistance aux antibiotiques .....</b>	<b>20</b>
<b>5. Résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....</b>	<b>20</b>
5.1.β-Lactamines .....	20
5.2. Glycopeptides .....	21
5.3. Aminoglycosides ou aminosides.....	23
5.4. Macrolides, lincosamides et synergystines (MLS) .....	24
5.5. Fluoroquinolones.....	25
5.6. Autres résistances .....	25

**Partie 2: PARTIE EXPERIMENTALE**

<b>CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>27</b>
<b>1. Matériels.....</b>	<b>27</b>
1.1. Matériel de prélèvement .....	27
1.2. Matériel biologique .....	27
1.3. Matériel de laboratoire .....	27
<b>2. Méthodes .....</b>	<b>28</b>
2.1. Objectifs de l'étude .....	28
2.2. Durée et lieu de l'étude .....	28
2.3. Population d'étude.....	28

2.4. Nature et nombre d'échantillons .....	29
2.5. Protocole du prélèvement.....	31
2.6. Analyse microbiologique .....	32
2.7. Antiogramme.....	35
2.8. Conservation des souches.....	36
<b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>38</b>
<b>1. Résultats.....</b>	<b>38</b>
1.1. Prévalence de <i>S. aureus</i> .....	38
1.2. Résistance des souches de <i>S. aureus</i> isolées aux antibiotiques.....	39
1.3. Taux d'isolement des souches SARM.....	39
<b>2. Discussion.....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Répartition des taux de portage du <i>S. aureus</i> au niveau du corps humain.....	6
<b>Figure 2 :</b> <i>Staphylococcus aureus</i> avec coloration de Gram au grossissement 10x100. ....	7
<b>Figure 3 :</b> Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> .....	9
<b>Figure 4 :</b> Mécanisme d'action de la protéine A de <i>S. aureus</i> . ....	11
<b>Figure 5 :</b> Mécanisme d'action des superantigènes de <i>S. aureus</i> .....	15
<b>Figure 6 :</b> Mécanisme d'action des exfoliatines.....	17
<b>Figure 7 :</b> Introduction, utilisation des antibiotiques et acquisition des résistances par ..... <i>S. aureus</i> .....	18
<b>Figure 8 :</b> Résistance de <i>S. aureus</i> aux bêta-lactamines.....	21
<b>Figure 9 :</b> Mode d'action de la vancomycine et mécanisme de résistance de <i>S. aureus</i> à cet antibiotique.....	23
<b>Figure 10 :</b> Répartition géographique des des régions de prélèvements (Tizi-Ouzou, Bouira). .....	29
<b>Figure 11 :</b> Ecouvillonnage nasal.....	32
<b>Figure 12 :</b> Prélèvement du lait.....	32
<b>Figure 13 :</b> Diagramme récapitulatif de la méthodologie suivie pour la recherche et l'identification de <i>S. aureus</i> . ....	37
<b>Figure 14 :</b> SASM (photo prise au laboratoire).....	40

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Classification phénotypique des espèces et sous-espèces du genre <i>Staphylococcus</i> . .....	4
<b>Tableau II :</b> Caractères biochimiques de <i>S. aureus</i> . .....	8
<b>Tableau III :</b> Protéines de surface impliquées dans l'adhésion. ....	12
<b>Tableau IV :</b> Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> . .....	18
<b>Tableau V :</b> Lieu, nature et nombre de prélèvements. ....	30
<b>Tableau VI :</b> Nombre et type de prélèvements par fermes. ....	31
<b>Tableau VII :</b> Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme. ....	35
<b>Tableau VIII :</b> Prévalence des <i>S. aureus</i> par type de prélèvements. ....	38
<b>Tableau IX :</b> Résistance des souches de <i>S. aureus</i> (n=32) vis-à-vis des antibiotiques testés. ....	39

## Liste des abréviations

**16S** : Svedberg (vitesse de sédimentation)

**ANT** : Aminosides-nucléotidyltransférases

**APH** : Phosphotransférase

**ARN** : Acide ribonucléique

**ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique

**ATB** : Antibiotique

**ATCC**: American Type Culture Collection

**BHI**: Brain Heart Infusion

**BHIB**: Brain Heart Infusion Broth

**BMR**: Bactéries multi-résistantes

**BP**: Baird Parker

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

**CHU**: Centre Hospitalier-Universitaire

**Clf**: Clumping factor

**CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute

**CMIC** Concentration minimale inhibitrice

**Cna** : Protéine de fixation au collagène

**DHFR** : Dihydrofolate-réductase

**DHPS** : Dihydroptéroate-synthétase

**Eap** : Extracellular adherence protein

**Efb** : Extracellular fibrinogen binding protein

**Emp** : Extracellular matrix binding protein

**Erm** : Erythromycin résistance méthylase.

**EF** : Exfoliatines

**FAME** : Fatty Acid Modifying Enzym

**FnBP** : Proteine de liaison à la fibrinectine

**GISA** : Glycopeptid Intermediate *Staphylococcus Aureus*

**IgG1** : immunoglobulines G

**LukF-PV** : Fast eluted Panton Valentine

**LukS-PV** : Slow eluted Panton Valentine

**MH** : Muller Hinton

**MLS** : Macrolides, Lincosamides etsynergystines

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

**PLP** : Protéines liant les pénicillines

**PLP2a** : Protéine liant les pénicillines 2a

**PM** : Poids moléculaire

**PVL** : Leucocidine de Panton-Valentine

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

**LA-SARM**: Livestock associated SARM (souches SARM associées aux élevages)

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

**SEs** : Entérotoxines staphylococciques

**SERAM** : Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules

**SCCmec** : Cassette chromosomique staphylococcique *mec*

**Spa** : Protéine A de surface

**TSCT** : Toxine du syndrome de choc toxique

**TSST1**: Toxic shock syndrome toxine 1

**TSYEA**: Tryptone Soja Yeast Extract Agar

**VISA** : Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus*

**VP** : Voges Proskauer

**VRSA** : Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*

## Résumé

Notre étude s'est déroulée de Février à Mai 2019, et avait pour objectifs d'étudier le portage nasal de *Staphylococcus aureus* chez les vaches laitières et les caprins et de mettre en évidence le risque sanitaire associé à la présence de souches multi-résistantes telles que les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM). Pour cela, 115 échantillons ont été collectés au niveau de deux régions (Tizi-Ouzou et Bouira) et soumis à la recherche de *S. aureus*. L'isolement a été effectué sur la gélose Baird Parker, suivi d'une identification biochimique des isolats. L'étude de la résistance aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur la gélose Mueller Hinton, selon les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute 2018 (CLSI).

La prévalence totale de *S. aureus* dans nos échantillons était de 29.57%. Néanmoins, 34 souches caractéristiques étaient isolées, parmi lesquelles 32 ont été identifiées comme étant des *S. aureus*. Des résistances relativement faibles ont été observées vis-à-vis de la pénicilline G, le chloramphénicol, la gentamicine et la néomycine avec des pourcentages de 18.75%, 3.13%, 6.25% et 25% respectivement. Aucune résistance vis-à-vis de la céfoxitine, l'érythromycine, le triméthoprime/sulfaméthoxazole, la tétracycline et l'ofloxacine n'a été observée. Aucune souche multirésistante n'a été isolée.

D'autres études prospectives sont nécessaires, pour une meilleure compréhension des facteurs de risque de portage nasal de *S. aureus*. L'élaboration d'un programme de prévention, basé sur l'application de bonnes pratiques d'hygiène et sur le dépistage continu du portage nasal, est le moyen efficace pour contrôler la diffusion des SARM à travers la chaîne de production.

**Mots clés :** *S. aureus*, portage nasal, résistance aux antibiotiques, SARM, vaches laitières, caprins.

## Introduction

La médecine humaine est confrontée depuis ces dernières années à l'émergence et à la dissémination rapide des bactéries multi-résistantes (BMR). Les impasses thérapeutiques devant les infections à BMR est une véritable menace pour la médecine humaine et vétérinaire (Messenger et al, 2014).

*Staphylococcus aureus* est un microorganisme faisant partie du microbiote naturel des humains et des animaux, principalement en colonisant la peau et les muqueuses nasales et buccales des sujets sains (Gharsa et al, 2012). Il est capable de causer des infections dans ces sites comprenant par exemple la folliculite, furoncles, impétigo, mammites, infections de plaies et le syndrome staphylococcique de la peau (Peacock et Paterson, 2015). Cependant, cet agent opportuniste peut causer des infections plus compliquées comme la bactériémie, la pneumonie, l'endocardite, l'ostéomyélite et le syndrome du choc toxique (Benito et al, 2015). Les maladies causées par ce pathogène versatile sont encore plus graves, si les souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) sont impliquées (Becker et al, 2015).

*S. aureus* est armé de facteurs de virulence pour inhiber un bon nombre de défenses que son hôte pourrait lui opposer. C'est en fait une véritable ingénierie dont dispose cette bactérie pour répondre aux périls d'un hôte hostile qui lui oppose : anticorps, phagocytose ou cytotoxicité. Parmi ces facteurs, on cite les protéines de surface, la capsule, les enzymes et les différentes toxines (De Boer et al, 2009).

Pendant longtemps, l'usage des antibiotiques restait une source de guérison « usage curatif » mais avec le temps il a connu d'autres pratiques que ça soit préventives chez les animaux sains ou bien comme un promoteur de croissance dans le but d'accélérer leur production et leur croissance. Les succès médicaux du siècle passé ont pu créer un faux sentiment de sécurité. On peut dire que l'un des moyens communs les plus efficaces pour protéger la vie humaine a été l'utilisation des antibiotiques (Nordmann, 2014), mais l'émergence de la résistance au sein des populations bactériennes a entraîné une réévaluation de cet optimisme (Kong et al, 2011). Chaque prescription d'antibiotiques a créé des pressions évolutives sélectives, comme les mutations génétiques qui ont permis à certaines bactéries de survivre, ce qui a poussé les professionnels à prendre des initiatives de haute importance, car cette antibiorésistance augmente le taux de bactéries multi-résistantes et engendre des impasses thérapeutiques réduisant les possibilités de traitement en cas d'infection. Le risque majoritairement inquiétant est la transmission des bactéries multi-résistantes ou bien de leurs

gènes de résistance dans l'environnement, ainsi que le transfert de souches multi-résistantes de l'animal vers l'homme ou *vice versa*.

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

Peu de données sont disponibles concernant les souches de *S. aureus* circulant dans les élevages, de telles investigations pourront fournir des informations de grande importance sur le plan épidémiologique. Ainsi, cette étude vise à répondre aux questions suivantes :

1. Quelle est la prévalence du portage du *Staphylococcus aureus* chez la population d'animaux étudiée ?
2. Quelle est la sensibilité de ces souches isolées à quelques molécules d'antibiotiques utilisées en thérapeutique vétérinaire et humaine ?
3. Quelle est la prévalence des SARM ?

Ce manuscrit comporte deux parties : la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui décrit l'espèce *S. aureus*, sa virulence et sa résistance aux antibiotiques. La seconde partie est réservée à la méthodologie suivie pour la réalisation de cette étude, aux résultats obtenus et à leur discussion.

---

***SYNTHESE***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

---

## 1. Historique

En 1881, Alexander Ogston isola la bactérie à partir d'abcès post-opératoires et reproduisit l'infection chez l'animal. Ces amas sont à l'origine du nom qu'il lui donna, « *staphyle* » désignant la grappe de raisin en grec (Le Loir et Gautier, 2010). Puis, en 1884 Rosenbach obtient des cultures pures de ces bactéries et il divisa le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon la couleur formée par les colonies, il montra que *S. aureus* était responsable de furoncles et d'infections des plaies alors que *S. epidermidis* colonisait la peau, c'est à ce moment, que le nom de l'espèce « *aureus* » (Or en latin), a été donné pour décrire les colonies jaune doré obtenues (Chakraborty et al, 2012). La même année, Gram mit au point une méthode de coloration des bactéries à partir du violet de gentiane : les staphylocoques étaient classés parmi les cocci à Gram positif.

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 d'intoxications alimentaires à staphylocoques (Bhunja, 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 (Pellerin et al, 2010). 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).

## 2. Taxinomie

La classification des staphylocoques a été faite sur la base d'analyses des séquences des gènes codants pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S (Garrity et al, 2002).

Selon la 9<sup>ème</sup> édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classés comme suit :

**Règne :** *Bacteria*

**Division:** *Firmicutes*

**Classe :** *Bacilli*

**Ordre :** *Bacillales*

**Famille :** *Staphylococcaceae*

**Genre : *Staphylococcus***

La différenciation entre les Staphylocoques virulents et celle des flores commensales normales a été longtemps basée sur la production de la coagulase et ce depuis de nombreuses années faisant partie de l'arsenal diagnostique des microbiologistes (Curtis et al, 2015). On distingue ainsi sept espèces et sous espèces à coagulase positive dont *S. aureus*, et quarante-six à coagulase négative (Tableau I) (Le Loir et Gautier, 2010).

L'espèce *aureus* a été subdivisée en deux sous espèces *S. aureus subsp aureus* et *S. aureus Subsp anaerobius*. La première, (catalase positive) constitue la majorité des souches appartenant à cette espèce, tandis que la deuxième (catalase négative) est peu connue. En conséquence, seule *S. aureus* est traité dans pas mal de travaux (Pellerin et al, 2010 ; Loir et Gautier, 2010).

**Tableau I** : Classification phénotypique des espèces et sous-espèces du genre *Staphylococcus* (Le Loir et Gautier 2010).

Espèces et sous espèces à coagulase positive	Espèces et sous-espèces à coagulase négative	
<p>1. <i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>            2. <i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>            3. <i>S. delphini</i>            4. <i>S. hyicus</i>            5. <i>S. intermedius</i>            6. <i>S. lutrae</i>            7. <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i></p>	<p>1. <i>S. auricularis</i>            2. <i>S. capitis</i> subsp. <i>Capitis</i>            3. <i>S. capitis</i> subsp. <i>Ureolyticus</i>            4. <i>S. caprae</i>            5. <i>S. carnosus</i> subsp. <i>Carnosus</i>            6. <i>S. carnosus</i> subsp. <i>Utilis</i>            7. <i>S. chromogenes</i>            8. <i>S. condimenti</i>            9. <i>S. epidermidis</i>            10. <i>S. felis</i>            11. <i>S. haemolyticus</i>            12. <i>S. hominis</i> subsp. <i>Hominis</i>            13. <i>S. lugdunensis</i>            14. <i>S. muscae</i>            15. <i>S. pasteurii</i>            16. <i>S. piscifermentans</i>            17. <i>S. saccharolyticus</i>            18. <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>Schleiferi</i>            19. <i>S. simulans</i>            20. <i>S. warneri</i>            21. <i>S. vitulinus</i>            22. <i>S. pettenkoferi</i></p>	<p>26. <i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i>            27. <i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>            28. <i>S. equorum</i> subsp. <i>linens</i>            29. <i>S. gallinarum</i>            30. <i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>            31. <i>S. kloosii</i>            32. <i>S. nepalensis</i>            33. <i>S. saprophyticus</i>            34. <i>S. fleurettii</i>            35. <i>S. lentus</i>            36. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>            37. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>Rodentium</i>            38. <i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>Saprophyticus</i>            39. <i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>            40. <i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>            41. <i>S. succinus</i> subsp. <i>succinus</i>            42. <i>S. xylosus</i></p>

	<p>23. <i>S. simiae</i>  24. <i>S. arlettae</i>  25. <i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i></p>	<p>43. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>Sciuri</i>  44. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>lentus</i>  45. <i>S. pseudointermedius</i>  46. <i>S. pulvereri</i></p>
--	--	---

### 3. Habitat et mode de transmission

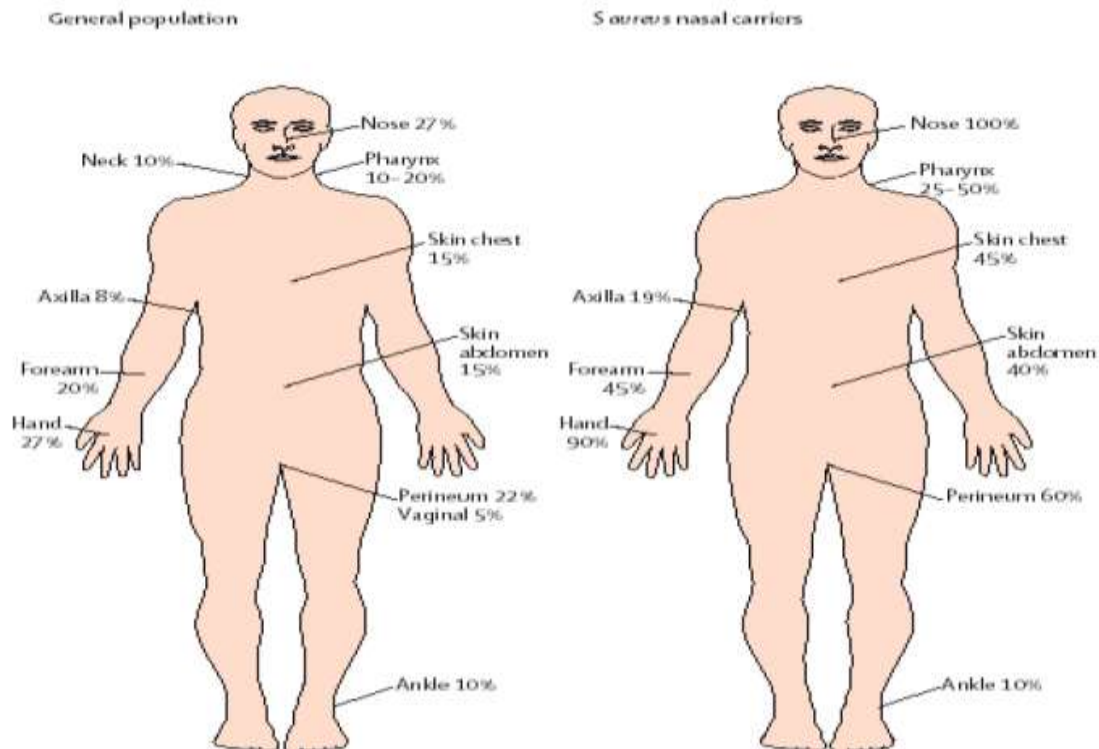
Grace à ces capacités d'adaptation et de résistance au stress, *S. aureus* est capable de survivre dans un large éventail d'habitats environnementaux qui font de lui un organisme ubiquitaire. On le retrouve dans l'air, le sol et les eaux (saprophyte) et il appartient à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'Homme et des animaux à sang chaud (Guiraud et Rosec, 2004).

Chez l'homme, il est principalement présent au niveau du tractus respiratoire supérieur, en particulier, dans les fausses nasales, au niveau du cuir chevelu et des mains (Watson et al, 2006).

Chez les bovins, *S. aureus* est localisé principalement au niveau du mufle (Delbés, 2010). On le retrouve dans de petites lésions cutanées et dans les manchons des machines à traire. La colonisation des trayons peut entraîner l'infection de la mamelle (Brisabois et al, 2003).

*S. aureus* se dissémine par intermittence à partir des sites de portage vers les zones humides comme les aisselles. Il est également capable de disséminer par aérosol sur la peau à partir du rhinopharynx (Hill, 1981).

*S. aureus* présente deux voies principales de transmission : Elle s'opère généralement par contact direct (manuportage). Plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux) (Isabelle Verdier, 2015).



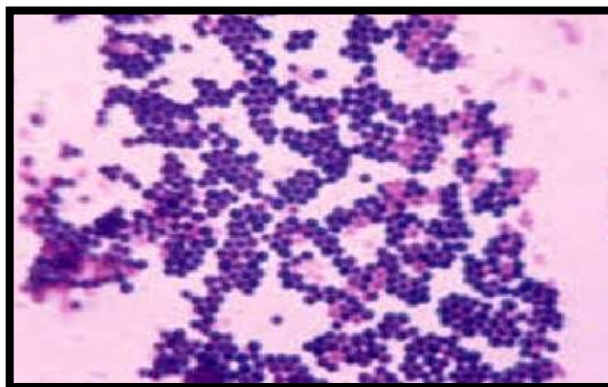
**Figure 1** : Répartition des Taux de portage du *S. aureus* au niveau du corps humain (Wertheim et al, 2005).

#### 4. Caractères bactériologiques

##### 4.1. Caractères morphologique

Les *S. aureus* sont des cocci à Gram positif, d'environ 0.8 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre isolés ou groupés en diplocoques, en courtes chaînettes ou en amas, ayant la forme de grappe de raisin, immobiles et non sporulés (Licois, 2010).

La majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture (Robert, 2013), d'autres forment des colonies mucoïdes entourées d'une pseudocapsule (Fauchere et Avril, 2002 ; De Buyser et Sutrat, 2005).



**Figure 2 :** *Staphylococcus aureus* après coloration de Gram au grossissement 10x100.  
(Fernandez et Turner, 2017).

#### 4.2. Caractères cultureux

*S. aureus* poussent aisément sur les milieux usuels (ordinaires) aéro-anaérobies facultatifs (Le Loir et Gautier, 2010). Il est thermosensible le fait qu'il est ralenti par le froid et tué par des températures élevées (détruit à 58°C pendant 60 minutes) (Le Minor et Veron, 1982). C'est une bactérie mésophile (37°C de croissance optimale), neutrophile (pH 7 optimal) et halophile (Se développe à de fortes concentrations de NaCl) (Guiraud et Rosec, 2004).

Sur milieu solide, les colonies de *S. aureus* sont lisses, rondes, opaques, colorées en jaune doré ou blanches, leur diamètre est compris entre 1 et 3mm. Sur milieu liquide, il présente un trouble homogène abondant avec dépôt et voile en surface (Le Minor et Veron, 1982). Les colonies cultivables sur gélose au sang peuvent être bêta-hémolytiques (Robert, 2013).

*S. aureus* se distingue de la majorité des autres staphylocoques par la production d'une coagulase, d'un pigment doré et par son caractère bêta-hémolytique sur milieu au sang.

#### 4.3. Caractères biochimiques

Selon Le Minor et Veron (1990), la recherche des activités biochimiques des staphylocoques est précieuse pour :

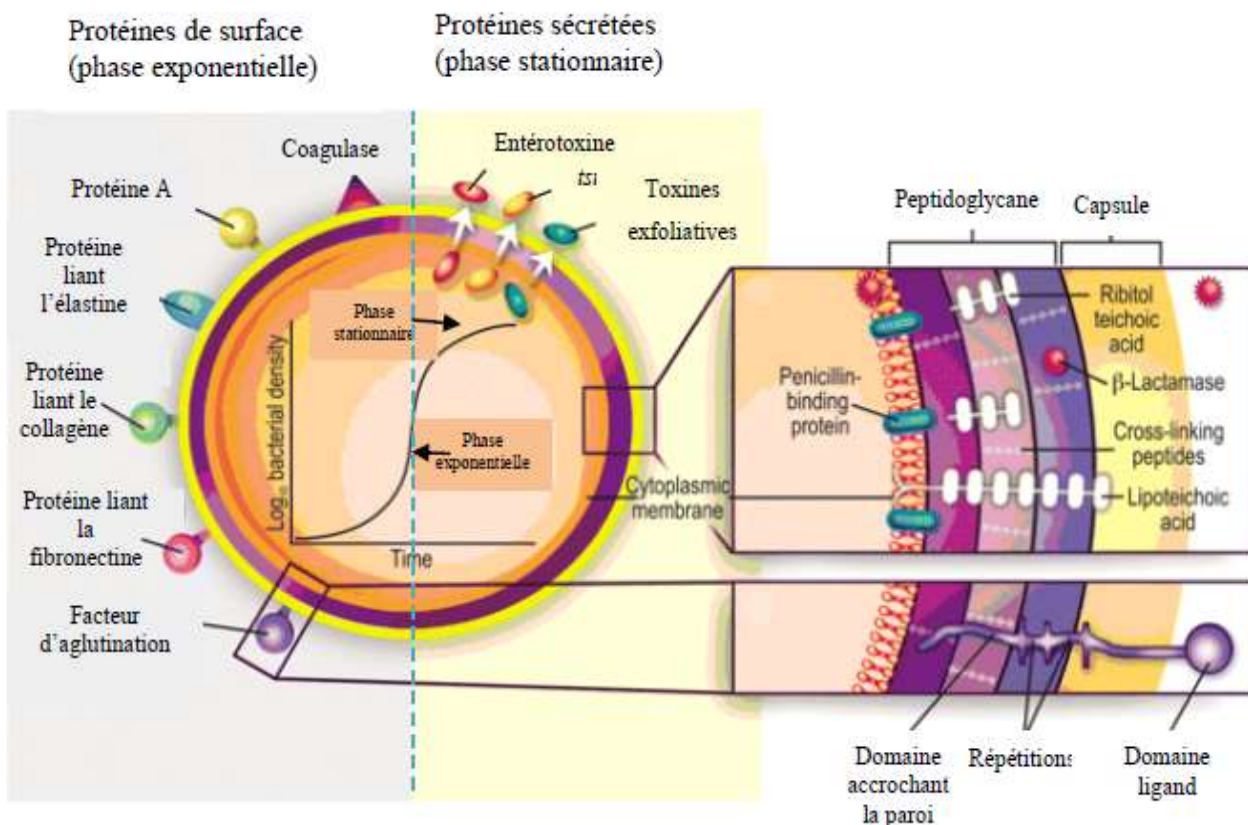
- Identifier le genre *Staphylococcus* ;
- Distinguer un Staphylocoque pathogène d'un non pathogène ;
- Préciser l'origine humaine ou animale d'un Staphylocoque ;

**Tableau II** : 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

Le pouvoir pathogène d'une souche est lié à l'expression de facteurs de virulence. La synthèse des facteurs de virulence chez *S. aureus* est biphasique, à la phase initiale de la croissance bactérienne, ce sont surtout les gènes codant pour des adhésines qui sont activés et à la phase secondaire, les gènes des toxines prennent le relais (Dufour et al, 2002 ; Bronner et al, 2004).



**Figure 3 :** Facteurs de virulence de *S. aureus* (Gordon et al, 2008).

## 2. Les composants de la paroi

Lorsque la capsule est dégradée, la paroi bactérienne devient la seconde barrière de protection de la bactérie. La paroi est composée en grande partie de peptidoglycanes et d'acide teichoïque (sert de point d'ancrage à la membrane plasmique).

### 1.1. Capsule

Les bactéries responsables d'infections invasives sont souvent capables de produire une capsule polysaccharidique. Les polysaccharides capsulaires de *S. aureus* ont permis sa classification en 11 sérotypes. Les sérotypes 5 et 8 sont les principaux rencontrés en pathologie humaine (Lowy, 1998 ; Durand et al, 2006). La majorité des staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM) appartiennent au type 5. La capsule permet une meilleure résistance des souches à l'opsonisation et à la phagocytose (Baggett et al, 2004).

### 1.2. Peptidoglycane

Chez *S. aureus*, le relargage de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infection locale provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines qui, en grande quantité, provoquent des lésions tissulaires (Chaby, 2010).

### 2.3. Acide téichoïque

Les acides téichoïques sont des polymères linéaires du ribitol phosphate (Baggett et al, 2004). Ils sont situés à la surface externe de la couche du peptidoglycane et donc facilement accessibles aux anticorps (Leclerc et al, 1995). Selon Xia et al (2010), les acides téichoïques assurent plusieurs rôles :

- La protection contre les antimicrobiens et le stress environnemental ;
- Le contrôle de l'activité enzymatique et la concentration cationique de l'enveloppe ;
- La liaison aux différents récepteurs et surfaces ;

## 2. Les facteurs d'invasion et d'adhésion

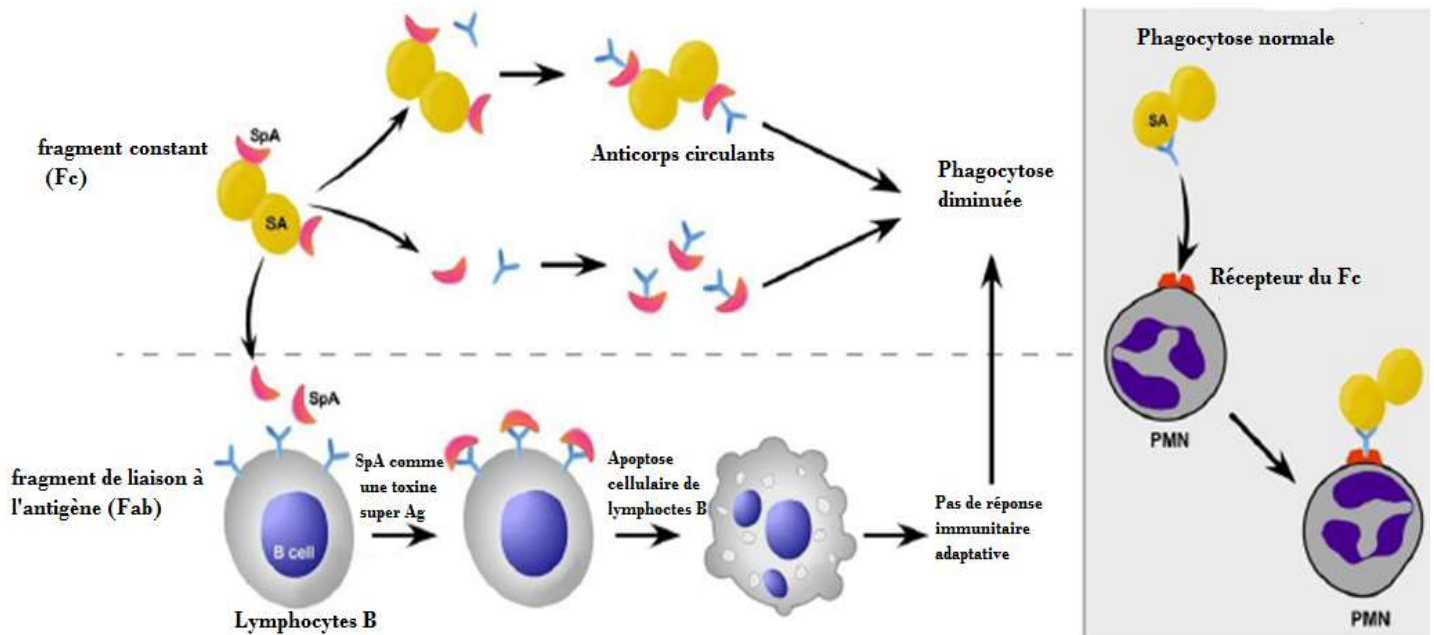
Des protéines sont fixées de manière covalente aux peptidoglycane : Les MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) et les SERAM (Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules).

### 2.1. MSCRAM

Les protéines MSCRAM «Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules» sont associées au peptidoglycane par des liaisons covalentes et ont des caractéristiques structurales communes (Foster et Hook, 1998). Les MSCRAM les plus étudiées sont :

➤ **La protéine A (spa) :**

Il s'agit d'une exoprotéine qui existe à la fois sous forme secrétée ou associée à la paroi (Boisset et Vandenesch, 2010). L'interaction de la protéine A avec les immunoglobulines G (IgG) empêche l'opsonisation dont le rôle est de faciliter la phagocytose par les plynocléaires neutrophiles (Foster, 2005).



**Figure 4 :** Mécanisme d'action de la protéine A de *S. aureus* (Kobayashi et al, 2013).

➤ **La protéine de fixation au collagène (Cna) :**

L'attachement au collagène est nécessaire et suffisant pour l'adhésion de *S. aureus* au cartilage. Ce récepteur du collagène pourrait constituer un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires à *S. aureus* (Buckingham et al, 2004).

➤ **La protéine de liaison à la fibronectine (FnBP):**

La fibronectine Permet au staphylocoque de s'accrocher aux cellules sous-endothéliales, soit à la membrane basale des vaisseaux sanguins (Batard et al, 2007).

➤ **Les protéines de liaison au fibrinogène ou clumping factor (Clf) :**

En plus de la coagulase " libre ", on retrouve une coagulase insoluble " liée ", à la surface des bactéries. C'est une protéine de surface qui se lie à la prothrombine de l'hôte et forme un complexe appelé staphylothrombine. La thrombine activée transforme donc le fibrinogène en fibrine (Baggett et al, 2004 ; Bronner et al, 2004).

**Tableau III :** Protéines de surface impliquées dans l'adhésion (Le Minor et Veron, 1990 ; Fauchere et Avril, 2002).

Protéines	Sites de liaison	Pathogénie
<i>Spa</i>	Facteur Von Willebrand	Infections intravasculaires
	Epithélium voies aériennes	Pneumonies
<i>Cna</i>	Collagène	Infections ostéoarticulaires
<i>FnBP</i>	Fibronectine	Infections sur corps étranger
<i>Clfa</i>	Fibrinogène	Plaies, Infections sur corps étranger

## 2.2. SERAM

Les SERAM sont des petites protéines de 60 à 72 KDa facilitant l'ancrage de *S. aureus* aux tissus. Ce groupe inclue, les *Eap* (Extracellular adherence protein), *Emp* (Extracellular matrix binding protein), *Efb* (Extracellular fibrinogen binding protein) ainsi que la coagulase. Les SERAM ont la particularité d'être sécrétées et fixées de manière non covalente à la paroi de la bactérie au niveau des protéines de la matrice extracellulaire (fibrinogène, fibronectine, la prothrombine, collagène,...etc). En plus de leur fonction d'adhésines, ces molécules possèdent des propriétés immunomodulatrices. Elles sont impliquées dans la pathogénèse des maladies endo et extra-vasculaires aiguës ou chroniques (Chavakis et al, 2005 ; Heilmann, 2011).

### 3. Enzymes

#### 3.1. Catalase

C'est une enzyme qui convertit le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) accumulé dans la cellule, résultant du métabolisme ou lors de la phagocytose, en molécule d'eau et d'oxygène (Berche et al, 1988).

#### 3.2. Coagulase

La coagulase est une protéine de 60KDa, possédant un domaine de liaison avec la prothrombine. La formation du complexe coagulase-prothrombine, appelé staphylothrombine, entraîne la polymérisation du fibrinogène en fibrine aboutissant à la formation de thrombus, provoquant ainsi la coagulation du sérum rendant la bactérie inaccessible au système de défense de l'hôte, ce qui empêche la phagocytose. Cette propriété est utilisée à des fins diagnostiques pour identifier *S. aureus* dans les laboratoires de microbiologie (Madigan et Martink, 2007 ; Boisset et Vandenesch, 2010).

#### 3.3. Bêta –lactamases

Elles inactivent les β-lactamines et jouent un rôle important dans la résistance des souches de staphylocoques à ces antibiotiques (EL Kouri et al, 1998).

#### 3.4. FAME (Fatty Acid Modifying Enzym)

Plus de 80% des *S. aureus* possédant une lipase présentent également une enzyme modifiant les acides gras bactéricides, nommés FAME (Lu et al, 2012). Ces enzymes favorisent la pénétration de la bactérie à travers la barrière cutanéomuqueuse. Les lipases clivent les acides gras de la peau, qui sont secondairement inactivés par l'enzyme FAME (Long et al. 2010).

#### 3.5. Hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile, agissant à pH acide, hydrolyse l'acide hyaluronique présent dans la matrice acellulaire du tissu conjonctif dont elle diminue la viscosité, ce qui a pour effet, de permettre la diffusion des staphylocoques dans les tissus (Le Minor et Veron, 1990 ; Avril et al, 2000).

#### 4. Toxines

*S. aureus* sécrète une grande diversité de toxines : des exotoxines, et des toxines Superantigéniques. Chacune de ces toxines est connue pour avoir un effet puissant sur les cellules du système immunitaire.

##### 4.1. Exotoxines

###### ➤ Hémolysine

Les hémolysines de *S. aureus* sont de trois types :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\delta$ , codées respectivement par les gènes *Hla*, *Hlb* et *Hlg*. Elles induisent la formation de pores dans la membrane des hématies, plaquettes, leucocytes et lymphocytes (Henry, 2017). Cela entraîne des échanges d'ions et de liquide entre la cellule et le milieu extracellulaire, provoquant l'éclatement de la cellule par perturbation de son osmolarité.

###### ✚ Hémolysine alpha ou alpha-toxine

L'hémolysine  $\alpha$  est une des toxines les plus puissantes caractérisées chez *S. aureus* (Song et al, 1996), de PM de 33 KDa et de PI de 8.55, thermostable et antigénique (Galmiche et Boquet, 2001). La toxine  $\alpha$  est sécrétée sous la forme d'un monomère soluble dans l'eau (Bien et al, 2011). Pour les animaux, elle est létale lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse. C'est aussi une neurotoxine puissante. Cette toxine est responsable de la formation d'une zone hémolytique autour d'une colonie de certains types de *S. aureus* sur une gélose au sang (Biljana et al, 2015).

###### ✚ Béta-hémolysine ou bêta-toxine

Elle est thermolabile de PM de 26 à 38 KDa et de PI de 9.4. Son activité hémolytique est remarquable par les conditions d'apparition, car elle est de type "chaud-froid": les érythrocytes soumis à son action à 37°C ne sont pas lysés sauf si on les refroidit à 4°C. Cette toxine est plus fréquemment synthétisée par les souches animales que par les souches humaines (Gras, 2006 ; Boisset et Vandenesch, 2010).

###### ✚ Delta-hémolysine ou delta-toxine

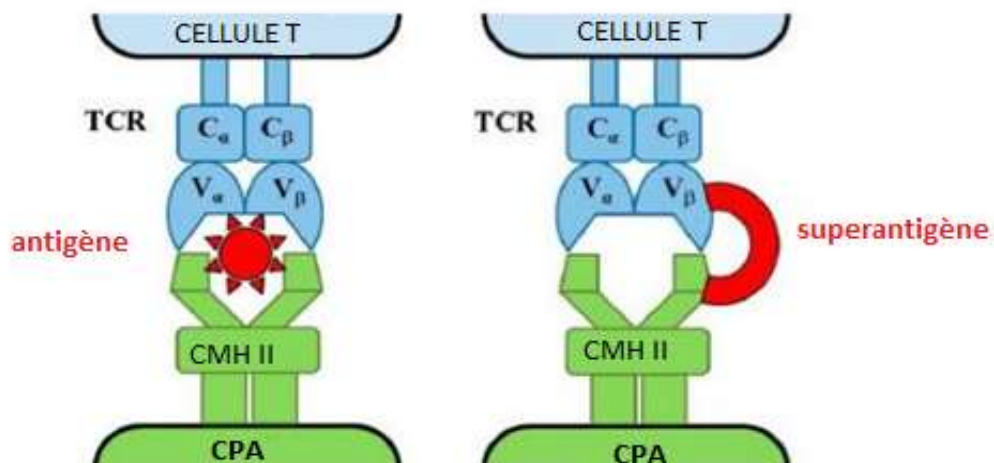
Elle est constituée de 26 acides aminés, qui forme une hélice alpha avec des domaines hydrophobes. Elle est synthétisée par 97% des souches de *S. aureus*. Cette toxine agit comme un surfactant, en créant des cylindres hydrophobes au niveau de la membrane cellulaire et perméabilise ainsi les cellules (Boisset et Vandenesch, 2010).

### ➤ Leucocidine de Panton-Valentine (PVL)

La PVL fait partie d'une famille de toxines synergohyménotropes, constituée de deux composants non associés mais agissant en synergie sur les membranes cellulaires : un composant de classe S pour « Slow eluted » (LukS-PV) et d'un composant de classe F pour « Fast eluted » (LukF-PV). La PVL est dermonécrotique et leucotoxique, agit sur les polynucléaires et les macrophages par une modification de la perméabilité cationique (Batard et al, 2007 ; Grojec et Jeljaszewicz, 2008).

### 4.2. Toxines superantigéniques

Les superantigènes sont des molécules présentant une liaison directe à grande affinité avec les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II des cellules présentant l'antigène, induisant ainsi la prolifération des lymphocytes T ( $V\beta$ ) et la production de cytokines (Velasco et al, 2005). *S. aureus* produit trois types de superantigènes : les entérotoxines (dont l'entérotoxine staphylococcique A), la toxine 1 du choc toxique (TSST-1) et les toxines exfoliatives. Les pathologies les mieux connues comme étant associées à ces molécules superantigéniques sont le choc toxique et les dermites exfoliatives (Merlet, 2010).



**Figure 5** : Mécanisme d'action des superantigènes de *S. aureus* (Macias et al. 2011).

➤ **Les entérotoxines Staphylococciques (SE)**

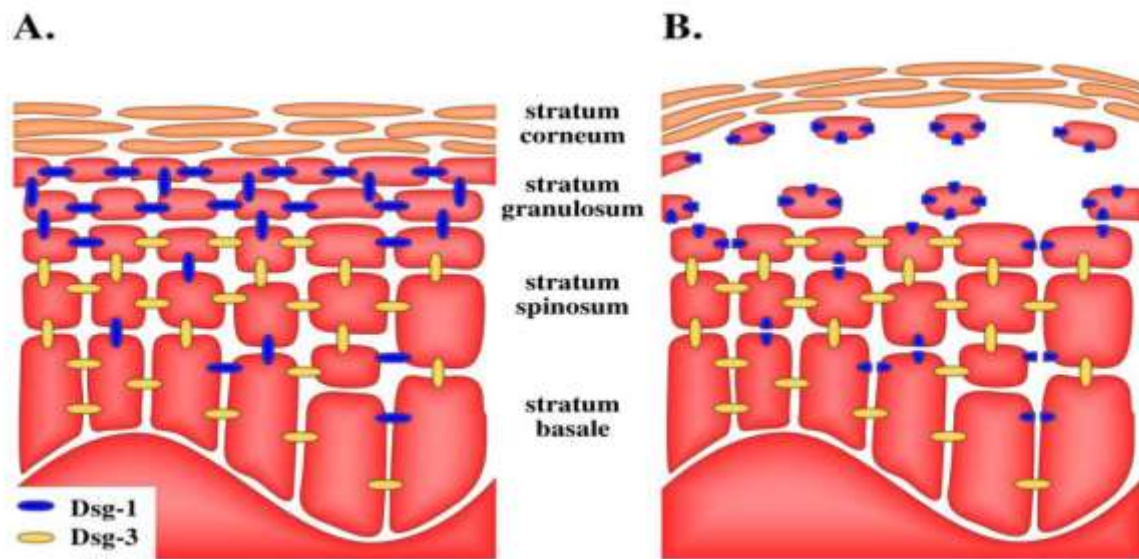
Ce sont des toxines thermostables libérées dans les aliments pendant la phase exponentielle de croissance (Joffin C et Joffin JN, 2010). Elles sont résistantes à la plupart des enzymes protéolytiques, elles peuvent franchir le système digestif et garder leur activité après ingestion (Charlier et al, 2010). Actuellement, plus de 24 types d'entérotoxine ont été décrits : entérotoxine A (SEA), SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED, SEE, SEG, SHE, SEI, et SEIJ (Balaban et Rasooly, 2000), SEIK (Orwin et al, 2001), SEIL, SEIM, SEIN, et SEIO (Jarraud et al, 2001), SEIP (Omoe et al, 2005), SEIQ (Orwin et al, 2002), SER (Omoe et al, 2003), SES et SET (Ono et al, 2008), SEIU (Letertre et al, 2003), SEIU2 et SEIV (Thomas et al, 2006). Elles sont responsables du choc toxique staphylococcique, de toxi-infection alimentaire et d'entéocolite aiguë pseudomembraneuse (Le Minor et Veron, 1990 ; Avril et al, 2003).

➤ **Toxine du syndrome de choc toxique (TSST)**

La toxine TSST-1, codée par le gène *tst*, est portée par un îlot de pathogénicité présent dans 20% des souches de *S. aureus*. Comme son nom l'indique, elle conduit au syndrome de choc toxique. Bien que cette toxine à une large gamme d'activités biologiques, son rôle dans la formation du syndrome de choc toxique reste peu clair. C'est une maladie multi-systémique caractérisée par : fièvre, hypotension, érythrodermie, vomissement, diarrhée, insuffisance rénale, céphalée et conjonctivite (Gras, 2006 ; Biljana et al, 2015).

➤ **exfoliatines**

Les exfoliatines, appelées également épidermolysines, sont des toxines à activité protéolytique, et plus précisément à activité sérine protéase spécifique du glutamate. Actuellement, quatre exfoliatines (ET) ont été décrites ; ETA, ETB, ETD, ETD. En pathologie humaine, on retrouve principalement ETA et ETB et moins fréquemment ETD (Boisset et Vandenesch, 2010). Elles agissent au niveau du *stratum granulosum* au sein de l'épiderme où elles hydrolysent une protéine, la desmogléine-1. Cette dernière est la composante majeure des desmosomes du *stratum granulosum*, les desmosomes étant des jonctions inter-cellulaires permettant l'adhésion entre les kératinocytes. La destruction de la desmogléine-1 par les exfoliatines entraîne donc la rupture de l'adhésion entre les kératinocytes du *stratum granulosum*, responsable d'un décollement intra-épidermique spécifique (Bukowski et al, 2010).



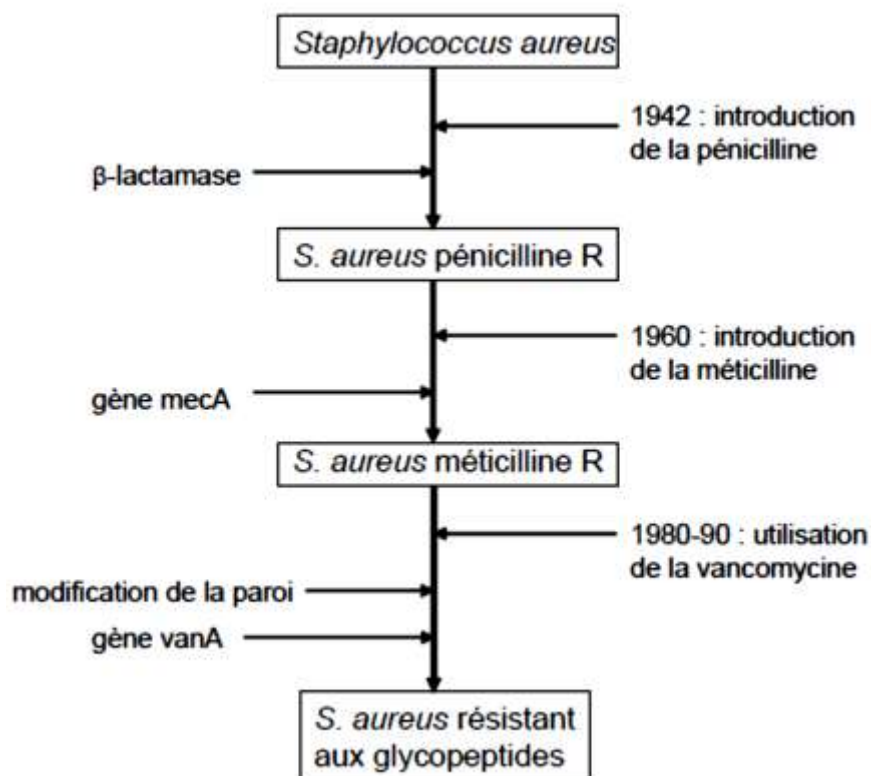
**Figure 6:** Mécanisme d'action des exfoliatines. Les exfoliatines clivent spécifiquement la desmogléine-1 au niveau du glutamate 381. Dsg-1 : desmogléine-1 ; Dsg-3 : desmogléine-3 (Bukowski et al, 2010).

Tableau IV : Facteurs de virulence de *S. aureus* (Malachowa et Deleo, 2010).

Toxine/facteur de virulence (gène)	Pouvoir pathogène/mécanisme d'action
Protéine A ( <i>spa</i> )	Invasion des défenses de l'hôte.
Collagène lié à la protéine ( <i>cna</i> )	Adhésion au collagène.
Fibronectine liée à la protéine A, B ( <i>fnbA, B</i> )	Attachement à la fibronectine
Clumping factor A, B ( <i>clf A, B</i> )	Adhésion au fibrinogène.
Staphyloferrin A, B ( <i>SA, SB</i> )	Fixation à la lactoferrine et à la transferrine.
Coagulase ( <i>coa</i> )	Liaison au fibrinogène.
Staphylokinase ( <i>sak</i> )	Invasion des défenses de l'hôte.
FAME	Modification des lipides antibactériens de l'hôte.
Toxine exfoliative A, B, D ( <i>eta, etb, etd</i> )	Cause le syndrome de la peau ébouillantée (SSSS), impétigo bulbeux, syndrome de Ritter chez le nouveau-né.
Entérotoxine A-E, H ( <i>sea-e, h</i> )	Super antigène (SAg), toxi-infection alimentaire.
$\alpha$ -hémolysine ( <i>hla</i> )	Forme des pores à travers la membrane des cellules contaminées.
Hyaluronidase ( <i>hysA</i> )	Invasion des tissus.
Leucocidine de Panton-Valentine ( <i>lukF-PV, lukS-PV</i> )	Invasion de l'hôte, lyse des phagocytes de l'hôte.
Staphylococcal superantigen-like SSL	Visent les éléments de la réponse immunitaire innée.
TSST-1( <i>tst</i> )	Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes responsables de TSS.

## 1. Historique

Par son importance en pathologie, *S. aureus* a joué un rôle moteur dans la découverte des antibiotiques. En 1928, la conjonction des vacances d'été de Fleming et la présence du laboratoire de mycologie du docteur La Touche, voisin de celui de Fleming va permettre la plus grande découverte du siècle : Pénicilline. *Penicillium notatum* contamina accidentellement les boîtes de Petri contenant des cultures de *S. aureus*. Ainsi, commença de façon obscure l'ère de l'antibiothérapie moderne (Bryskier, 1999 ; Donnio, 2010).



**Figure 7 :** Introduction, utilisation des antibiotiques et acquisition des résistances par *S. aureus* (Hardy et al, 2004).

## 2. Définitions

### a. Antibiotique

L'adjectif antibiotique (du grec *anti* : contre, *biotikos* : concernant la vie) est utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance chimique d'origine naturelle (produite par un microorganisme) synthétique ou semi-synthétique et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance voire de détruire d'autres microorganismes.

Ce terme est bien souvent utilisé de façon erronée et subit régulièrement un élargissement de son sens. En effet, la définition du mot antibiotique réfère strictement aux substances antimicrobiennes d'origine naturelle, et selon cette notion, ce terme ne devrait donc pas être employé pour qualifier des substances synthétiques telles que les sulfamides et les quinolones, ou semi-synthétiques telles que l'amoxicilline et l'amikacine (Muylaert et Mainil, 2012 ; Barzic et Ioan, 2015).

### **b. Résistance bactérienne**

Un micro-organisme est considéré « résistant », lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. Parfois les bactéries sont dites multirésistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques. Elles sont alors résistantes à plusieurs antibiotiques (Sylvie, 2009).

### **3. Classification des antibiotiques et leur mode d'action**

Les antibiotiques sont classés selon leur origine, leur nature chimique, leur mode d'action et leur spectre d'activité (Barzic et Ioan, 2015). Selon Donnio (2010), Chaque famille d'antibiotique possède son site d'action propre :

#### Les antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

- $\beta$ -lactamines
- Glycopeptides
- Fosfomycines
- Lipopeptides

#### Les antibiotiques inhibant la synthèse protéique

- Aminocyclitol
- Tétracyclines
- Macrolides, Lincosamides et synergystines (MLS)
- Acide fusidique
- Oxazolidinones
- Mupirocine
- Phénicolés

Les antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

- Quinolones
- Rifamycines

Les antibiotiques agissant sur les membranes

- Polymyxines
- Nitrofranes

**4. Modes de résistance aux antibiotiques**

Sur le plan biochimique, 4 grands modes de résistance sont mis en jeu lors de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques (Donnio, 2010) :

- Stratégie dite « offensive » par inactivation enzymatique de l'antibiotique ;
- Stratégie dite « d'évitement » par modification de la molécule cible de l'antibiotique ;
- Stratégie dite « de contournement » des voies métaboliques classiques ;
- Stratégie dite « d'expulsion » par diminution de la perméabilité de l'antibiotique et par accélération du mécanisme d'efflux.

**5. Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques**

En temps normal, *S. aureus* est une bactérie sensible naturellement envers tous les antibiotiques mise à part la colistine et l'aztréonam, mais son fort pouvoir adaptatif lui a permis de développer des résistances aux différents antibiotiques, grâce à la complexité de son génome et le pouvoir d'acquisition d'éléments génétiques mobiles, sans oublier les mutations spontanées (Grace et Fetsch, 2018).

**5.1.  $\beta$ -Lactamines****➤ Mode d'action des  $\beta$ -lactamines**

Les bêta-lactamines ont pour cibles différentes enzymes « protéines liant les pénicillines » ou PLP impliquées dans la formation du peptidoglycane. La fixation des  $\beta$ -lactamines à ces cibles entraîne l'absence de polymérisation du peptidoglycane et secondairement la synthèse par la bactérie d'autolysines conduisant à sa mort. Elles sont donc bactéricides. Les souches de *S. aureus* possèdent 4 PLP : PLP1, PLP2, PLP3 (essentiels à la survie) et PLP4 (accessoires) (Chambers, 1997).

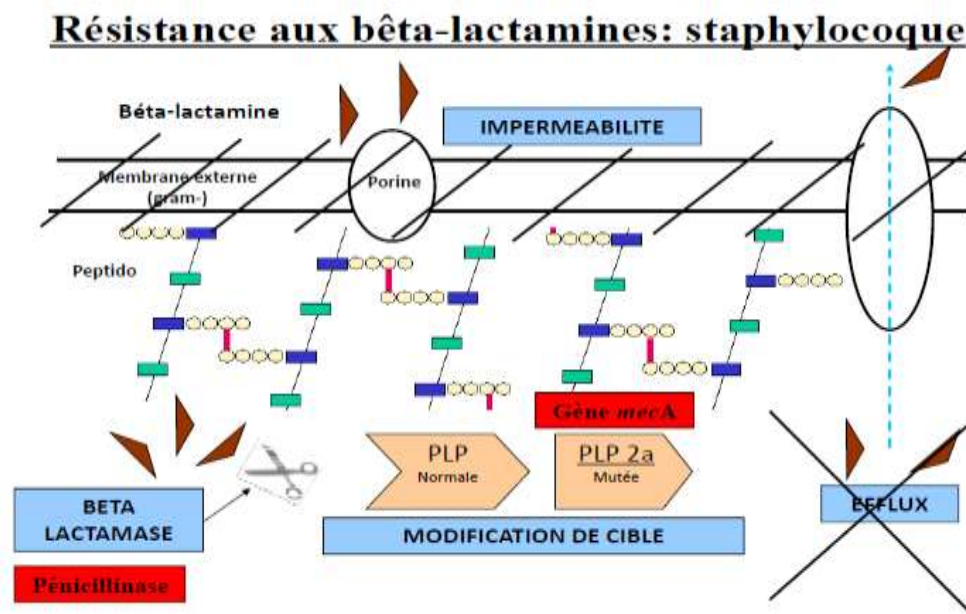
**➤ Mécanisme de résistance****✚ Production de  $\beta$ -lactamases**

La pénicillinase plasmidique est une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame et donc de rendre inapte l'antibiotique (Ces enzymes ne sont pas capables d'inactiver

les pénicillines M et les céphalosporines). La pénicillinase staphylococcique est le produit d'expression du gène *blaZ*, qui est porté par un plasmide ou un transposon. De plus, il existe des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) qui restaurent l'activité des antibiotiques qui leur sont associés (Courvalin et al, 2006).

#### ✚ Production de PLP modifiée

Cette résistance est due chez *S. aureus* à la production d'une PLP additionnelle, la PLP2a, qui se rajoute aux PLP « normales » de *S. aureus*. En présence de bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes), les PLP sont inhibées, sauf la PLP2a. Cette protéine est codée par le gène d'expression inductible *mecA*. Ce gène est porté par un élément génétique mobile particulier, une cassette chromosomique appelée SCCmec (*Staphylococcal Casette Chromosome*) insérée dans un locus spécifique (Leclercq et Daurel, 2008).



**Figure 8 :** Résistance de *S. aureus* aux bêta-lactamines (Mainardi, 2015).

## 5.2. Glycopeptides

### ➤ Mode d'action des glycopeptides

Deux glycopeptides sont commercialisés, la vancomycine et la teicoplanine. Ces deux molécules agissent sur le peptidoglycane des bactéries. En effet, elles se lient avec le dimère D-alanyl-D-alanine qui est en position terminale de la chaîne pentapeptidique du peptidoglycane. Cette fixation masque les sites d'action des transpeptidases et empêche la réaction de transglycosylation lors de la synthèse du peptidoglycane. La bactérie ne peut donc plus renouveler son peptidoglycane, se diviser et elle finit par mourir. Ces antibiotiques sont bactéricides temps-dépendants vis-à-vis de *S. aureus* (Courvalin, 2006).

### ➤ Mécanisme de résistance

Selon Courvalin et Leclercq (2012), différents termes et acronymes, VISA, GISA, hétéro-VISA, ont été utilisés pour définir les souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides et plus récemment VRSA pour les souches résistantes.

#### VISA et GISA

Les termes de VISA (vancomycin intermediate *S. aureus*) et de GISA (glycopeptide intermediate *S. aureus*) regroupent des souches intermédiaires (CMI = 8 mg/L) ou résistantes (CMI > 8 mg/L) à la téicoplanine et intermédiaires (CMI = 8 mg/L) ou sensibles (CMI ≤ 4 mg/L) à la vancomycine. Le terme de GISA est préférable car il englobe l'ensemble des souches de sensibilités diminuées à l'un ou l'autre des glycopeptides.

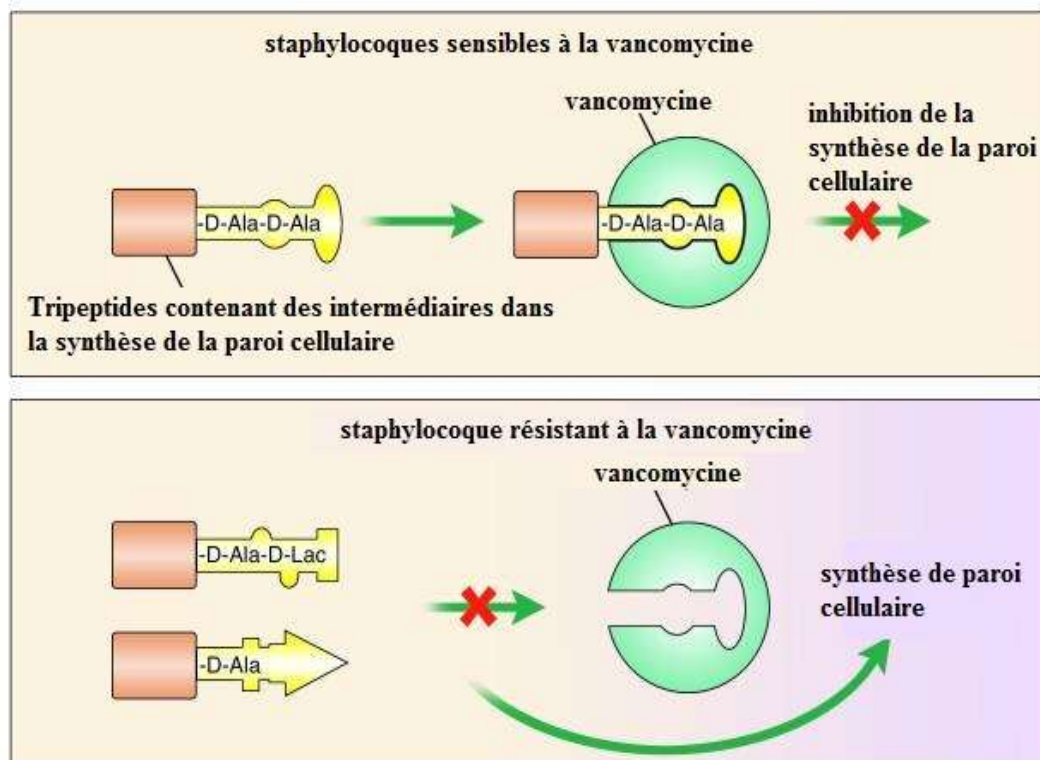
#### Hétéro-VISA

Ce terme a été introduit pour définir les souches de *S. aureus* initialement isolés au Japon ayant des CMI de la Vancomycine égales à 2-4 mg/L (sensibles) mais présentant des sous populations non sensibles à la Vancomycine (CMI = 6-8 mg/l).

#### VRSA

Les VRSA sont des souches ayant des CMI de la vancomycine > 16 mg/L et ayant acquis l'opéron *vanA* d'entérocoques porté par des plasmides. Elles sont également résistantes à la téicoplanine.

Il y a deux mécanismes de résistance : soit les molécules d'antibiotiques sont piégées par hyperproduction du D-alanyl-D-alanine dans la paroi. Cette résistance est due à une anomalie au niveau de la synthèse du peptidoglycane, elle est connue chez les souches Glycopeptide-Intermediate *S. aureus* (GISA), Vancomycine-Intermediate *S. aureus* VISA et hétéro-VISA. Une autre résistance plus rare est connue chez les souches vacomycin-resistant *S. aureus* (VRSA), par l'acquisition du gène *vanA* qui code pour une molécule D-Lactate au lieu du D-Ala (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Grace et Fetsch, 2018).



**Figure 9 :** Mode d'action de la vancomycine et mécanisme de résistance de *S. aureus* à cet antibiotique (Lowy, 2003).

### 5.3. Aminoglycosides ou aminosides

#### ➤ Mode d'action des aminosides

Les aminoglycosides sont des antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique, suite à leur fixation sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien. Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides rapides et puissants, ce qui justifie leur association aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi (oxacilline et vancomycine) pour le traitement des infections graves (Asseray et al, 2002 ; Daurel et Leclercq, 2008).

#### ➤ Mécanisme de résistance

La résistance acquise des *S. aureus* aux aminosides peut être assurée par trois mécanismes différents. Le premier consiste en des mutations au niveau des gènes codant pour des protéines ribosomales, ce mécanisme est rapporté chez des souches de *S. aureus* résistantes à la streptomycine. Le second mécanisme résulte des mutations touchant la perméabilité de l'antibiotique et le troisième est assuré par la production d'enzymes inactivatrices (Lyon et Skurray, 1987 ; Winston et Chambers, 2009).

Il existe trois enzymes de résistance, chacune d'entre elles confère un phénotype de résistance spécifique aux aminosides :

- **l'APH (3')-III** : confère une résistance à haut niveau à la kanamycine et à la néomycine (phénotype K). Cette enzyme phosphoryle lentement l'amikacine, qui conserve une activité bactériostatique mais perd son activité bactéricide (Leclercq et Daurel, 2008).
- **l'ANT (4') (4'')-I** : confère une résistance à haut niveau à la Kanamycine, l'Amikacine et à la tobramycine (phénotype KT), due à une adénylase (ANT-4') (Quincampoix et Mainardi, 2001).
- **l'APH (2'')-AAC (6')** : cette enzyme qui possède deux fonctions confère une résistance à haut niveau à la kanamycine, à la tobramycine et à la gentamicine (phénotype KTG). L'activité enzymatique modifie fortement la kanamycine, la gentamicine, la tobramycine et modérément la netilmicine et l'amikacine (A noter que la streptomycine n'est pas affectée par cette enzyme) (Leclercq et Daurel, 2008).

#### 5.4. Macrolides, lincosamides et synergystines (MLS)

##### ➤ Mode d'action des macrolides, lincosamides et synergystines

Ces antibiotiques se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S des ribosomes et inhibent ainsi la synthèse protéique (Courvalin et Leclercq, 2012).

##### ➤ Mécanismes de résistances

###### ✚ Méthylation ribosomale (phénotype MLSB)

Le mécanisme de résistance le plus connu est la modification de la cible ribosomale. La partie ribosomale est modifiée par une attaque enzymatique, l'adénine en position 2058 de l'ARNr 23S se retrouve alors méthylée. Les enzymes en cause sont des méthylases codées par des gènes de la famille *erm* (erythromycin resistance methylase). La méthylation empêche la fixation du MLS et son action. Cette résistance peut être inductible (induite en présence de macrolides) ou constitutive (exprimée en permanence). Cependant, cette méthylation ne touche pas les streptogramines A, c'est pourquoi la pristinamycine reste active, même en cas de résistance constitutive (Leclercq, 2002).

###### ✚ Efflux (phénotype MSB)

C'est le deuxième mécanisme de résistance aux macrolides le plus important chez *S. aureus*. La présence d'une pompe ATP-dépendante codée par le gène plasmidique *msrA* va conférer

une résistance par efflux aux macrolides à 14 et 15 atomes ainsi qu'aux streptogramines B (Leclercq et Daurel, 2008).

#### Inactivation enzymatique

Plusieurs enzymes sont capables d'inactiver les MLS. L'érythromycine peut être inactivée par diverses enzymes dont les estérases ou des phosphotransférases. La résistance aux streptogramines est expliquée par l'association de gènes codant pour des acétylases et des lyases (Courvalin et Leclercq, 2012).

### 5.5. Fluoroquinolones

#### ➤ Mode d'action des fluoroquinolones

Les fluoroquinolones sont des antibiotiques de synthèse ayant une activité bactéricide concentration dépendante vis-à-vis de *S. aureus* (Donnio, 2010). Ces antibiotiques ont comme cible la synthèse des acides nucléiques. Ils agissent sur une enzyme qui permet de déplier l'ADN qui est « surenroulé », ces enzymes sont appelées topoisomérases ou ADN gyrases. Les fluoroquinolones vont interagir avec les complexes ADN-topoisomérases et inhibent cette activité indispensable à la réplication et à la survie de la bactérie (Redgrave et al, 2014).

#### ➤ Mécanisme de Résistance

La résistance du *S. aureus* à cette famille d'antibiotique est basée principalement sur les mutations, soit au niveau du gène chromosomique *griA* ou *griB* de la topoisomérase IV ou bien par altération des sous unité *gyrA* et *gyrB* de la gyrase (Grace and Fetsch 2018). L'efflux est aussi responsable de la résistance des souches de *S. aureus*, des pompes appelées « NorA » qui sont capables de diminuer la concentration intracytoplasmique de la ciprofloxacine et de la norfloxacine (Hooper, 2002).

### 5.6. Autres résistances

#### ➤ Tétracyclines

Ces antibiotiques agissent au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en inhibant l'élongation peptidique. Ils ont une action bactériostatique envers le *S. aureus* (Donnio, 2010).

Deux mécanismes de résistance de *S. aureus* aux tétracyclines ont été décrits : Le premier est lié à un plasmide (le plus connu est pT181), il entraîne un efflux actif des tétracyclines codé par le gène *tetK*. Le second mécanisme de résistance entraîne une protection de la cible codée par les gènes *tetO* ou *tetM* (Grace et Fetsch, 2018).

➤ **Sulfamide et triméthopri**

Les sulfamides et les triméthoprimés interfèrent avec la synthèse des acides nucléiques et des protéines (Courvalin et Leclercq, 2012).

La résistance à ces molécules peut trouver sa cause dans divers mécanismes : Une imperméabilité d'origine chromosomique ou plasmidique, une hyperproduction de dihydroptéroate-synthétase (DHPS) pour les sulfamides (Sul) ou de dihydrofolate-réductase (DHFR) pour le triméthopri (Tmp) (Donnio, 2010).

➤ **Rifamycine**

Des mutations sur le gène *rpoB* qui code la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase ADN-dépendante entraînent le mécanisme de résistance. Ces mutations altèrent la structure de l'ARN polymérase sur laquelle l'antibiotique ne pourra plus agir (Daurel et Leclercq, 2008).

---

*Partie  
expérimentale*

---

## 1. Matériels

### 1.1. Matériel de prélèvement

- Ecouillons stériles.
- Bouillon Chapman (Conda Pronadisa, Espagne).
- Flacons en plastique stériles.

### 1.2. Matériel biologique

- Sécrétions nasales prélevées par écouvillonnage chez les bovins, les caprins et les éleveurs.
- Lait prélevé au niveau des fermes.
- Souches de référence : *S. aureus* ATCC 25923.

### 1.3. Matériel de laboratoire

#### ➤ Équipements

- Etuve microbiologique (Mettler, Germany)
- Bec Bunsen
- Balance électronique (Denver instrument, USA)
- Spectrophotomètre (Medline, United Kingdom)
- Réfrigérateur (Essalem Electronics, Algérie)
- Vortex (Heidolph, Germany)
- Bain-Marie (Mettler, Germany)
- Autoclave (pbi international, Milano)
- Gants
- Glacière

➤ **Verrerie et outils** : boîtes de Petri, tubes à essai, pipettes Pasteur, écouillons, tubes à hémolyse, anse à boucle, micropipette (1000 µL), spatules, cuves de spectrophotomètre, flacons en verre, pince bactériologique, Portoirs, Lame en verre.

#### ➤ Milieux de culture et réactifs

- Bouillon Clark et Lubs (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- Gélose Baird Parker (Conda Pronadisa, Espagne)
- Tétracycline de potassium (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- Emulsion de jaune d'œuf

- Gélose Muller-Hinton (Conda Pronadisa, Spain)
- Gélose à ADN (Conda Pronadisa, Espagne)
- Milieu TSYEA (Conda Pronadisa, Spain)
- Bouillon cœur-cerveille (Biokar, France)
- Plasma humain (CHU, Tizi Ouzou)
- Voges Proskauer I (VPI : NaOH 16%) et II (VPII :  $\alpha$  Naphtol 6%) (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
- HCl 2N (MERCK, Germany)
- Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Cosmania, Algérie)
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée stérile
- Agar bactériologique (Biokar diagnostics, France)
- Disques d'antibiotiques (Liofilchem, Italy)

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

## 2. Méthodes

### 2.1. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude est d'étudier le portage nasal de *Staphylococcus aureus* chez les bovins et les caprins et de mettre en évidence le risque sanitaire associé à la présence de souches multi-résistantes telles que les SARM.

### 2.2. Durée et lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée entre la période allant du mois de Février au mois de Mai 2019 (4mois) au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

### 2.3. Population d'étude

#### ➤ Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion retenus pour la sélection des sujets de l'étude :

- Vaches et chèvres laitières, saines quel que soit leur âge.
- Eleveurs en contact permanent avec les animaux.

➤ **Critères d'exclusion**

- Vaches en gestation.
- Vaches sous antibiothérapie ou ayant reçu une antibiothérapie durant les trois dernières semaines précédant le prélèvement.

#### 2.4. Nature et nombre d'échantillons

Des prélèvements nasaux et des prélèvements du lait cru ont été réalisés à travers 12 élevages laitiers, situés dans les deux wilayas de Tizi Ouzou (Ouaguenoune) et de Bouira (Sor El Ghozlane. Au total, 101 animaux, incluant des vaches laitières et des chèvres ont été visés par cette étude. En Parallèle, des prélèvements de la cavité nasale ont été réalisés chez 7 éleveurs de ces élevages. Après les prélèvements, les échantillons ont été acheminés au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Des informations sur l'utilisation des antibiotiques par ces éleveurs ont été recueillies (Tableau V).



**Figure 10** : Répartition géographique des régions de prélèvements (Tizi-Ouzou, Bouira).

**Tableau V** : Lieu, nature et nombre de prélèvements.

Lieu / Nature	Bovins	Caprins	Lait de vaches	Eleveurs
Tizi-Ouzou	<b>52</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>7</b>
Bouira	<b>36</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>0</b>

Tableau VI : Nombre et type de prélèvements par ferme.

	Prélèvements	Fermes	VL/VLT	Type de VL	CL/CLT	Type de CL
<b>Tizi-Ouzou</b>	<b>P1</b>	F1	10/18	Montbéliard	0	–
		F2	8/13	Montbéliard	0	–
	<b>P2</b>	F3	22/42	Holstein/Brune des Alpes	0	–
	<b>P3</b>	F4	10/18	Montbéliard	0	–
		F5	10/13	Montbéliard / Holstein	0	–
<b>Bouira</b>	<b>P4</b>	F6	12/30	Holstein	0	–
		F7	7/50	Montbéliard	0	–
		F8	3/10	Holstein	0	–
		F9	4/20	Montbéliard/ Holstein	0	–
		F10	5/7	Holstein	0	–
	<b>P5</b>	F11	5/15	Tarentaise	4/4	Malte
		F12	0	–	9/20	Malte

**VL** : Vaches laitières

**VLT** : Vaches laitières totales

**CL** : Chèvres laitières

**CLT** : Chèvres laitières totales

## 2.5. Protocole du prélèvement

### ➤ Prélèvement nasal

Les prélèvements nasaux chez l'animal ont été effectués à l'aide d'un écouvillon, en suivant les étapes suivantes :

- Insérer l'écouvillon dans la première narine du sujet (10 cm jusqu'à atteindre le meatus ventral) et recueillir les sécrétions nasales en effectuant des rotations complètes de l'écouvillon (Figure 11) ;
- Répéter la même procédure dans l'autre narine du sujet sans changer d'écouvillon ;
- Introduire l'écouvillon directement dans un tube contenant du bouillon Chapman ;
- Placer les tubes dans une glacière afin d'assurer leur transport. ;



**Figure 11 :** Ecouvillonnage nasal

➤ **Prélèvements du lait :**

Les échantillons du lait ont été recueillis dans des flacons stériles à partir de tank de réfrigération (Figure 12). Les prélèvements, une fois réalisés sont conservés au réfrigérateur (+4°C) pendant 24h, puis acheminés directement au laboratoire en utilisant une glacière.



**Figure 12 :** Prélèvement du lait

## **2.6. Analyse microbiologique**

La recherche de *S. aureus* dans les différents prélèvements a été réalisée en deux étapes : une étape d'enrichissement sur un bouillon hypersalé (Chapman) et une étape d'isolement sur une gélose sélective (Baird Parker).

### **2.6.1. Enrichissement**

Les prélèvements nasaux (écouvillons) ont été placés directement dans des tubes à essai contenant du bouillon Chapman. Tandis que, 1 ml du lait cru estensemencé dans le même

bouillon d'enrichissement. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les tubes ayant virés au jaune sont présumés positifs et ont fait l'objet d'une confirmation par un isolement sélectif sur la gélose Baird Parker.

### 2.6.2. Isolement

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

A l'aide d'une micropipette, 100µL sont prélevés et déposés aseptiquement en surface sur le milieu Baird Parker (BP), additionné de jaune d'œuf et de téllurite de potassium. Puis, l'inoculum est étalé grâce à un étaloir stérile de façon à obtenir des colonies bien isolées après une incubation à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, *S. aureus* donne des colonies rondes à bords réguliers, lisses, bombées, d'un diamètre de 1 à 3mm, noires entourées d'une zone blanche et ayant un halo clair.

### 2.6.3. Purification des souches isolées

La purification des souches de *S. aureus* isolées se fait en réalisant des repiquages successifs réalisés sur BHIA (Brain Heart Infusion Agar) ou TSYEA (Tryptone Soja Yeast Extract Agar) jusqu'à l'obtention d'un isolat pure.

### 2.6.4. Identification biochimique

Afin d'identifier les souches de *S. aureus* nous avons effectué quatre tests:

#### ➤ Test de la catalase

#### Principe

La catalase est une oxydoréductase présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, produit toxique du métabolisme aérobie selon la réaction suivante :



#### Technique

- Déposer une goutte d'eau oxygénée sur une lame.
- Déposer, à l'aide de l'anse à boucle en platine, une colonie isolée (ou plusieurs si les colonies sont petites) provenant d'une boîte BHIA contenant une souche suspecte.

**Lecture**

Une catalase positive est révélée par une effervescence.

➤ **Test de la désoxyribonucléase (ADNase)**

**Technique**

Une colonie, issue d'une culture suspecte sur milieu BHIA est ensemencée en réalisant une strie large à la surface de la gélose à ADN. Il est possible d'étudier simultanément 4 ou 5 souches différentes sur une même boîte de Pétri. Après une incubation à 37°C, la révélation est réalisée par ajout d'une solution d'HCl à 2N. La souche est considérée ADNase + si une zone claire apparaît tout autour de la strie. Un témoin positif est réalisé en faisant recours à la souche de référence *S. aureus* ATCC25923.

➤ **Test de la coagulase**

**Principe**

Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libre.

**Technique**

Une culture de la souche testée est réalisée sur le bouillon BHIB, suivie d'une incubation à 37°C/24H. 0.5 ml de cette culture bactérienne seront ensuite mélangés dans un tube à hémolyse avec 0.5 ml du plasma humain (à la place du plasma de lapin). La présence d'une coagulase se manifeste par la prise de masse du plasma (apparition d'un coagulum) après une durée d'incubation de 1 à 4 heures. Un témoin positif est réalisé en faisant recours à la souche de référence *S. aureus* ATCC25923.

➤ **Test de Voges Proskauer (VP)**

**Principe**

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

**Technique**

Le bouillon Clark et Lubs est ensemencé par la souche à tester. Après une incubation à 37°C/48 heures, 15 gouttes des deux réactifs VPI et VPII sont ajoutées. Le milieu est ensuite incliné et ceci pour une bonne oxygénation. Le test positif se traduit par l'apparition d'une couleur rouge en surface du tube qui diffuse dans le milieu après 15 à 20 minutes. Le témoin positif est réalisé en utilisant la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923.

## 2.7. Antibiogramme

L'antibiogramme est un examen de laboratoire visant à déterminer la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques. La sensibilité des souches *S. aureus* isolées a été étudiée conformément aux recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018), en appliquant la méthode de diffusion de disques sur la gélose Muller Hinton (MH). La résistance des souches a été testée vis-à-vis de neuf molécules d'antibiotiques listées dans le tableau (VII). L'interprétation des résultats a été faite selon le manuel du comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CASFM (2019) et les recommandations du CLSI (2018).

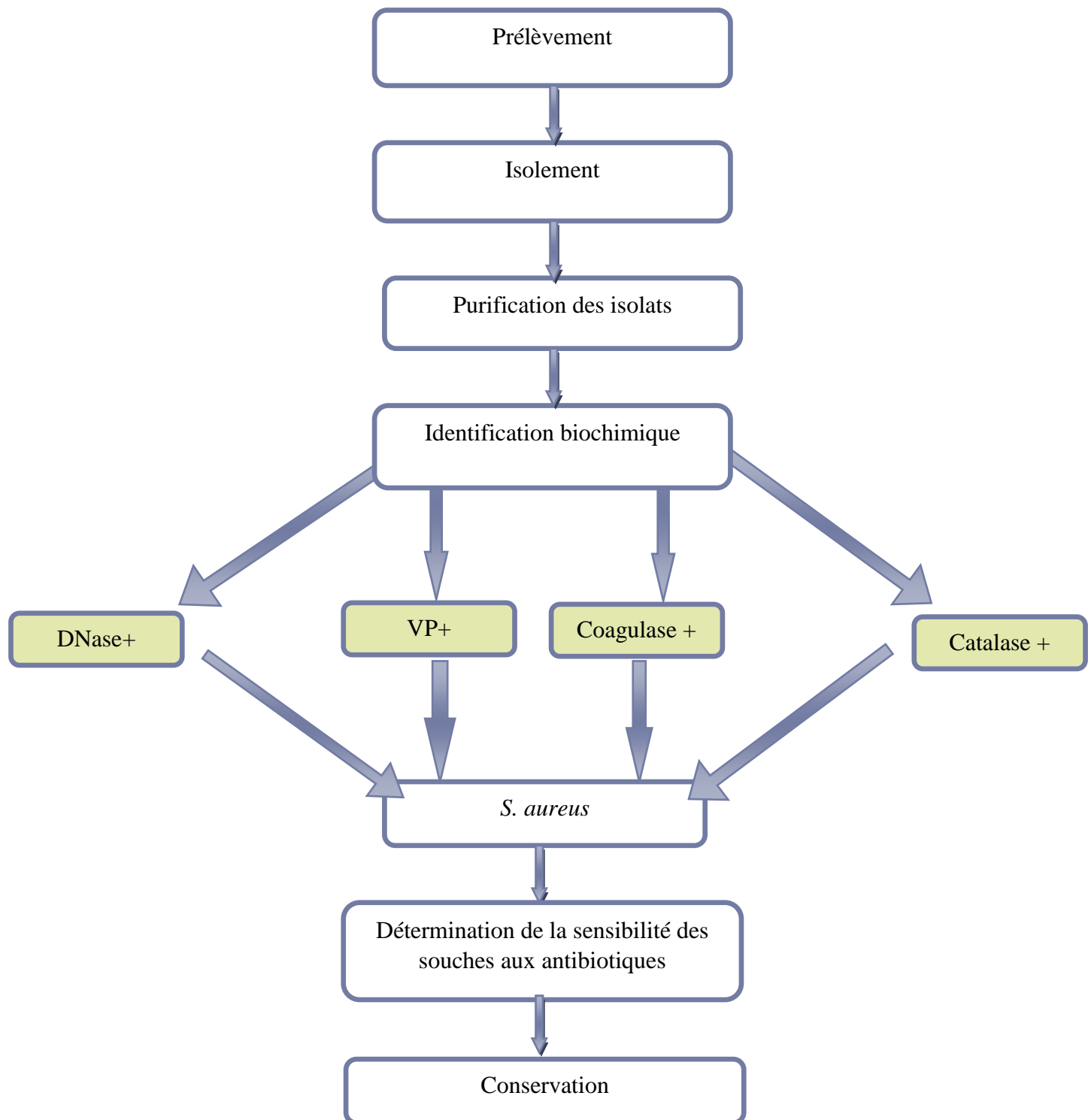
Les souches à tester sont repiquées sur la gélose BHI afin de les revivifier et d'avoir des cultures jeunes. Une suspension bactérienne d'une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 est préparée à partir de cette culture jeune. L'antibiogramme est réalisé par la technique d'écouvillonnage, en appliquant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

**Tableau VII :** Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.

Familles	Antibiotiques	Abréviation	Charge en µg
<b>β-lactamines</b>	Pénicilline G	P	10UI
	Céfoxitine	FOX	30
<b>Aminosides</b>	Gentamicine	CN	10
	Néomycine	N	30
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	E	15
<b>Quinolone</b>	Ofloxacin	OFX	5
<b>Tétracycline</b>	Tétracycline	TE	30
<b>Phénicol</b>	Chlorampénicol	C	30
<b>Sulfamides</b>	Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	SXT	1.25/23.75

## 2.8. Conservation des souches

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



**Figure 13 :** Diagramme récapitulatif de la méthodologie suivie pour la recherche et l'identification de *S. aureus*.

## 1. Résultats

### 1.1. Prévalence de *S. aureus*

Sur les 115 échantillons analysés, 72 colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été soumises aux différents tests biochimiques pour l'identification de l'espèce de *S. aureus*. Ainsi, 32 souches de *S. aureus* ont été isolées et confirmées à partir de 34 échantillons positifs ce qui fait une prévalence totale de 29.57% (34/115). Ces échantillons positifs incluent 21 échantillons chez le bovin (23.86%), 8 échantillons chez le caprin (61.53%) et 2 échantillons du lait cru (28.57%) (Tableau VIII).

**Tableau VIII** : Prévalence des *S. aureus* par type de prélèvements.

Type de Prélèvements	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons positifs	Nombre de souches de <i>S. aureus</i>	Prévalence (%)
Prélèvements nasaux (vaches laitières)	88	21	25	23.86 %
Prélèvements nasaux (chèvres laitières)	13	8	2	61.53 %
Prélèvements nasaux (éleveurs)	7	3	3	42.86%
Lait de mélange	7	2	2	28.57 %
Total	115	34	32	29.57%

Cette fréquence d'isolement varie non seulement en fonction du type de prélèvement, mais aussi en fonction de la région de prélèvement. Elle est plus importante dans la région de Bouira contrairement à Tizi Ouzou.

### 1.2. Résistance des souches de *S. aureus* isolées aux antibiotiques

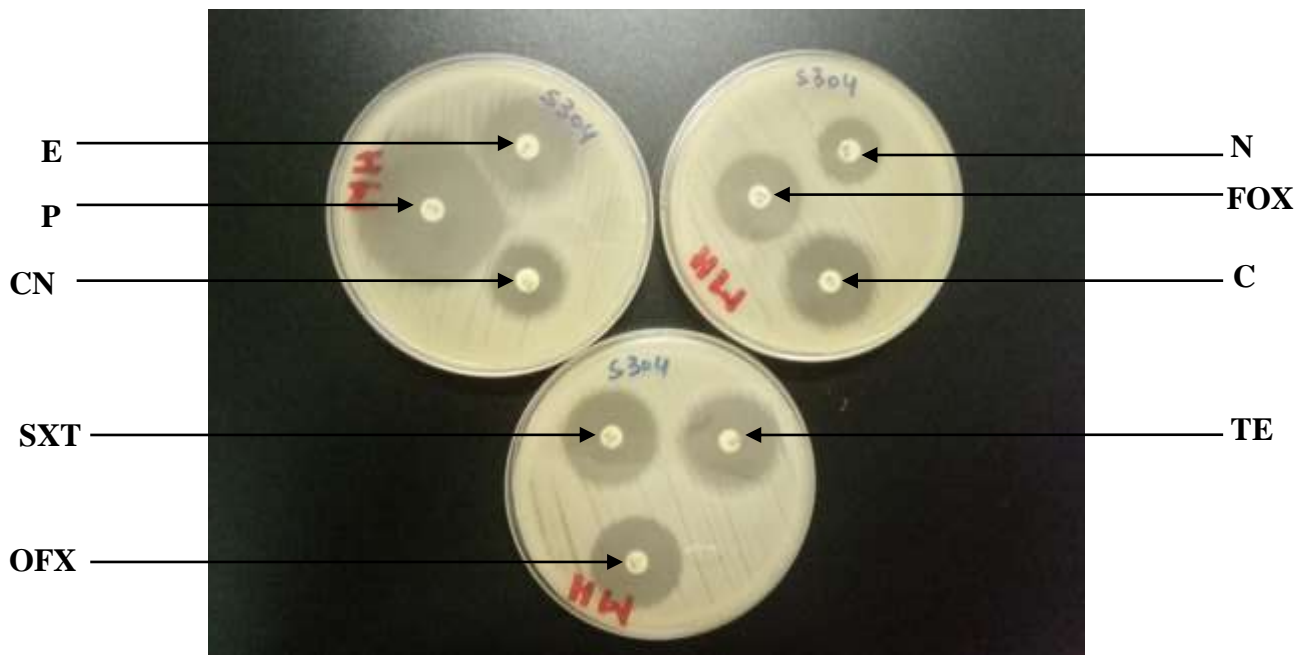
Les résultats obtenus révèlent l'existence de résistances, avec des proportions variables selon les différentes familles étudiées. En effet, de faibles résistances ont été observées à l'encontre de la pénicilline G, la néomycine, la gentamicine et le chloramphénicol. Aucune résistance n'a été enregistrée à l'encontre des autres molécules, à savoir la céfoxitine, l'érythromycine, le triméthoprim/sulfaméthoxazole, la tétracycline et l'ofloxacine. Aucun phénotype de multi-résistance n'a été détecté.

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

Types ATB	Bovins (n=25)		Caprins (n=2)		Eleveurs (n=3)		Lait (n=2)		Total (n=32)	
	R%	S%	R%	S%	R%	S%	R%	S%	R%	S%
<b>P</b>	<b>2</b> (8%)	<b>23</b> (92%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>1</b> (50%)	<b>1</b> (50%)	18.75%	81.25%
<b>FOX</b>	<b>0</b> (0%)	<b>25</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	0%	100%
<b>C</b>	<b>0</b> (0%)	<b>24</b> (96%)	<b>1</b> (50%)	<b>1</b> (50%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	3.13%	93.75%
<b>E</b>	<b>0</b> (0%)	<b>21</b> (84%)	<b>0</b> (0%)	<b>0</b> (0%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	0%	87.5%
<b>SXT</b>	<b>0</b> (0%)	<b>25</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	0%	100%
<b>TE</b>	<b>0</b> (0%)	<b>25</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	0%	100%
<b>CN</b>	<b>1</b> (4%)	<b>23</b> (92%)	<b>1</b> (50%)	<b>1</b> (50%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	6.25%	90.63%
<b>N</b>	<b>6</b> (24%)	<b>19</b> (76%)	<b>1</b> (50%)	<b>1</b> (50%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>1</b> (50%)	<b>1</b> (50%)	25%	75%
<b>OFX</b>	<b>0</b> (0%)	<b>25</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>3</b> (100%)	<b>0</b> (0%)	<b>2</b> (100%)	0%	100%

### 1.3. Taux d'isolement des souches SARM

Le taux d'isolement des SARM dans cette étude est nul. En effet, toutes les souches isolées étaient des SASM.



**Figure 14 :** SASM (photo prise au laboratoire).

## 2. Discussion

*S. aureus* est connu comme étant un germe commensal de la peau et des muqueuses nasales des humains ainsi que des animaux, Il peut être considéré comme une source probable d'infections à staphylocoques (Vautor et al, 2004 ; Mork et al, 2010 ; Mork et al, 2011). Son portage diffère d'une espèce à une autre.

Peu d'études ont été réalisées sur le portage nasal de *S. aureus* chez les animaux en Algérie et de telles études pourront fournir des informations épidémiologiques de grande importance. Au cours de notre étude, les fréquences d'isolement de *S. aureus* est supérieure à celles annoncés par d'autres auteurs. En effet, dans une étude visant l'étude du portage nasal de *S. aureus* chez les animaux d'élevage, Agabou et al (2017) ont rapporté un taux de 15% chez le bovin laitier. Les mêmes résultats ont été obtenus par Aissani et Ait Idir (2018), qui ont annoncé des faibles taux de 8.3% chez les caprins et 8.3% chez les bovins. En revanche, une fréquence relativement élevée a été rapportée par Kechih-Bounar (2018), de l'ordre de 55%.

Des taux variables ont été annoncés à travers plusieurs pays, 5.06% (n=79) chez les bovins en Iran (Rahimi et al, 2015), 3.2%(n=8) chez les bovins en Turquie (Garipcin et al, 2015) et 11.53% chez les bovins en Tunisie (Khemiri et al, 2018). Une étude concernant la prévalence des staphylocoques chez les chèvres laitières et la gestion des pratiques d'élevage, montre un taux d'isolement de l'ordre de 46.2 % sur un total de 502 échantillons (Anderson et al, 2018).

La variabilité des taux d'isolement de *S. aureus* pourrait être due à plusieurs facteurs, tels que la taille des échantillons et la méthodologie suivie lors des prélèvements.

Concernant la prévalence de *S. aureus* chez l'humain, seuls les ouvriers en contact direct avec des animaux ont été inclus dans cette étude, ce qui a permis l'échantillonnage de 7 personnes. 3 (42.86%) travailleurs étaient porteurs de *S. aureus* dans leur narines. Des valeurs relativement inférieures à celles obtenues dans la présente étude ont été rapportées en Turquie (Garipcin et al, 2015), dans la province sud-africaine de KwaZulu-Natal (Schmidt et al, 2015), et en Algérie (Akkou, 2016) avec des taux de 29.3% (44/150), 15.2% (12/79) et 38% (49/150) respectivement. Plusieurs facteurs peuvent influencer la colonisation des éleveurs par *S. aureus*, tels que leur contact direct avec les animaux et leur exposition indirecte à l'environnement contaminé des élevages (Goerge et al, 2015 ; Locatelli et al, 2017).

La prévalence élevée dans notre étude peut être due au contact étroit des travailleurs avec les animaux. Par ailleurs, elle est attribuable en grande partie à la taille réduite des échantillons.

Quant au lait, la prévalence de *S. aureus* est de 28.57%(2 /7). Notre résultat rejoint celui de Adjlane-Kaouche et al (2014), qui ont annoncé une fréquence, de l'ordre de 33.3. Le même taux d'isolement a été rapporté par Titouche et al (2019), qui est de l'ordre de 24% dans une étude concernant la caractérisation de *S. aureus* dans le lait cru et les produits laitiers traditionnels. Des résultats supérieurs ont été obtenus en Tanzanie, Maroc, Brésil, Ethiopie et Kenya avec des taux de l'ordre de 41.03%, 40 %, 68 %, 48,75 % et 30,6 % respectivement (Shitandi et al, 2004 ; Bendahou et al, 2008 ; De Oliveira et al, 2011 ; Daka et al, 2012).

La contamination microbienne du lait cru à la ferme est due principalement aux mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite et à la santé de l'animal. En effet, *S. aureus* est la cause principale des mammites cliniques et sub-cliniques (Jamali et al, 2015).

L'émergence de bactéries résistantes aux antimicrobiens, en particulier le SARM, constitue une préoccupation de grande ampleur pour la santé humaine et la santé animale. En effet, plusieurs études ont montré la capacité des SARM à coloniser et à causer des infections chez les animaux de compagnie et chez les animaux de rente (Petinaki et al, 2012).

Dans cette étude, aucune souche SARM n'a été isolée, toutes les souches étaient des SASM. En revanche, ce résultat n'écarte pas la possibilité de présence de ce type de bactéries multi-résistantes.

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

Plusieurs études ont identifié des hautes fréquences de colonisations des SARM (CC398) chez des humains en contact avec les animaux, incluant les propriétaires des élevages, les ouvriers, les vétérinaires praticiens et les travailleurs impliqués dans la chaîne d'abattage (Aires-de-Sousa et al, 2017). Pour cela, l'adoption de mesures d'hygiène, telles que l'utilisation des équipements de protection personnelle (masques et gants) peut être cruciale (Locatelli et al, 2017). En revanche, une transmission des souches SARM d'origine humaine vers des vaches laitières a été décrite par Unnerstad et al (2018).

De faibles résistances ont été enregistrées vis-à-vis de la pénicilline G, quelques soit l'origine des souches isolées (portage nasal ou lait cru). Nos résultats ne rejoignent pas ceux de plusieurs auteurs qui ont signalé de fortes résistances des souches de *S. aureus* isolées du lait cru et du portage nasal chez les humains et les vaches laitières à l'encontre de cette molécule (Jamali et al, 2015 ; Akkou et al, 2016 ; Khemiri et al, 2018 ; Chaalal et al, 2018 ; Titouche et al, 2019). Aucune résistance vis-à-vis de la tétracycline n'a été observée concernant nos souches isolées. Ce résultat est en contradiction avec ceux apportés par Ben Mehdi et Ouslimani, qui ont signalé que la tétracycline occupe une place prépondérante dans

la thérapeutique en élevages laitiers. Elle est largement utilisée dans les préparations intramammaires pour le traitement des mammites.

Une faible résistance a été enregistrée contre le chloramphénicol, un antibiotique interdit en médecine vétérinaire et réservé uniquement en thérapeutique humaine. En revanche, de faibles résistances vis-à-vis de la même molécule ont été rapportées par plusieurs auteurs (Pereira et al, 2009 ; Castro et al, 2016 ; Tan et al, 2014). La présence de résidus de chloramphénicol dans les tissus animaux en Pologne suggère son emploi en thérapeutique vétérinaire (EFSA, 2014).

De faibles résistances ont été enregistrées vis-à-vis de la néomycine et la gentamicine. Nos résultats corroborent avec ceux de Titouche et al (2019), qui ont annoncé de faibles résistances à l'encontre de ces molécules.

De fortes résistances vis-à-vis de l'érythromycine et des fluoroquinolones (enrofloxacin) ont été rapportées par Locatelli et al (2017), concernant des souches de *S. aureus* isolées du portage nasal chez des vaches laitières, contrairement aux résultats obtenus dans cette étude.

### Conclusion et perspectives

Dans Cette étude, il a été démontré que le rôle de *S. aureus* comme un agent pathogène d'origine animale ne doit pas être écarté. En effet, sur les 115 échantillons analysés, 34 se sont révélés positifs par *S. aureus*, soit une fréquence de l'ordre de 29.57%.

L'étude de la résistance des isolats montre de faibles résistances vis-à-vis de la pénicilline G, le chloramphénicol, la gentamicine ainsi que la néomycine quelque que soit l'origine des souches (bovin ou caprin).

Bien que cette étude ait écarté le risque sanitaire associé à la présence des SARM dans les exploitations étudiées, d'autres investigations concernant le portage nasal de *S. aureus* seront nécessaires pour mettre la lumière sur le type de souches circulant dans les élevages des animaux de rente. L'application des mesures de biosécurité et les bonnes pratiques d'hygiène sont les moyens efficaces pour gérer la diffusion des SARM au sein des exploitations laitières et à travers la chaîne de production.

Cette étude ouvre plusieurs perspectives, à savoir :

- Réaliser des séances de sensibilisation et de vulgarisation de l'information auprès des éleveurs sur les dangers liés à l'usage inapproprié des antibiotiques en élevage des animaux ;
- Préserver et respecter l'état hygiénique des bâtiments d'élevage ;
- Élargir l'étude en augmentant le nombre d'exploitations à visiter et en ciblant d'autres animaux (ovin, caprin, volaille) ;
- Etudier le portage nasal de *S. aureus* chez les personnes en contact étroit avec ces animaux de rente, dans le but de mettre en évidence des zoonoses ;
- Caractériser les souches isolées sur le plan génotypique (PCR) et étudier le lien génétique entre les souches, en appliquant les techniques de pointe (PFGE, MLST, Spa-typing,...).

---

## *Références Bibliographiques*

---

### A

- **ADJLANE-KAUCHE S, BENHACINE R, GHOZLANE F, MATI A. 2014.** Nutritional and hygienic quality of raw milk in the mid-northern region of Algeria: correlations and risk factors. *The Scientific World Journal*. Volume 2014, Article ID 131593, 7 pages.
- **AGABOUA , ZOULEIKHA O, CHRISTELLE N E, KHEMISSI S, CHEHBOUB M, CHEHBOUB I B, SOTTO A, DUNYACH-REMY C, LAVIGNE J P. 2017.** Emergence of Nasal Carriage of ST80 and ST152 PVL+ *Staphylococcus aureus* Isolates from Livestock in Algeria. *Toxins*, 25, 9 (10).
- **AIRES-DE-SOUSA. 2017.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. *Clinical Microbiology and Infection*, 23 : 6373-380
- **AISSANI D M et AIT IDIR T. 2018.** Prévalence et résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées d'animaux de la ferme Bejaïa. Mémoire de master en biologie. Université de Béjaïa.
- **AKKOU M et al. 2016.** Phenotypic and Genotypic Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains Associated with Bovine Mastitis and Nasal Carriage of Workers in Contact to Animals in Algeria. *Pakistan Veterinary Journal*, 2074-7764.
- **ALZOHAIRY, M. A. 2011.** Colonization and antibiotic susceptibility pattern of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) among farm animals in Saudi Arabia. *J. Bacteriol. Res*, 3 : 63-68.
- **ARAS Z AYDIN I, KAV K. 2012.** Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from caprine mastitis cases. *Small Ruminant Research*, 102 : 68-73.
- **ASSERAY N et al. 2002.** Different aminoglycoside-resistant phenotypes in a rabbit *Staphylococcus aureus* endocarditis infection model. *Antimicrob Agents Chemother*, 46:1591–3.
- **AVRIL J et al. 2000.** *Bactériologie clinique*, 3<sup>rd</sup> édition Ellipses Edition Marketing. Paris, France. 8-28
- **AVRIL J L et al .2003.** « Bactériologie clinique ». Ellipses, Paris, 602p.

### B

- **BAGGETT H C et al. 2004.** Community-onset methicillin-resistant. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 24 (6): 397-402.

- **BALABAN N, RASOOLY A. 2000.** « Staphylococcal enterotoxins ». *International Journal of Food Microbiology*, 61: 1-10.
- **BARZIC A.T, IOAN S. 2015.** Antimicrobial drugs from basic concepts to complex therapeutic mechanism of polymer systems. Edition Concepts Compounds and the Alternatives of Antibacterials.
- **BASANISI M G et al . 2015.** Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from sheep and goat cheeses in Southern Italy. *Small Ruminant Research*, 135 : 17-19.
- **BATARD É, EL KOURI D, POTEL G .2007.** Infections à staphylocoques : aspects cliniques. *Maladies Infectieuses*. 1-8
- **BAUD O. et GOURDON F. 2009.** « Antibio-guide », CHU de Clermont Ferrand.
- **BEN MAHDI, M ET OUSLIMANI, S. 2009.** Mise en évidence des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérois. *European Journal of Scientific Research*, (3) : 357-362.
- **BENITO D et al . 2015.** Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from humans related to a livestock farm in Spain, with detection of MRSA-CC130 carrying *mecC* gene: A zoonotic case. *Enfem Infec Microbial Clin*, 34 (5), 280-285.
- **BENDAHOU A et al .2008.** Characterization of *Staphylococcus* Species Isolated from Raw Milk and Milk Products (Iben and Jben) in North Morocco. *J Infect Developing Countries*, 2 (3): 218–25.
- **BERCHE P, GAILLARD J, SIMONET M. 1988.** Collection de la biologie à la Clinique. Bactériologie : bactéries des infections humaines. Flammarion. Médecine-Sciences, Paris. p267-277.
- **BHUNIA A K. 2008.** Foodborne Microbial Pathogens : Mechanisms and Pathogenesis, Springer, New York
- **BIEN J, SOKOLOVA O, BOZKO P. 2011.** Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Pro-inflammatory Response, *Journal of Pathogens*, Volume 2011 Article ID 601905, 13 p.
- **BILJANA M S et al. 2015.** *Staphylococcus aureus*: immunopathogenesis and human immunity. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 32(4): 243-257.

- **BODEN M K, FLOCKJ I. 1989.** Fibrinogen-binding protein/clumping factor from *Staphylococcus aureus*. *Infect immun* 57(8): 2358-2363.
- **BRISABOIS A, et al. 2003.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe, *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, numéro 16, Paris
- **BRONNER S, MONTEIL H, PREVOST G. 2004.** Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev*, 28 (2): 183-200
- **BRYSKIER A. 1999.** « Antibiotiques : Agents antibactériens et antifongiques ». Edition Ellipses. Paris. France.
- **BUCKINGHAM SC, MCDUGAL LK, CATHEY LD, ET AL .2004.** Emergence of community Children’s Hospital. *Pediatr Infect Dis J*, 23: 619-624.
- **BUKOWSKI M, WLADYKA B, DUBIN G. 2010.** Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins*, 2 (5): 1148-65.

### C

- **CABALLERO J.D. D, PASTOR M.D, VINDEL A, MAIZ L, YAGÜE G, SALVADOR C, COBO M, MOROSINI MI, DEL CAMPO R, and CANTON R. 2016.** Emergence of Cfr-Mediated Linezolid Resistance in a Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Epidemic Clone Isolated from Patients with Cystic Fibrosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol 60, N°3: 1878–1882.
- **ÇAKIR N. 2001:** Rasyonel olmayan antibiyotik kullanımının ekonomik sonuçları. *Klimik Dergisi* 14, 35-40.
- **CARFORA V, CAPRIOLI A, MARRI, N, SAGRAFOLI D, BOSELLI C, GIACINITI G, GIANGOLINI G, SORBARA L, DOTTARELLI S, BATTISTI A, AMATISE, S. 2016.** Enterotoxin genes, enterotoxin production, and methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products in Central Italy. *International Dairy Journal*, 42 : 12-15.
- **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, CHAALAL N, BOURAFA N, KIHAL M, DIENE SM et ROLAIN JM. 2018.** Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from food

products in Western Algeria. *Foodborne Pathogens and Disease*. Foodborne Pathog Dis. 15(6): 353-360.

- **CHABY R. 2010.** des endotoxines au lipopolysaccharides : structure, activité cellulaires et effets physiopathologiques, édition Lavoisier, Paris. France.
- **CHAKRABORTY SUBHANKARI PRASAD, CHAKRABORTY PANCHANAN PRAMANIK, ROY SOMENATH. 2012.** A review on- emergence of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and role of chitosan nanoparticle in drug delivery. *International Journal of Life science and Pharma Research*, Vol 2 issue 1.
- **CHAMBERS HF. 1997.** Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, 10: 781–791.
- **CHARLIER C, MONTEL MC, BEUVIER E, LE LOIR Y. 2010.** Les Entérotoxines in « *Staphylococcus aureus* ». édition TEC et DOC, Paris. France.
- **CHAVAKIS T, WIECHMANN K, PREISSNER KT, HERRMANN M. 2005.** *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial secretable expanded repertoire adhesive molecules' (SERAM) in disturbing host defense systems. *Thrombosis Haemostasis*, 94 (2) : 278-285.
- **CHEN CHIH-JUNG, HUANG YHU-CHERING. 2018.** Emergence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Should it be a concern. *J Formos Med Assoc*.117(8): 658-661.
- **COURVALIN P et LECLERCQ R. 2012.** « Antibiogramme », 3<sup>ème</sup> édition, Eska, Paris. France.
- **COURVALIN P, LECLERCQ R, BINGEN E. 2006.** Antibiogramme. Edition Eska. Paris, France.
- **CURTIS, G., ET SUE. L. 2015.** Coagulase-Negative Staphylococci and Their Role in Infection in : *Molecular Medical Microbiology Second Edition*, 2: 793–810

D

- **DAKA, D, SOLOMON G.S, AND DAWIT Y. 2012.** Antibiotic-Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Cow's Milk in the Hawassa Area, South Ethiopia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11: 26.
- **DE BUYSER ML, SUTRAT L. 2005.** *Staphylococcus aureus*. In. *Bactériologie alimentaire : Compendium d'hygiène des aliments*. Federighi, M. Ed. Economica. p 26-51.
- **DE OLIVEIRA, LILIAN PORTO, LUDMILLA SANTANA SOARES E BARROS, VALDIR CARNEIRO SILVA, AND MARINA GONÇALVES CIRQUEIRA .2011.** Study of *Staphylococcus aureus* in Raw and Pasteurized Milk Consumed in the Reconcavo Area of the State of Bahia, Brazil. *J. Food Process Technol.* 2 (6): 1000128.
- **DELBES, C. 2010.** Habitat in. *Staphylococcus aureus*. Le Loir, Y, Gautier, M. Tec & Doc, Lavoisier. France. p 58-64.
- **DENGFENG W et al. 2015.** Bovine Mastitis *Staphylococcus aureus*: Antibiotic Susceptibility Profile, Resistance Genes and Molecular Typing of Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive Strains in China. *Infection, Genetics and Evolution*, Vol, N° 31: 9–16.
- **DONIO, P, Y. 2010.** Sensibilité de la bactérie aux agents bactériostatiques ou bactéricides. In. *Staphylococcus aureus*. Le Loir, Y, Gautier M. Tec & Doc, Lavoisier. France. p 112-133.
- **DUFOUR P, GILLET Y, BES M, LINA G, VANDENESCH F, FLORET D, ETIENNE J, RICHEL H 2002.** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France : emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis.* 35(7): 819-24.
- **DURAND G, M. BES, et al. 2006.** Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones containing the toxic shock syndrome toxin 1 gene responsible for hospital- and community-acquired infections in France. *J Clin Microbiol*, 44 (3): 847-53.

### E

- **EFSA. 2014.** Report for 2012 on the results from the monitoring of veterinary medicinal products residues and other substances in live and animal products. EFSA supporting publication 2014: EN-540, pp65.
- **EL KOURI D, POTTIE R M A, TRE WICK D, LE GALLOU F, BARON D ET POTEL G.1998** .Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. Encycl Méd.et bactériologiques. EMC - Maladies infectieuses.1-8

### F

- **FAUCHERE JL, AVRIL JL. 2002.** Bactériologie générale et médicale. Edition Ellipses, Paris. 213-217.
- **FERNANDEZ LG. et TURNER MC. (2017).** « The chronicles of incision management: clinical insights, perspectives, and treatment approaches ». Duke University Medical Center and University of Texas Medical Center. Volume1.
- **FOSTER T.J., HOOK M 1998.** Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol, 6(12) : 484-488

### G

- **GALMICHE A, BOQUET P. 2001** Toxines bactériennes : facteurs de virulence et outils de biologie cellulaire. Médecine/Sciences, 17 : 691-700.
- **GARIPCIN M, ESRA S. 2015.** Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cattle and farm workers in Turkey. VETERINARSKI ARHIV, 85 (2) : 117-129.
- **Garrity GM, Johnson KL, Bell J and Searles DB. 2002.** Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, second ed. Springer-verlag, New York. 60.
- **GORDON L, CLOECKAERT A, DOUBLET, B., SCHWARZ, S., AGNES BOUJU ALBERT A, GANIERE JP, LE BRIS H, LE FLECHE-MATEOS A, GIRAUD E. 2008.** Complete sequence of the *floR*-carrying multiresistance plasmid pAB5S9 from freshwater *Aeromonas bestiarum*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 62 : 65–71.
- **GRACE D et FETSCH A. 2018.** *Staphylococcus aureus* a Foodborne Pathogen: Epidemiology, Detection, Characterization, Prevention, and Control: An Overview.” In *Staphylococcus aureus*. Edition Elsevier, p 3–10.

- **GRAS D. 2006.** Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidique et *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat : Université de REIMS Champagne Ardenne U.F.R. de médecine. p185.
- **GUIRAUD JP et ROSEC JP. 2004.** Pratiques des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR 2004. ISBN 2-12-445211-8.
- **GOERGE T, LORENZ M, VAN ALEN S, HUBNER N, BECKER K, KOCK R. 2015.** MRSA colonization and infection among persons with occupational livestock exposure in Europe: Prevalence, preventive options and evidence. *Vet Microbiol.* 200: 6-12

## H

- **HAMZE, M., F. DABBOUSSI, W. DAHER, AND D. IZARD. 2003.** Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* au Nord Du Liban : Place de La Résistance à la Méricilline et Comparaison des Méthodes de Détection. *Pathologie Biologie*, Vol51, N°1. P21–26
- **HARAN K, GODDEN S M , BOXRUD D, JAWAHIR S, BENDER JB, SREEVATSAN S. 2012.** Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bullk tank milk from Minnesota dairy farms. *Journal of Clinical Microbiology*, 50 : 688-695
- **HARDY KJ, HAWKEY PM, GAO F, OPPENHEIM BA .2004.** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. *Br J Anaesth*, 92 : 121-130.
- **HEILMANN C. 2011.** Adhesion mechanisms of Staphylococci. *Adv Exp Med Biol.* 715 : 105-123
- **Henry, C.2017.** Efficacité de la rifampicine associée à une fluoroquinolone dans le traitement de relais Des endocardites à *Staphylococcus aureus* Sensible à la méricilline. Thèse de doctorat. Université de Picardie Jules Verne. France.
- **Hill LR. 1981.** Taxonomy of the staphylococci. *The staphylococci*. Aberdeen University Press.
- **HOOPER D.C. 2002.** Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci. *Lancel infect. Dis.* 2 : 530-38.
- **HUBER, H., S. KOLLER, N. GIEZENDANNER, R. STEPHAN, C. ZWEIFEL 2010:** Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin, Switzerland. *Euro. Surveill.*15, 1-4.

### I

- **İNEGÖL E, TÜRKYILMAZ S.2012.** Determination of SCCmec types in methicillin resistant staphylococci isolated from cows and farm workers. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg. 59 : 89-93.
- **ISABELLE VERDIER1, GERARD, LINA, YVES G, FRANÇOIS V .2015.** Cours de Bactériologie Médicale: STAPHYLOCOCCUS. Available at: <http://www.microbes-edu.org/etudiant/staph.html> Accessed October 11, 2015.

### J

- **JAMALI H et al. 2015.** Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. Food Control, 54 : 383-388.
- **JARRAUD S et al. 2001.** « egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus* ». Journal of Immunology, 166: 669–677.
- **JIBRIL M. 2015.** The prevalence of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (mrsa) isolated from raw bovine milk in the morogoro municipality, Tanzania. Master of Science. University of Agriculture. Morogoro, Tanzania.
- **JOFFIN C et JOFFIN J N. 2010.** microbiologie alimentaire, 6ème édition SCÉRÉN-CRDP Aquitaine.

### K

- **KALMUS P et al. 2011.** Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia. Acta Vet Scand, 53: 7.
- **KAMAL R M et al. 2013.** MRSA detection in raw milk; some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. Food Control, 33, 49-53.
- **KECHIH-BOUNAR S et al. 2018.** Carriage Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Poultry and Cattle in Northern Algeria. Vet Med Int. 4636121. PMID: PMC6031158
- **KHEMIRI M et al. 2018.** Genetic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and nasal samples of healthy cows in Tunisia: First report of ST97-t267-agrI-SCCmecV MRSA of bovine origin in Tunisia. Global Antimicrobial Resistance, 14: 161-165.
- **KOBAYASHI S et al. 2013.** *Staphylococcus aureus* Protein A Promotes Immune Suppression. Bio. 00764-13

L

- **LE MINOR L et VERON M. 1982.** « Bactériologie Médicale », 1<sup>ère</sup> édition, Flammarion, Paris
- **LE MINOR L et VERON M. 1990.** Bactériologie Médicale «*Staphylococcus et Micrococcus*» J.Fleurette 2<sup>ème</sup> édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773-794.
- **LECLERC H et al. 1995.** Microbiologie générale. Ed, DOIN. Paris. France.
- **LECLERCQ R et DAUREL C. 2008.** L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. Rev Francoph Lab, 81–90.
- **LECLERCQ R.** Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. Clin Infect Dis off Publ Infect Dis Soc Am, 34: 482–92.
- **LEKKERKERK W S N et al 2012.** Emergence of MRSA of Unknown Origin in the Netherlands. Clinical Microbiology and Infection, Vol 18, N° 7: 656–661.
- **LE LOIR Y ET GAUTIER M. 2010.** *Staphylococcus aureus*. Edition TEC et DOC, Lavoisier. p1-3.
- **LETERTRE C et al. 2003.** Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. Journal of Applied Microbiology, 95: 38–43.
- **LICOIS D. 2010.** Pathologie d'origine bactérienne et parasitaire chez le Lapin : Apports de la dernière décennie, Pathologie bactérienne et parasitaire, Cuniculture Magazine, Vol.37, page 38.
- **LONG J P et al . 2010.** « Les Facteurs de Virulence autres que les Entérotoxines », in « *Staphylococcus aureus* », Tec et Doc, Elsevier, Paris
- **LOWY F D. 2003.** « Antimicrobial Resistance: the Example of *Staphylococcus aureus* », the Journal of Clinical investigation, 111 (9): 1265-1273.
- **LOWY F D.** *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med, 339: 520–532.
- **LOCATELLI C et al. 2017.** Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cattle herds, related swine farms, and humans in contact with herds. J. Dairy Sci. 100:1–12.
- **LU T et al.** Characterization of fatty acid modifying enzyme activity in staphylococcal mastitis isolates and other bacteria. BMC Research Notes. 5 : 323

- **LYON B et SKURRAY R. 1987.** « Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus*: Genetic basis ». American Society for Microbiology, 51 (1) : 88-134.

### M

- **MACIAS E S et al. 2011.** « Superantigens in Dermatology », J Am Acad Dermatol, 64 (3): 455-472.
- **MADIGAN M et MARTINKO J. 2007.** Biologie des microorganismes, 11<sup>ème</sup> édition, BROCK, Paris.
- **MAINARDI J L. 2015.** Mécanisme d'action et de résistance aux antibiotiques : session interactive autour de l'antibiogramme». Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges POMPIDOU et Faculté de Médecine Paris René DESCARTES.
- **MALACHOWA N et DELEO F R. 2010.** Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. Cell Mol Life Sci CMLS, 67: 3057–71.
- **MERLET A. 2010.** Implication de la leucocidine de Panton et Valentine dans les infections sévères à *Staphylococcus aureus* en Nouvelle-Calédonie thèse de doctorat : Université Bordeaux 2 des sciences médicales. p117.
- **MORK T et al. 2011.** Réservoirs de *Staphylococcus aureus* chez les ovins à viande et les vaches laitières. Vétérinaire Microbiol. 155 (1): 81–7.
- **MORK T et al. 2010.** Bacteriological and molecular investigations of *Staphylococcus aureus* in dairy goats. Vet Microbiol, 141 (1-2): 134–41.
- **MUYLAERT A et MAINIL G. 2012.** résistances bactériennes aux antibiotiques: le mécanisme, faculté de médecine et vétérinaire, 156, 110.

### O

- **OMOE K et al. 2003.** Identification and characterization of a new staphylococcal enterotoxin-related putative toxin encoded by two kinds of plasmids ». Infection and Immunity, 71: 6088–6094.
- **OMOE K et al. 2005.** « Characterization of novel staphylococcal enterotoxin-like toxin type P ». Infection and Immunity, 73, 5540–5546.
- **ONO H K et al. 2008.** Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins types S and T . Infection and Immunity, 76: 4999–5005.
- **ORWIN P M et al 2001.** Biochemical and Biological properties of staphylococcal enterotoxin k . Infection and Immunity, 69: 360–366.

- **ORWIN P M et al. 2002.** Characterization of a novel staphylococcal enterotoxin-like superantigen, a member of the group V subfamily of pyrogenic toxins ». *Biochemistry*, 41, 14033–14040.

### **P**

- **PAPADOPOULOS P et al. 2018.** Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) along the production chain of dairy products in north-western Greece. *Food. Microbiol.* 69: 43-50.
- **PETINAKI E et SPILIOPOULOU I. 2012.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food-chain animals: impact of human contacts. *Clin Microbiol Infect*, 18(7): 626–34.
- **PEREIRA V et al . 2009.** Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiology*, 26 : 278-282

### **Q**

- **QUINCAMPOIX J C et MAINARDI J L .2001.** Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation* 10:267-275

### **R**

- **RAHIMI H et al. 2015.** Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Frequency and Antibiotic Resistance in Healthy Ruminants. *Jundishapur Journal of Microbiology*, Vol 8, N°10
- **REDGRAVE L S et al . 2014.** Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol.* 22(8) :438-45
- **ROBERT D. 2013.** « *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive ». Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université d'ANGERS des Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé, France.
- **ROLAIN J M et al. 2009.** Genomic Analysis of an Emerging Multiresistant *Staphylococcus aureus* Strain Rapidly Spreading in Cystic Fibrosis Patients Revealed the Presence of an Antibiotic Inducible Bacteriophage.” *Biology Direct*, Vol 4, N° 1. p1.

- **ROSS F.** 2012. Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin, evolution and public health threat. *Trends Microbiol.* 20 (4) :192-8.
- **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.
- **SCHMIDT T et al.** 2015. Diversity and antimicrobial susceptibility profiling of staphylococci isolated from bovine mastitis cases and close human contacts in South Africa. *J Dairy Sci.* 98 (9): 6256-69
- **SHITANDI A et STERNES J O.** 2004. Prevalence of Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus* in Milk from Large- and Small-Scale Producers in Kenya. *J. Dairy Sci.* 87 (12): 4145–4149.
- **SONG J et al.** 2012. The expression of small regulatory RNAs in clinical samples reflects the different life styles of *Staphylococcus aureus* in colonization vs.infection. *PLoS One* 7: e37294.
- **CARLE, S.** 2009. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel.* Vol 42, Supplément 2.

### T

- **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.
- **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 : 2013-207.
- **THOMAS D Y et al.** 2006. « Staphylococcal enterotoxin-like toxins U2 and V, two new staphylococcal superantigens arising from recombination within the enterotoxin gene cluster ». *Infection and Immunity*, 74: 4724–4734.
- **TITOUCHE Y et al.** 2019. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST8 in raw milk and traditional dairy products in the Tizi Ouzou area of Algeria. *Journal of Dairy Science*, <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16208> (Article in press).

### U

- **UNNERSTAD H E et al. 2018.** Suspected transmission and subsequent spread of MRSA from farmer to dairy cows. *Veterinary Microbiology*, 225: 114-119.

**V**

- **VAUTOR E et al. 2003.** Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites of farms with dairy sheep using pulsed-field gel electrophoresis. *Vet. Microbiol.* 96 : 69-79.
- **VELASCO D et al .2005.** Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 55(3): 379-382.

**W**

- **WASTON K et al. 2006.** « Upper respiratory tract bacterial carriage in aboriginal and non-aboriginal children in a semi-arid area of Western Australia ». *Pediatrics Infectious Diseases Journal*, 25: 782-790
- **WERTHEIM H F et al. 2005.** The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*, 5(12): 751-762.
- **WINSTON L G et CHAMBERS H F. 2009.** Antimicrobial Resistance in Staphylococci: Mechanisms of Resistance and Clinical Implications. Mayers D.L. *Antimicrobial Drug Resistance, volume 2, Clinical and Epidemiological Aspects.* Humana Press, New York. p: 735-748

**X**

- **XIA G, KOHLER T, PESCHEL A. 2010.** The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, 300:148–154.

---

# ***ANNEXES***

---

**Annexes I : Préparation et composition des milieux de culture utilisés****Gélose de Baird Parker**

Tryptone	10g/L
Extrait de viande	5g/L
Extrait de levure	1g/L
Pyruvate de sodium	10g/L
Glycine	12g/L
Chlorure de lithium	5g/L
Agar agar bactériologique	15g/L

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

**Préparation :** Mettre en suspension 60g de milieu BP déshydraté dans 950ml d'eau distillée. Porter à ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète, puis répartir en flacons en raison de 95ml par flacon. Stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

- Préparation du jaune d'œuf.
  - Utiliser l'œuf frais de poule dont la coquille n'est pas endommagée.
  - Nettoyer les œufs à l'aide d'un torchon mouillé.
  - Aseptiquement, casser chaque œuf et séparer le blanc du jaune.
  - Recueillir les jaunes dans un Becher stérile pour 100ml de jaune et compléter avec quatre fois leur volume d'eau distillée stérile.
  - Homogénéiser fermement.
  - Chauffer le mélange à 45-47°C pendant 2 heures.
  - Entreposer au réfrigérateur pendant 24 heures, le temps nécessaire pour la formation d'un précipité.
  - Recueillir stérilement le surnageant constituant l'émulsion.

**Composition du milieu complet**

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

---

**Bouillon Coeur cervelle (BHIB)**

---

Infusion de cervelle veau	12,50g/L
Peptone pancréatique de gélatine	10g/L
Infusion de coeur bœuf	5g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Phosphate disodique	2.5g/L
Glucose	2g/L

---

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

**Préparation :** 37g par litre d'eau distillée, agiter lentement jusqu'à dissolution complète. Répartir le milieu dans des flacons puis stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C. Pour l'obtention du milieu solide BHI, 20g d'agar bactériologique ont été additionnés à 1L de bouillon BHIB lors de sa préparation.

---

**Bouillon Chapman**

---

Tryptone	5g/L
Peptone pepsique de viande	5g/L
Extrait de viande	1g/L
Mannitol	10g/L
Chlorure de sodium	75g/L
Rouge de phénol	25g/L

---

pH 7,4 ± 0,2 à 37°C

**Préparation :** 125g par litre d'eau distillée, agiter lentement jusqu'à dissolution complète. Répartir le milieu dans des flacons puis stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C. Pour l'obtention du milieu solide Chapman, 15g d'agar bactériologique ont été additionnés à 1L de bouillon Chapman lors de sa préparation.

---

**Bouillon Clark et Lubs**


---

Peptone	5g/L	
Glucose		5g/L
Hydrogénophosphate de potassium		5g/L
Eau distillée		1L

---

pH 7,5 ± 0,1 à 37°C

---

**Gélose à ADN**


---

Peptone de caséine		15g/L
Peptone		5g/L
Chlorure de sodium		5g/L
Acide désoxyribonucléique		2g/L
Agar bactériologique		15g/L

---

pH 7,4 ± 0,2 à 37°C

---

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

---

**Milieu TSYEA (Trypton Soja Yeast Extract Agar)**


---

Tryptone		17g/L
Chlorure de sodium		5g/L
Peptone de soja		3g/L
Phosphate dipotassique		2.5g/L
Glucose monohydrate		2.5g/L
Extrait de levure		6 g/L
Agar bactériologique		15 g/L

---

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

---

**Préparation** : mettre en suspension 51g dans 1l d'eau distillée. Bien mélanger chauffer légèrement si nécessaire jusqu'à dissolution. Répartir en flacons puis stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

## Annexe II : Résultats des tests biochimiques pour l'ensemble des colonies identifiées.

	Catalase	ADNase	Coagulase	VP	Code
C1EF2ELV <sub>2</sub>	+	+	+	+	266
C2EF2ELV <sub>2</sub>	+	+	+	+	267
C1EV1F1S	+	+	+	+	268
C2EF1V1S	+	-	-	NT	/
C1EF2V6S	+	-	-	-	/
C2EF2V6S	+	-	-	+	/
C3EF2V6S	+	-	-	-	/
C1EF2ELV <sub>1</sub>	+	+	+	+	269
C1 <sub>(1)</sub> EF3V4S	+	-	NT	+	/
C1 <sub>(2)</sub> EF3V4S	+	-	NT	+	/
C3EF3V4S	+	-	NT	+	/
C2EF3V4S	+	-	NT	NT	/
C1EF3V16S	+	+	-	NT	/
C2 <sub>(1)</sub> EF3V16S	+	-	NT	-	/
C2 <sub>(2)</sub> EF3V16S	+	+	-	NT	/
C2EF6V1S	+	+	+	+	303
C3EF6V1S	+	+	+	+	304
C1EF6V2S	+	+	+	+	299
C2EF6V2S	+	+	+	+	302
C1EF6V3S	+	+	+	+	315
C2EF6V3S	+	+	+	+	316
C2EF6V7S	+	+	+	+	300
C3EF6V7S	+	+	+	+	301
C2EF6V9S	+	+	+	+	318
C1EF6V10S	+	+	+	+	313
C2EF6V10S	+	+	+	+	314
C2EF6V11S	+	+	+	+	317
EF6V12S	+	+	+	+	310
LF12S	+	+	+	+	312
C1EF7V3S	+	+	+	+	311
C2EF7V3S	+	+	+	+	319
C3EF7V3S	+	+	+	+	320
C1EF10V3S	+	+	+	+	309
C1EF6V1S	+	+	+	+	321
C1EF6V4S	+	+	+	+	322
C2EF6V4S	+	+	+	+	329
C3EF6V4S	+	+	+	+	330
C1EF6V7S	+	+	+	+	331
C1EF6V9S	+	+	+	+	332
C1EF6V11S		+	+	+	333
EF7V6S	NT	+	-	NT	/
C1EF9V1S	NT	+	-	NT	/
C2EF9V1S	NT	+	-	NT	/
C2EF10V3S	NT	+	-	NT	/
C2EF10V5S	NT	-	NT	NT	/
EF9V4S	NT	+	-	NT	/
C1EF10V5S	NT	-	NT	NT	/
C3EF10V5S	NT	-	NT	NT	/
EF11V1S	NT	-	NT	NT	/
EF11V4S	NT	+	-	+	/







C1EF11c1S	NT	-	NT	+	/
C2EF11c1S	NT	+	-	+	/
EF11c3S	+	+	+	+	336
EF12c1S	NT	+	-	NT	/
C1EF12c2S	NT	-	NT	NT	/
C2EF12c2S	NT	-	NT	NT	/
C1EF12c3S	NT	-	NT	NT	/
C2EF12c3S	NT	-	NT	NT	/
EF12c4S	+	+	+	+	335
C1EF12c6S	NT	+	-	-	/
C2EF12c6S	NT	-	NT	NT	/
EF12C8S	NT	+	-	+	/
C1EF12c9S	NT	-	NT	NT	/
C2EF12c9S	NT	-	NT	NT	/
C1LF12S	+	+	-	+	/
C2LF12S	+	+	+	+	334

(+), test positif ; (-), test négatif ; **NT** : non testé ; **C** : Colonie ; **c** : caprins ; **E** : Ecouvillonnage ; **ELV** : Eleveur ; **F** : Ferme ; **L** : Mélange du lait ; **S** : code pour différencier nos prélèvements

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

Familie	Antibiotique	Diamètre critique			Références
		Sensible	Intermédiaire	Résistant	
β-lactamines	Pénicilline G	≥ 29	-	≤ 28	CLSI 2018
	Céfoxitine	≥ 22	-	< 22	CASFM 2019
Aminoglycosides	Gentamicine	≥ 15	13-14	≤ 12	CLSI 2018
	Néomycine	≥ 18	-	< 18	CASFM 2018
Macrolides	Erythromycine	≥ 23	14-22	≤ 13	CLSI 2018
Tétracyclines	Tétracycline	≥ 19	15-18	≤ 14	CLSI 2018
Quinolones	Ofloxacine	≥ 18	15-17	≤ 14	CLSI 2018
Phénicol	Chloramphénicol	≥ 18	13-17	≤ 12	CLSI 2018
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	≥ 16	11-15	≤ 10	CLSI 2018

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

	
<p><b>Colonies caractéristiques de <i>S. aureus</i> sur milieu Baird Parker</b></p>	<p><b>Colonies de <i>S. aureus</i> sur milieu BHI</b></p>
	
<p><b>Test de la coagulase</b></p>	<p><b>Test de l'ADNase</b></p>
	
<p><b>Test de Vogts Proskower</b></p>	<p><b>Test Catalase</b></p>

**Annexe V** : Résultats détaillés de l'antibiogramme des souches de *S. aureus* isolées.

	P	FOX	C	E	SXT	TE	CN	N	OFX
S266	R	S	S	S	S	S	S	S	S
S267	R	S	S	S	S	S	S	S	S
S268	R	S	S	S	S	S	S	S	S
S269	R	S	S	S	S	S	S	S	S
S299	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S300	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S301	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S302	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S303	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S304	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S309	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S310	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S311	S	S	I	S	S	S	I	S	S
S312	R	S	S	S	S	S	S	S	S
S313	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S314	S	S	S	S	S	S	S	R	S
S315	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S316	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S317	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S318	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S319	S	S	S	S	S	S	S	R	S
S320	S	S	S	S	S	S	S	R	S
S321	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S322	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S329	R	S	S	I	S	S	S	R	S
S330	S	S	S	I	S	S	R	R	S
S331	S	S	S	I	S	S	S	S	S
S332	S	S	S	I	S	S	S	R	S
S333	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S334	S	S	S	S	S	S	S	R	S
S335	S	S	R	I	S	S	R	S	S
S336	S	S	S	I	S	S	S	R	S