



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences

Biologiques.

Option : Microbiologie appliquée.

THEME

Prévalence de souches de
Staphylococcus aureus dans le lait cru
et les produits laitiers artisanaux.

Présenté par :

M^{elle} BENBOUABDELLAH SARAH

M^{elle} ZIANE DALILA

Présenté devant le jury :

Présidente : M^{me} HELLAL.Z ; Maitre assistante <<A>>, UMMTO.

Encadreur : M^r TITOCHE.Y ; Maitre assistant <>, UMMTO.

Examinatrice 1 : M^{elle} DERMECHE. S ; Maitre assistante <<A>>, UMMTO.

Examinatrice 2 : M^r SEBBANE. H ; Maitre assistant <<A>>, UMMTO.

Promotion 2014-2015

Remerciements

Nous tenons, en premier lieu, à rendre grâce à dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

*A notre promoteur Mr **TITOUCHE.Y** ; Maitre assistant à l'**UMMTO** recevez notre grande reconnaissance pour votre disponibilité, votre aide, votre rigueur scientifique et vos précieux conseils qui ont fait progresser ce travail, nous avoir facilité grandement la tâche et nous permettons d'aboutir à la production de ce manuscrit. Les remerciements exprimés ici ne seront jamais à la hauteur de votre implication dans ce travail. Soyer assuré, de tout notre respect et notre profonde gratitude.*

*Notre profonde reconnaissance va également à M^{me} **HELLAL** maitre assistante à l'**UMMTO** de nous avoir honoré en président le jury. Veuillez trouver ici l'expression de notre grand respect. Soyez assuré de notre respectueuse considération.*

*Nous remercions, M^r **SEBBANE** et M^{lle} **DERMECHE** les Maitres assistants a l'**UMMTO** de nous avoir fait l'immense plaisir et l'honneur d'examiner ce modeste mémoire.*

Nos remerciements s'adressent finalement a toutes les personnes qui nous ont apportés leur aide, leur soutiens et a tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Tout au début, nous tenons à remercier le bon dieu de nous avoir donné du courage et de la patience afin de réaliser ce modeste travail que nous dédions :

A nos chers parents qui nous ont beaucoup aidés et soutenus durant toutes nos années d'étude.

A nos chers frères et sœurs, sans qui nos vies n'auraient pas de sens.

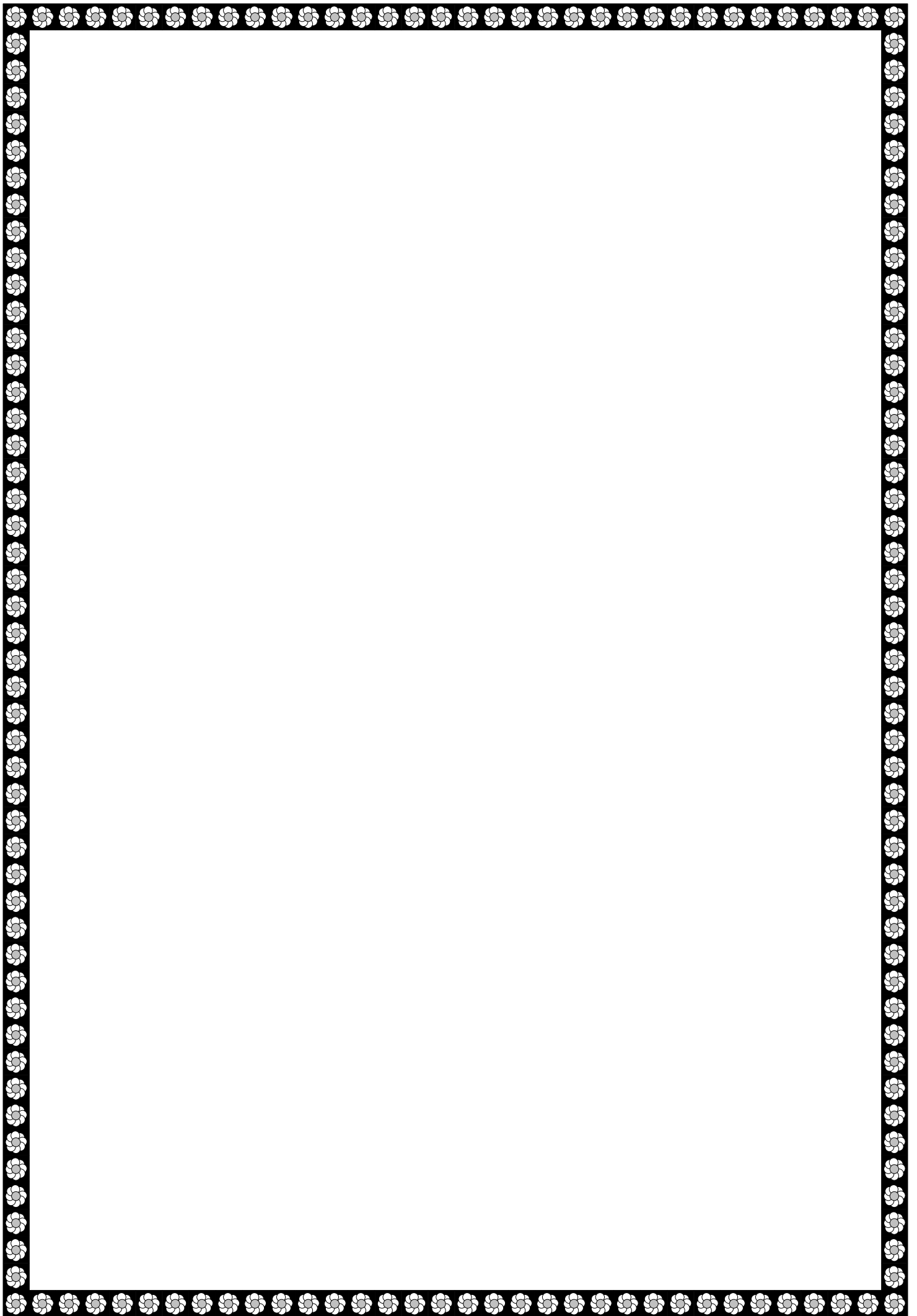
A la mémoire de nos grands parents.

A toutes nos familles paternelles et maternelles.

A tous nos amis(es) sans exception.

A la promotion MICROBIOLOGIE 2014/2015

Sarah et Dalila



Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Glossaire	
Introduction.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Généralités sur le lait et les produits laitiers	
Introduction.....	3
1-Lait cru.....	3
1-1-Définition du Lait cru.....	3
1-2- Composition chimique du lait.....	4
1-3- Propriétés physico-chimiques du lait.....	5
1-4 -propriétés organoleptiques du lait.....	5
1-5- Eléments biologiques du lait de vache.....	6
2-Fromage.....	9
2-1- Définition du fromage frais.....	9
2-2-Processus de fabrication du fromage.....	9
3-Beurre.....	10
3-1-Définition du beurre.....	10
3-2-composition biochimique.....	11
3-3-Technologie traditionnelle du beurre.....	12
Conclusion.....	14
Chapitre II : Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i>	
Introduction.....	15
1-Le genre <i>Staphylococcus</i>	15
1-1-Historique.....	15
1-2- Positions taxonomiques et classification.....	15

1-3- Classification phylogénique.....	16
2- l'espèce <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2-1-Habitat.....	16
3-Identification de l'espèce au sein du genre.....	17
4- Génétique de <i>S.aureus</i>	19
5- Pouvoir pathogène.....	20
5-1- Enterotoxines.....	20
5-1-1-Caractéristiques principales.....	20
5-1-2- Eléments génétiques des enterotoxines.....	21
5-2-Facteurs de virulence autre que les enterotoxines.....	23
5-2-1-Enzymes.....	24
5-2-2- les toxines.....	25
Conclusion.....	26
 Chapitre III : Résistances des <i>S.aureus</i> aux antibiotiques	
Introduction.....	28
1-Les antibiotiques.....	28
1-1définition.....	28
1-2 Critères de classification des antibiotiques.....	29
1-3- Mode d'action.....	29
1-3-1- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.....	30
1-3-2- Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines.....	31
1-3-3- Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique.....	32
1-3-4- Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique.....	33
2- Mécanismes de résistance.....	34
2-1-Définition de la résistance bactérienne.....	34
2-2- Les phénotypes de résistance.....	34
2-3-Les niveaux de résistance.....	35

2-4-Origine génétique de la résistance et modalités de transfert génétique.....	35
2-4-1- Résistance naturelle ou intrinsèque.....	35
2-4-2-Résistance acquise.....	35
3-Principaux modes de résistances des bactéries.....	37
3-1-Phénomène d'imperméabilité.....	38
3-2-Phénomène d'efflux.....	39
3-3- Défaut d'affinité.....	39
3-4-Résistance par modification enzymatiques.....	39
4-Résistances de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	40
5- les facteurs induisant la résistance aux antibiotiques.....	43
Conclusion.....	44
Chapitre IV : les infections staphylococciques	
Introduction.....	45
1-Principales pathologies chez l'Homme.....	45
1-1 Staphylococcies cutanéomuqueuses.....	45
-Infections folliculaires	45
-Infections non folliculaires.....	47
1-2-Septicémie.....	48
1-3-Entérocolites aiguës.....	48
1-4- les maladies liées à la production de toxines (Toxémie).....	49
1-5-Autres infections Staphylococciques (infections nosocomiales).....	50
2- Principales pathologies chez l'animal.....	50
3- Traitement.....	51
4- prévention	52
Conclusion.....	52

Partie expérimentale

I-Matériels et Méthodes

1-Objectifs.....	53
2-Durée et lieu de l'étude.....	53
3-Nature des échantillons.....	53
4- Prélèvement des échantillons.....	53
5- Transport et conservation des échantillons.....	54
6- Recherche des <i>S. aureus</i>	55
6.1. Prise d'essai et préparation de la suspension mère.....	55
6.2. Enrichissement.....	55
6-2- L'isolement.....	56
7- Purification des souches isolées.....	57
8- Aspect microscopiques des colonies (Coloration de Gram).....	58
9- Identification biochimique.....	59
9-1-Test de la catalase.....	59
9-2- Test de la coagulase.....	60
9-3-Test de la désoxyribonucléase (DNase).....	61
9-4- Test de Vogs Proskauer (VP).....	62
9-5- Recherche du nitrate réductase.....	63
10- Evaluation de l'antibiorésistance.....	65
11- Détermination de la sensibilité aux antibiotiques.....	65
11-1- Technique de l'antibiogramme.....	65
11-2- les antibiotiques testés.....	66
12- Recherche complémentaire obligatoire de la résistance de <i>S. aureus</i> à l'Oxacilline.....	66
13- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide vis-à-vis de l'Oxacilline.....	67

14- Conservation des souches.....	68
-----------------------------------	----

II-Résultats et discussion

1-Prévalence des souches de <i>S.aureus</i> dans les prélèvements analysés.....	69
---	----

2-Test de sensibilité des souches de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	72
---	----

2-1-Souches SARM (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline).....	73
---	----

2-2- Souches SASM (<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline).....	78
--	----

Conclusion.....	84
------------------------	-----------

REFERENCES BOBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Résumé

Listes des figures.

figure	Titre	Pages
1	Composition moyenne du lait de vache (g/l de lait).	4
2	Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels marocains.	10
3	Technologie de fabrication du beurre.	12
4	Couques de <i>Staphylococcus aureus</i> disposées en grappes de raisins ; micrographie électronique à balayage (Gx100).	15
5	Aspect morphologique de souche de <i>Staphylococcus aureus</i> observé au microscope électronique.	18
6	Schématisation de quelques facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> .	23
7	Introduction des antibiotiques et développement de l'antibiorésistance chez <i>staphylococcus aureus</i> .	28
8	Mode d'action des antibiotiques.	34
9	Différents moyens pour le transfert horizontal des gènes de résistances aux antibiotiques.	37
10	Structure des systèmes d'efflux actifs.	39
11	Comparaison d'une cellule de <i>S. aureus</i> sensible (1) et une autre résistante à la vancomycine (2).	41
12	Infections bactériennes de la peau ; localisation schématique des différentes maladies.	45
13	Ostiofolliculite.	46
14	Furoncle.	46
15	L'anthrax	46
16	furonculose	47
17	Impétigo bulleux	47
18	L'abcès	48
19	Signes cliniques sur les mamelles d'une vache atteinte de mammite.	51
20	Protocole de prélèvements des échantillons de lait cru et des produits laitiers au niveau de différents points de prélèvement.	54
21	Milieu Giolitti Cantoni avant et après incubation.	55
22	Gélose de Chapman avant et après incubation.	56
23	Schéma illustrant les étapes de la recherche des <i>S.aureus</i> .	57
24	Souches de <i>Staphylococcus aureus</i> purifiées sur gélose Chapman.	58

Listes des figures.

25	Aspect microscopique des <i>Staphylococcus</i> (observation au microscope optique, grossissement $\times 100$).	59
26	Mise en évidence de la catalase.	60
27	Test de la coagulase.	61
28	Mise en évidence de l'ADNase.	62
29	Mise en évidence de la production de l'acétoïne.	62
30	Mise en évidence du nitrate réductase.	63
31	Protocole de recherche et d'identification de <i>S.aureus</i> .	64
32	Screening à l'Oxacilline pour <i>S. aureus</i> .	67
33	Test de la recherche de la résistance à l'oxacilline chez <i>S. aureus</i> .	74
34	Résultats de la microdilution en milieu solide vis-à-vis l'Oxacilline	75
35	Souche SARM présentant une multi résistance	78
36	Souche SASM présentant une multi-résistance	83

Liste des tableaux.

Tableaux	Titre	Pages
I	Composition générale du lait de vache.	4
II	Répartition (en %) des différents types cellulaires dans le lait de vache en absence et en présence d'infection mammaire.	7
III	Flore originelle du lait cru.	7
IV	Composition pondérale moyenne du beurre.	11
V	Principaux caractères des Staphylocoques.	18
VI	Propriétés des enterotoxines A à J de <i>Staphylococcus aureus</i> .	21
VII	les facteurs induisant la résistance aux antibiotiques.	44
VIII	Toxi-infections Staphylococciques et toxines impliquées.	50
IX	Fréquence d'isolement des souches de <i>S.aureus</i> à travers les différents types de produits analysés.	69
X	Fréquence de contamination par <i>S.aureus</i> selon le point de prélèvement.	69
XI	Sensibilité des isolats de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.	73
XII	Répartition des souches SARM en fonction des prélèvements	76
XIII	Répartition des souches SASM en fonction des prélèvements.	79
XIV	Fréquence de résistance des SASM aux antibiotiques	79
XV	Phénotype de résistance des souches de <i>S.aureus</i> isolées.	83

Liste des abréviations.

Mb: Mega base.

PM : Poids Moléculaire.

KDa: Kilo Dalton.

a_w : activité de l'eau.

Sp : espèce.

SCP : Staphylocoques à Coagulase Positive.

SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative.

SARM : *S.aureus* résistant à la méticilline.

SASM : *S.aureus* sensible à la méticilline.

MG : Matière Grasse.

G : Guanine.

C : Cytosine.

TIA : Toxi-infections alimentaires.

UFC : Unité Formant Colonies.

NCCL : National Comitee For Clinical Laboratory Standard.

MSCRAMMs : protéines de la paroi cellulaire (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules).

SE : Enterotoxines Staphylococciques.

C: Chromosome.

P: Plasmide.

TSST : Toxine du Syndrome du Choc Toxique.

agr: accessory gene regulator.

ATB : Antibiotique.

PLP : Protéines Liant les Pénicillines.

D-ala: D-alanine.

EDP I: Energy Dependant Phase I.

EDP II: Energy Dependant Phase II.

Liste des abréviations.

PAB : Acide para-amino-benzoïque.

DHF : Dihydrofolate.

DHPS : Dihydroptéroate Synthétase.

DHFR : Dihydrofolate Réductase.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

MLS : Macrolides Lincosamides Streptogramines.

EI : Endocardite Infectieuse.

Les aliments ne peuvent jamais être entièrement salubres et indemnes de dangers. En effet, la sécurité alimentaire est aujourd'hui menacée par de nombreux agents pathogènes responsables d'une variété de maladies, incluant les bactéries, les moisissures et les virus.

Les intoxications alimentaires sont considérées comme l'une des principales causes de toutes les maladies d'origine alimentaire. Elles ont un impact majeur sur la santé publique dans le monde entier.

A ce jour, 250 différentes maladies d'origine alimentaire sont décrites et les bactéries sont les agents responsables de deux tiers des épidémies de ces maladies. Parmi les bactéries prédominantes impliquées dans ces maladies, *Staphylococcus aureus*, reconnu dans le monde entier comme un important agent pathogène polyvalent de l'homme et l'animal, provoquant ainsi une grande variété de maladies, allant de la sévérité de l'intoxication alimentaire (LE LOIR et al, 2003), du syndrome du choc toxique, à des infections moins graves, comme les furoncles (LOWY, 1998).

En dépit de sa pathogénicité, *S. aureus* est également hébergé dans les narines de 20 à 30% de personnes en bonne santé, alors qu'environ 60% de la population héberge le micro-organisme par intermittence.

S. aureus est présent de même sur la peau et les muqueuses des animaux producteurs de denrées alimentaires, tels que les ruminants où il est fréquemment associée aux mammites subcliniques, conduisant à la contamination du lait et ses dérivés.

La virulence de cet agent pathogène dépend en fait de plusieurs facteurs parmi eux, la résistance aux antibiotiques, qui constitue une menace majeure pour la santé publique de part le monde, en raison de la circulation de souches résistantes dans l'environnement et la possible contamination de l'eau et de la nourriture (DE BOER et al, 2009).

L'utilisation répandue d'antibiotique a accentué l'émergence de souches multirésistantes, ce qui rend plus difficile son éradication. La multi-résistance de *S. aureus* est assez commune dans les milieux hospitaliers et les fermes (LIVERMORE, 2000 ; SAKOULAS et MOELLERING, 2008) ; où elle fut détectée chez les animaux (LEE, 2003) et les aliments comme la viande (NORMANNO et al, 2007 ; PESAVENTO et al, 2007), le lait et ses produits (GUNDOGAN et al, 2006 ; PELES et al, 2007 ; PEREIRA et al, 2009) ainsi que les produits de la pêche (BELENEVA, 2011). Pour ces nombreuses raisons, cette bactérie de nos jours fait l'objet d'une étude pointilleuse dans des domaines multidisciplinaires tels : la biologie moléculaire, biologie cellulaire, génétique évolutive, etc.

En raison de son expansion continuelle dans les milieux hospitaliers et alimentaires chaque étude d'épidémiologie analyse une situation particulière, permettant non seulement de suivre et de comprendre son évolution, mais également de définir des stratégies de lutte au niveau de la santé humaine et animale.

En Algérie, *S. aureus* est fréquemment isolé dans des structures hospitalières, avec une résistance de l'ordre de 90% vis-à-vis de la pénicilline. Des résistances vis-à-vis de l'Oxacilline et de la Cefoxitine (MRSA) ont été rapportées (RAHAL et al, 2001). Cependant

INTRODUCTION

peu de données sont disponibles sur la caractérisation phénotypique et moléculaire des souches de *S. aureus* isolées en milieu vétérinaire, en particulier celles isolées de denrées alimentaires. Une telle situation nous a convaincu d'étudier l'état actuel de ce microorganisme dans quelques produits alimentaires de large consommation.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressé à l'isolement des souches de *S. aureus* à partir du lait et produits laitiers traditionnels (petit lait, lait caillé, fromage, beurre), et ceci dans le but d'étudier la prévalence de ce germe dans ces produits alimentaires. Les souches isolées étaient caractérisées en fonction de leurs résistances à un panel d'antibiotiques, utilisés en médecine vétérinaire et en médecine humaine, dans le but de prévoir l'existence de souches résistantes à la méticilline (SARM).

Introduction

Le lait fournit une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels : des minéraux, des vitamines et des protéines faciles à digérer. Il est par conséquent essentiel à l'ensemble des fonctions du corps (STEIJNS, 2008). Avec les céréales, les viandes, les légumes et les fruits, les produits laitiers sont considérés comme des aliments riches en nutriments, ils fournissent de nombreux éléments nutritifs à teneur relativement faible en énergie et indispensables à la santé tout au long du cycle de vie (DREWNOWSKI, 2005).

1-Lait cru

1-1-Définition du Lait cru

Le mot « lait » a été défini pour la première fois en 1909, au congrès international de la répression des fraudes de Paris comme : « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir le colostrum (premier lait de la femelle) » (JOFFIN C et JOFFIN JN, 2010).

Le décret du 25 mars 1924 précise que la dénomination « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance est réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière autre que la vache doit être désigné par la dénomination «lait » suivie de l'indication de l'espèce dont il provient : « lait de brebis... etc » (NOBLET, 2011).

Le lait est un liquide blanc mat, légèrement visqueux, dont la composition et les caractéristiques physico-chimiques varient sensiblement selon les espèces animales, et même selon les races (RAHALI et MENARD, 1991 ; SORYAL et *al*, 2004). Ces caractéristiques varient également au cours de la période de lactation, de la traite ou de l'allaitement. Schématiquement, on peut considérer le lait comme une émulsion de matière grasse dans une solution aqueuse, comprenant de nombreux éléments, dont les uns sont à l'état dissous et les autres sous la forme colloïdale.

Selon GUIRAUD (2003), les laits suivant sont considérés comme impropres à la consommation :

- Laits provenant d'animaux atteints de certaines maladies ;
- laits provenant d'animaux mal nourris et surmenés ;
- laits colorés, malpropres, malodorants ;
- laits contenant des antibiotiques ou antiseptiques ;
- laits coagulant à l'ébullition ;
- laits ne satisfaisant pas aux épreuves de dénombrement cellulaire prévues par la loi.

Selon CHAHED (1984), sont considérées comme des falsifications :

- l'addition au lait d'une quelconque substance non autorisée ;
- le mouillage du lait ;

Chapitre I : Généralités sur le lait et les produits laitiers.

- l'emploi de traitements non autorisés.

1-2- Composition chimique du lait

La composition moyenne du lait de vache est représentée dans le tableau I. Il fait apparaître les grandes catégories des constituants du lait : eau, glucides, matière grasse, protéines, constituants salins.

Tableau I : Composition générale du lait de vache (VIGNOLA, 2002).

Constituants majeurs	Variation limites (%)	Valeurs moyennes (%)
Eau	85,5 – 89,5	87,6
Matière grasse	2,4 – 5,5	3,7
Protides	2,9 - 5,0	3,2
Glucides	3,6 -5,5	4,6
Minéraux	0,7- 0,89	0,8
Constituants mineurs	Vitamines, enzymes, pigments	Cellules diverses, gaz

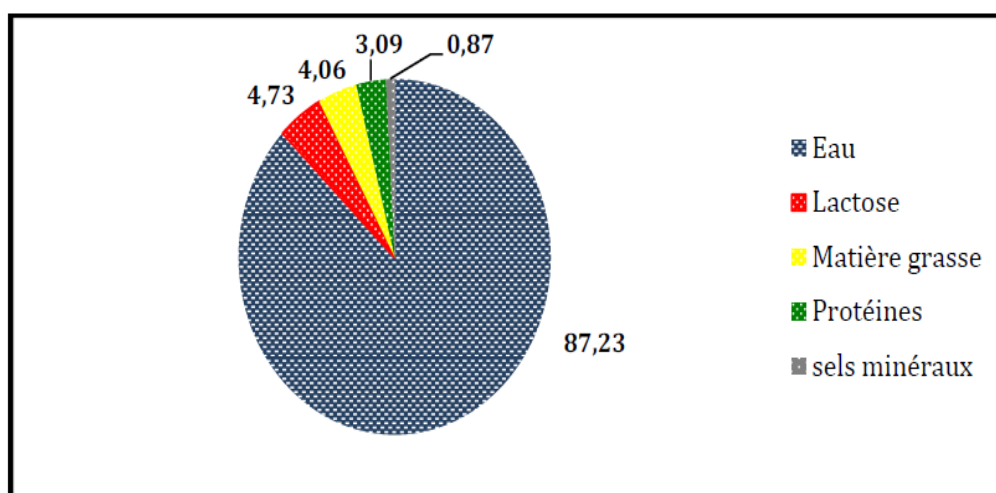


Figure 1 : Composition moyenne du lait de vache (g/l de lait) (DEBRY, 2001).

D'après ADRIAN et *al* (2003), le lait se compose de quatre phases en suspension les unes des autres :

- Une phase grasse qui renferme les lipides vrais et les éléments liposolubles.
- Une phase colloïdale qui renferme (comportant) les micelles de caséines.
- Une phase aqueuse composée de protéines solubles, de minéraux et du lactose.
- Une phase gazeuse comprenant essentiellement du CO₂ au moment de la traite.

Chapitre I : Généralités sur le lait et les produits laitiers.

Cette composition varie selon différents facteurs liés généralement aux animaux. Les principaux sont : la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison, l'âge et l'espèce (VIGNOLA, 2002).

1-3- Propriétés physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique ou la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (VIGNOLA, 2002), ceci se résume comme suit :

- La densité du lait peut varier entre 1,028 et 1,032 °C.
- Le point d'ébullition est à 100,5 °C.
- Le point de congélation peut varier de - 0,530°C à - 0,575°C.
- L'acidité est de 15 à 17 °D dans des conditions normales.

L'acidité se mesure en degré Dornic (D°), 1°D correspond à 1 mg d'acide lactique dans 10 ml de lait. Elle permet de juger l'état de conservation du lait.

1-4 -propriétés organoleptiques du lait

1-4-1) la couleur

Le lait, fraîchement récolté, est un liquide blanc opaque, du à la diffusion de la lumière par les caséines. Une richesse particulière en graisses lui confère parfois une teinte jaunâtre, surtout lorsque la matière grasse est riche en carotène (CHEFTEL et *al*, 1978) in (TABET, 1996).

1-4-2) l'odeur

Elle est caractéristique. En effet, la matière grasse que contient le lait fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation de la vache et à la conservation du lait.

1-4-3) la saveur

Elle varie en fonction de la température de dégustation et de l'alimentation de l'animal (FREDOT, 2006).

1-4-4) le goût

Le goût sucré (doux) du lactose est équilibré par le gout salé des chlorures et tous les deux sont modérés par des protéines. Cet équilibre est maintenu sur la vaste gamme de composition des laits, même quand le niveau d'ions de chlorures varie de 0,06 à 0,12 % (0,6 à 102 g / Kg) (KEBCHAOUI, 2012).

1-5- Eléments biologiques du lait de vache

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des microorganismes contaminants (GRIPON *et al*, 1975).

Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (Institut de l'élevage, 2009).

L'importance et la nature des bactéries contaminant le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (AGABRIEL *et al*, 1995), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (ROBINSON, 2002). Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml (RAMET, 1985).

Dans cette microflore contaminante, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (ADDA *et al*, 1982).

1-5-1) Cellules somatiques

Comme tout liquide biologique, le lait, contient des cellules somatiques hétérogènes. Elles sont, essentiellement constituées de globules blancs (Macrophages, polynucléaires neutrophiles et lymphocytes) de la circulation sanguine et de cellules épithéliales provenant de la desquamation des cellules épithéliales des canaux galactophores, des acini et lors de l'érosion du tissu glandulaire. Les différentes cellules retrouvées dans le lait évoluent en nombre et en proportion selon le stade physiologique de l'animal. En absence d'infection, les macrophages constituent le type cellulaire dominant et ce n'est qu'en cas d'infection du quartier que les polynucléaires neutrophiles affluent dans le lait où ils deviennent les plus nombreux. Quand aux autres types cellulaires, ils sont peu représentés, notamment les lymphocytes et les cellules épithéliales qui sont très peu nombreuses dans le lait des quartiers non infectés. Le nombre de cellules somatiques qui se trouvent dans le lait est un indicateur de "la santé du pis." Lorsque le pis lutte contre une infection ou une blessure, le nombre de cellules somatiques dans le lait augmente. Lorsque le lait contient plus de 500.000 cellules par millilitre, il est très probable que la vache souffre d'une mammite (GABLI, 2005). Le tableau suivant illustre les différents types cellulaires présents dans le lait en absence d'une infection

Chapitre I : Généralités sur le lait et les produits laitiers.

Tableau II : Répartition (en %) des différents types cellulaires dans le lait de vache en absence et en présence d'infection mammaire (LEE et COLL, 1980) in (GABLI, 2005).

Type cellulaire	Mamelle	
	Saine	Infectée
Polynucléaires neutrophiles	0-11	50-90
Macrophage	66-88	0,2-2
Lymphocyte	10-27	2,8-5,1

1-5-2) Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (CUQ, 2007).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (VIGNOLA, 2002). Il s'agit de microcoques, mais aussi des Streptocoques lactiques et des lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (VARNAM et SUTHERLAND, 2001). Le tableau III regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

1-5-2-1) la flore lactique (ou utile)

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son pouvoir de fermenter le lactose et par conséquent la capacité d'acidifier le lait par production d'acide lactique. Cette propriété permet d'améliorer les qualités organoleptiques d'un aliment grâce à la production de différents composés (KIHAL, 1996) in (ZAROOUR, 2010).

Tableau III : Flore originelle du lait cru (VIGNOLA, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	< 10

Chapitre I : Généralités sur le lait et les produits laitiers.

Parmi les bactéries lactiques ayant un habitat dans le lait, nous avons le genre *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Aerococcus* (LUQUET et CORRIEU, 2005).

Les bactéries lactiques représentent le deuxième plus grand marché de production de biomasse, après les levures (STREIT, 2008) in (ZAROOUR, 2010).

1-5-3 Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (VIGNOLA, 2002). Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *microcoques*, *corynébactéries*, *Bacillus*, etc., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, et l'herbe.

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries, de coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait.

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, Staphylocoques, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : *Salmonella*, *Brucella*, agent de la fièvre de malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose, *Mycobacterium bovis* et *tuberculosis*, agents de la tuberculose, *Bacillus anthracis*, agent du charbon, *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus (LEYRAL et VIERLING, 2007).

1-5-3-1) Flore d'altération

Incluse dans la flore contaminant, la flore d'altération causera des défauts sensoriels ; des bactéries lipolytiques qui détruisent les matières grasses et donnent une odeur de rance au lait, des bactéries protéolytiques qui hydrolysent les caséines donnant ainsi un mauvais goût au lait, des saveurs non désirées et atypiques ou des textures inadéquates dans les produits laitiers qui en dérivent, ce qui diminue la durée de leurs conservation. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont : *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, les coliformes soit principalement les genres : *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus sp*, *Clostridium sp* et certaines levures (*Candida kefyr* ...) et moisissures (*Penicillium*, *Fusarium* ...) (VIGNOLA, 2005).

1-5-3-2) Flore pathogène

Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et à l'origine d'infection grave chez l'Homme et les animaux.

Les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Brucella*, *Staphylococcus aureus* (pour lequel le deuxième chapitre est entièrement consacré) et certaines moisissures (VIGNOLA, 2002).

2-Fromage

2-1- Définition du fromage frais

Plusieurs variétés de fromage à partir du lait de vache, de chèvre et de brebis sont fabriquées, à travers le monde, dans des fermes suivant des techniques traditionnelles, sans addition intentionnelle de levains, et sont généralement conçues comme des " fromages artisanaux". Les paramètres technologiques ont une grande influence sur les caractéristiques finales du fromage et jouent un rôle important dans la composition microbienne qui est considérée à la fois par les fabricants et les consommateurs comme une caractéristique spéciale des fromages artisanaux (RANDAZZO *et al*, 2009).

2-2-Processus de fabrication du fromage

Selon RANDAZZO *et al* (2002), ce processus nécessite trois grandes étapes essentielles (voir figure 2): la maturation, la coagulation et l'égouttage.

□ **La maturation** : c'est l'incubation du lait cru à température ambiante pendant un temps variable de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait. Cette maturation peut être spontanée ou provoquée par adjonction de levains. Le recours à des levains artificiels du commerce n'est cependant pas toujours une nécessité absolue, car le fermier producteur de lait à lui-même la possibilité de cultiver un levain naturel à partir de la flore contenue dans son propre lait.

□ **La coagulation** : c'est une opération qui vise à coaguler le lait au moyen de la présure (emprésurage) ou de toute autre enzyme coagulante. L'activité coagulante est déterminée par la force de présure, la température du lait et son acidité. Après l'emprésurage, le lait est laissé entreposer à température ambiante pendant 6 à 10 heures. Il va prendre en masse (caillage) avec une consistance plus ou moins ferme selon le degré d'acidité développé.

□ **L'égouttage** : l'un des buts essentiels de cette opération est de régler la teneur en eau du fromage. Il permet l'élimination de la plus grande partie du sérum qui imprègne le coagulum. L'égouttage est amorcé dans des moules qui confèrent au fromage sa forme. La nature du gel influe sur la conduite de l'égouttage. Un gel lactique subit un égouttage spontané et le caillé a par conséquent une forte humidité. Cependant, un gel présure est un gel compact, solide où l'égouttage ne peut avoir lieu qu'après certaines interventions telles des actions mécaniques de pression. Suivant le goût du fromager, le salage peut être fait. C'est une opération importante dans la fabrication des fromages. Elle a des effets multiples : elle améliore l'égouttage en le complétant, elle oriente et sélectionne le développement microbien et relève la saveur de la pâte (KBIBOU, 1987 ; BENKERROUM *et* TAMIME 2004).

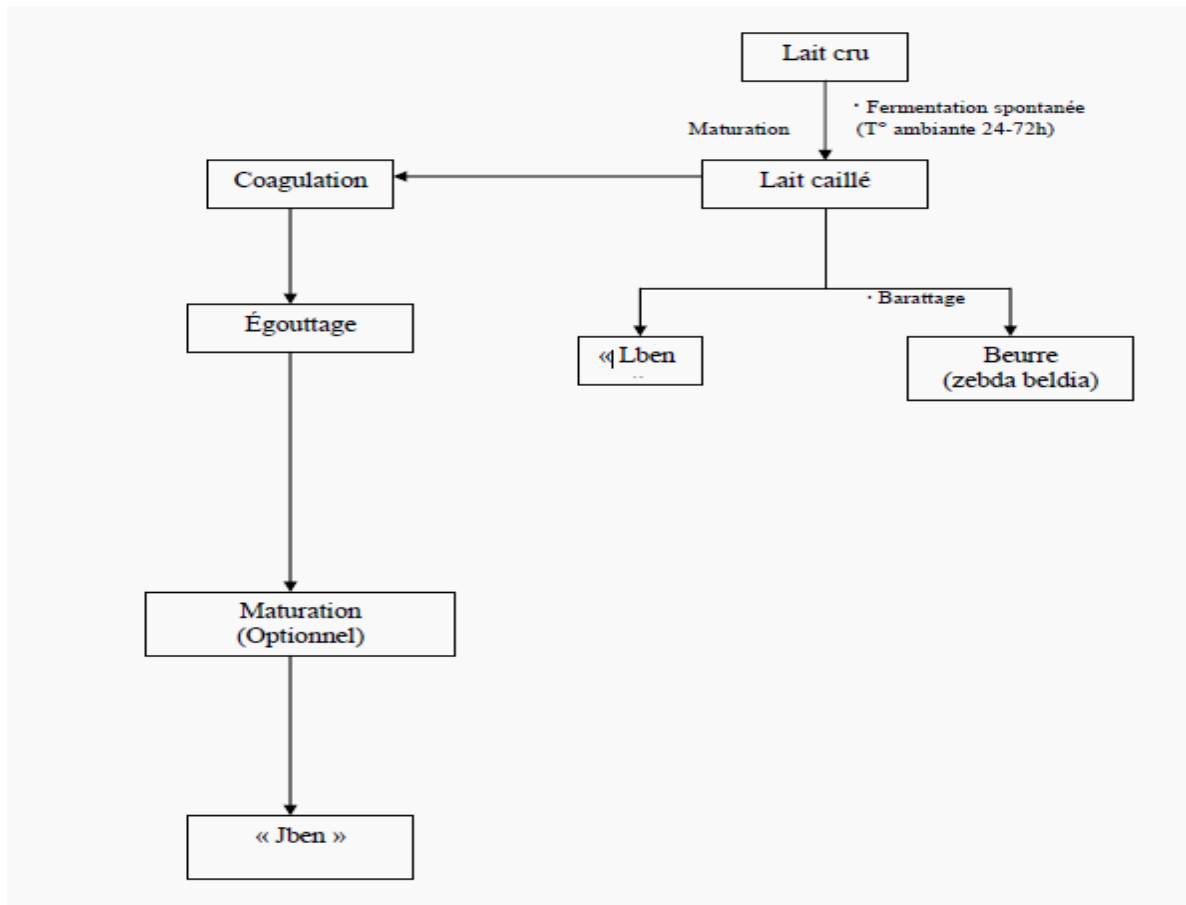


Figure 2 : Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels marocains (BENKERROUM, 2004).

3-Beurre

3-1-Définition du beurre

Le beurre est défini par l'article 1 du décret du 30/09/1988 et le règlement CE n°2991 /94 du 5 décembre 1994, produit du type émulsion d'eau dans la matière grasse dont les constituants, d'origine laitière, sont obtenus par des procédés physiques. L'opération essentielle de la beurrerie en dehors de l'écémage est le barattage qui provoque l'inversion de phase et aboutit à la formation du beurre et à la séparation du babeurre (partie non grasse de la crème). Le beurre est donc constitué par :

- Une phase continue de matière grasse ;
- Une phase discontinue contenant des gouttelettes d'eau, des débris des membranes de globules gras, des particules de caséines (POINTURIER et ADDA, 1969).

a-Dénomination

- Le beurre cru issu d'une crème n'ayant pas subi un traitement thermique.
- Le beurre fin ne doit pas dépasser 30% de matière grasse.

Chapitre I : Généralités sur le lait et les produits laitiers.

- Le beurre extra fin issu d'une crème pasteurisée fabriqué 72h après la collecte, le barattage de la crème a lieu 48h après l'écémage.
- Le beurre liquide est enrichi en oléine (fraction triglycérique de bas point de fusion).
- Le beurre concentré contient au moins 99.8% de matière grasse.

3-2-Composition biochimique :

Tableau IV : Composition pondérale moyenne du beurre (POINTURIER et ADDA, 1969).

Composants	%	Détails et proportions	
Phase grasse	82 (82 à 84)	Triglycérides	82%
		Phospholipides	0.2 à 1%
		Carotène	3à9mg.kg ⁻¹
		Vitamine A	9à 30 mg.kg ⁻¹
		Vitamine D	0.002à 0.04mg.kg ⁻¹
		Vitamine E	8 à 40mg.kg ⁻¹
Eau	<16(14 à 16)		
Extrait sec dégraissé	<2(0.4 à 1.8)	Lactose	0.1 à 0.3%
		Acide lactique	0.15% (le beurre de crème acide)
		Matière azotée dont :	0.2 à 0.8%
		-caséine	0.2à 0.6%
		-Protéines solubles	0.1à0.05%
		-Protéines membranaires, peptides, acides aminés	Traces
		-Sels (autre que NaCl) dont :	0.1%
		- Citrates	0.02%
		Vitamine C	3mg.kg ⁻¹
		Vitamine B ₂	0.8mg.kg ⁻¹

3-3-Technologie traditionnelle du beurre

Le diagramme général de la fabrication du beurre est représenté par la figure 3.

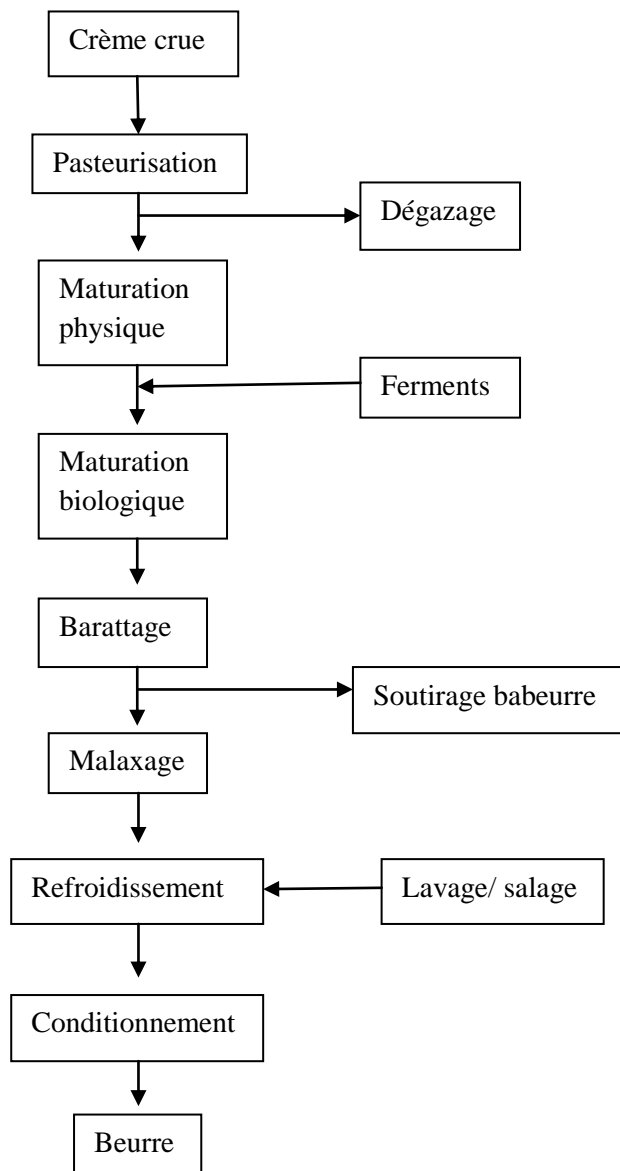


Figure 3 : Technologie de fabrication du beurre (JEANTET et *al*, 2008).

3-3-1-Préparation de la crème

La crème est standardisée entre 35 et 40% de MG en fabrication traditionnelle et entre 40 et 45% de MG en fabrication continue (VIGNOLA, 2002).

3-3-1-1-Pasteurisation de la crème

Elle est effectuée de 90-95°C (crème de bonne qualité) à 105-110°C (crème de mauvaise qualité) pendant 15 à 20 secondes, afin de détruire les enzymes thermorésistantes (lipases, oxydoréductases). La pasteurisation de la crème entraîne :

Chapitre I : Généralités sur le lait et les produits laitiers.

- Une agglomération des globules gras de faible diamètre, diminuant le temps du barattage ;
- La destruction des vitamines E et K à 20-30%, les vitamines A et D étant conservées ;
- La fixation du cuivre sur la membrane du globule gras favorisant les phénomènes d'oxydation de la matière grasse au cours du barattage et de la conservation ultérieure du beurre.

3-3-1-2-Dégazage

Il est très largement utilisé et effectué sous vide partiel en deux temps :

70-75°C et à 90-95°C. Le dégazage de la crème entraîne :

- Une élimination du mauvais goût ;
- Une légère perte d'eau par évaporation ;
- Une diminution de l'acidité par élimination du CO₂.

3-3-2-Maturation

La maturation de la crème peut combiner deux processus : d'une part la maturation physique qui assure une cristallisation dirigée de la matière grasse et d'autre part une maturation biologique qui assure le développement de l'acidité et de l'arome. Suivant le schéma technologique de la fabrication, les deux maturations peuvent être couplées ou se déroulent successivement (VIGNOLA, 2002).

a-Maturation physique

Elle permet de corriger la variabilité de composition et de propriétés physiques (tartinabilité) tant saisonnière que régionale de la matière grasse et d'obtenir des beurres de même texture toute l'année.

b-Maturation biologique

C'est la méthode traditionnelle, directement dérivée de la fabrication fermière à partir de crème crue. Elle a trois buts :

- Développer certains arômes caractéristiques du beurre ;
- Abaisser le pH pour assurer une bonne protection biologique ($4.7 < \text{pH} < 5.8$) ;
- Favoriser l'inversion de phase.

3-3-3- Passage de la crème au beurre

a-Inversion de phase : Elle consiste à transformer la crème, émulsion de matière grasse essentiellement sous forme de globules gras dans une solution aqueuse, en beurre, émulsion de solution aqueuse dans de la matière grasse (POINTURIER et ADDA, 1969).

b- Barattage

Le barattage traditionnel est une agitation énergique de la crème favorisant l'incorporation de bulles dont l'interface est dans un premier temps stabilisée par les globules gras (mousse abondante).

3-3-4- Lavage

Il permet de refroidir et resserrer le grain, de diluer les gouttelettes de babeurre par de l'eau afin de limiter le développement microbien.

3-3-5- Malaxage

Il permet la soudure des grains de beurre et la pulvérisation de la phase aqueuse en fines gouttelettes de diamètre moyen $<5\mu\text{m}$ au sein de la matière grasse.

3-3-6- Salage

Il est réalisé pendant le malaxage par addition du sel fin et pur ou de saumure saturée en sel. Il s'agit comme exhausteur de goût et possède une action antiseptique.

3-3-7-Conditionnement

Il est variable :

- Microformats pour la restauration individuelle ou collective ;
- en plaquette ou rouleaux ;
- grands formats destinés aux industries agroalimentaires.

Les matériaux utilisés sont le papier, l'aluminium et certains plastiques, ils doivent présenter une bonne étanchéité, une protection contre la lumière, l'oxygène et les odeurs de l'environnement (JEANTET et *al*, 2008).

Conclusion

Le lait représente un aliment complet et diététique pour l'homme et un milieu de culture pour toute une panoplie de microorganismes. Il demeure en même temps indispensable tout au long de la vie. Grâce à la richesse de sa composition et la variété de ses constituants, donne naissance par transformation à une très vaste famille de produits, Ainsi ces produits laitiers ont été produits pour prolonger la durée de conservation du lait. S'il y a un domaine où le contrôle de qualité est une nécessité fondamentale, c'est celui des produits laitiers.

Introduction

Staphylococcus aureus est le plus connu et est fréquemment impliqué dans l'étiologie d'infections et de toxi-infection variées chez l'homme. D'autres espèces de Staphylocoques peuvent cependant causer des infections opportunistes. Ces infections, souvent nosocomiales, engagent parfois le pronostic vital et requièrent un traitement adapté.

1-Le genre *Staphylococcus*

1-1-Historique

Ennemi intime et permanent depuis la nuit des temps, le Staphylocoque fut démasqué à la fin du XIX^{ème} siècle, l'observation au microscope faisant apparaître des « amas de grains » dans le pus de furoncles. D'abord observé par Robert Koch en 1878, il fut reconnu par Louis Pasteur deux ans plus tard (FASQUELLE, 1974 ; KARTHIK, 2007). En 1881, ALEXANDER OGSTON isola la bactérie à partir d'abcès post-opératoires et reproduisit l'infection chez l'animal. Ces amas furent à l'origine du nom qu'il lui donna, Staphyle désignant la grappe de raisin en grec. OGSTON différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* (SPICER, 2003 ; BRECHE, 1988 ; STEPHEN et HAXKEY, 2006). Et ce fut en 1884 qu'ANTON ROSENBAACH cultiva le Staphylocoque *in vitro* et en décrivit la première espèce connue : *Staphylococcus aureus*, ou bien Staphylocoque doré, ainsi nommé en raison de la couleur des colonies obtenues en culture (AVRIL et al, 1992 ; KARTHIK, 2007).

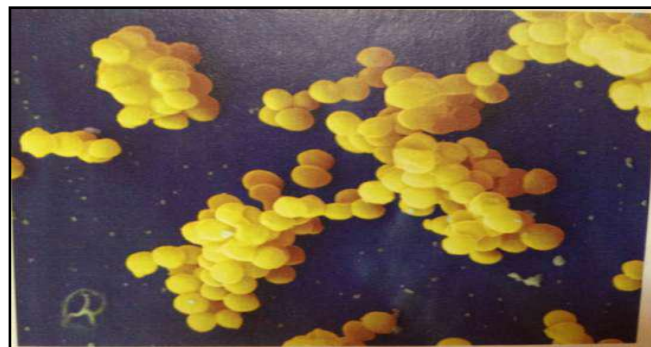


Figure 4 : Couques de *Staphylococcus aureus* disposées en grappes de raisins ; micrographie électronique à balayage (Gx100) (WILLEY et al, 2010).

1-2 Positions taxonomiques et classification

Le genre *Staphylococcus* appartenait à la famille des *Micrococaceae* qui comprenait trois autres genres : *Micrococcus*, *Planococcus* et *Stromatococcus*.

Ils partageaient un certain nombre de caractères généraux à titre d'exemple (coque à Gram positif, non sporulés...). Mais une étude a démontré que la composition chimique de la paroi et le pourcentage en guanine et cytosine (G + C %) du génome entre ces quatre genres sont très éloignés, donc leur regroupement dans une même famille n'est plus justifié. Cependant, la composition des séquences d'ARNr 16S a confirmé la nécessité d'un profond remaniement de cette famille (FEDERIGHI, 2005).

Selon la classification de GARRITY et al (2007), le phylum firmicutes est constitué de quatre classes : *Clostridia*, *Mollicutes*, *Bacilli*, *Togobacteria*. La classe des *Bacilli* est constitué de deux ordres : *Bacillales* et *Lactobacillales*, dont chacun est divisé en quatre familles ; *Staphylococcaceae* constitue la 4^{ème} famille des *Bacillales*, celles-ci comprend un seul genre : *Staphylococcus* (GC % 30-39 %). Cinquante espèces et sous espèces ont été identifiées au sein du genre *Staphylococcus* (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

Ce genre est séparé (divisé) en deux groupes sur la base de la présence d'une coagulase, on distingue :

Les Staphylocoques à coagulase positive (**SCP**) dont le chef file est *Staphylococcus aureus*, mais qui comprend d'autre espèce comme *S.hyicus* ou *S.intermedius*.

Les Staphylocoques à coagulase négative (**SCN**) qui regroupent une vingtaine d'espèces. Toutefois, certaines espèces classées dans le groupe des SCN peuvent produire une coagulase. C'est le cas de *S.delphini*, *S.schleiferi* et *S.lutrae* (HAMA, 2006).

1-3 Classification phylogénique

Il existe plusieurs types de classification de *S. aureus* dont la plus utiliser est la Classification de BERGEY :

Domaine : Bacteria ou Eubacteria.

Phylum XIII : Firmicutes.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Familles : *Staphylococcaceae*.

Genre : *Staphylococcus*

Espèces : *Staphylococcus aureus* (CAMILLE, 2007).

2- l'espèce *Staphylococcus aureus*

S. aureus agent pathogène le plus répandu chez l'Homme, appartenant au groupe des cocci Gram positif et il pousse en amas. C'est l'une des bactéries non productrices de spores.

2-1-Habitat

2-1-1- Réservoirs des *S. aureus* chez les humains et animaux

S. aureus appartient à la flore commensale normale des animaux à sang chaud, principalement les mammifères (terrestres et marins), mais aussi les oiseaux. A la différence des autres espèces de Staphylocoques qui ont un hôte préférentiel, *S. aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères. *S. aureus* colonise la surface et les glandes de la peau, ainsi que les muqueuses de ses hôtes. Chez l'homme, il est principalement présent au niveau du tractus respiratoire supérieur, en particulier dans les fosses nasales (KLOOS et al, 1976), mais aussi au niveau du cuir chevelu et les mains (HARVEY et GILMOUR 2000 ; WATSON et al, 2006). Dans la bouche, il coloniserait préférentiellement la surface des dents (SMITH et

al, 2001). Chez les vaches, il serait localisé principalement au niveau du mufler et de la peau des trayons (ROBERSON et al, 1994).

2-1-2- Dispersion et survie dans des environnements variés

a- Environnement hospitalier

S. aureus est l'un des principaux microorganismes responsables d'infections nosocomiales, en particulier celles consécutives à l'implantation de prothèses. La contamination est principalement d'origine humaine et les voies de transmissions identifiées sont liées au contact entre individus, aux aérosols, et au contact avec les surfaces contaminées. Des souches de *S. aureus* commensales de la peau ou de fosses nasales ou associées à une affection des voies respiratoires et excrétées par la toux ou les éternuements par le personnel hospitalier où les patients peuvent contaminer l'air et le matériel chirurgical. La survie de souches cliniques de *S. aureus* à la dessiccation peut varier de trois à six mois en fonction des souches et des conditions environnementales (FARRINGTON et al, 1992).

b-Aliments et leur environnement de production

S. aureus peut être responsable de Toxi-infections alimentaires (TIA) liées à sa capacité à produire des enterotoxines. Il est notamment le principal germe incriminé dans les toxi-infections associées aux fromages au lait cru. La contamination des aliments peut être d'origine humaine, liée à la matière première (carcasses animales, lait cru) ou survenir au cours du procès, en raison de défauts d'hygiène du matériel de production (contamination croisée).

c- Environnement hydrique

S. aureus serait capable de survivre dans l'eau pendant plusieurs mois, pourvu qu'il dispose d'un minimum de nutriments pouvant être apportés par des cellules sénescents (croissance cryptique). *S. aureus* a été détecté dans les effluents domestiques à l'entrée des stations d'épurations à des niveaux faibles de l'ordre de 150UFC/100g, mais à l'issue du processus d'épuration, il n'a pas été détecté dans les boues ni dans les aérosols produits lors de leur épandage en champ (RUSIN et al, 2003). Lors de test de survie au niveau de la rhizosphère de blé en culture hydroponique, *S. aureus* a montré une faible capacité d'adhésion aux racines et n'a pas survécu au-delà de 7 jours (MORALES et al, 1996).

3-Identification de l'espèce au sein du genre

3-1- Critères d'identification

- Caractères morphologiques

Les Staphylocoques sont des coques immobiles, Gram positif et non sporulés, isolés ou groupés en diplocoques ou, le plus souvent, en amas plan de plusieurs éléments (du grec staphylo, grappe de raisin), diamètre moyen 0,8 à 1 µm. On y trouve chez peu de souches la présence de capsule visible en microscope optique en présence d'encre de chine. Mais les souches peuvent perdre leur capsule après culture. En revanche, la majorité des souches

isolées dans les infections humaines et animales produisent des polyosides capsulaires qui forment des microcapsules non visibles en microscope optique (GAILLARD et al, 1995 ; FEDERIGHI, 2005).

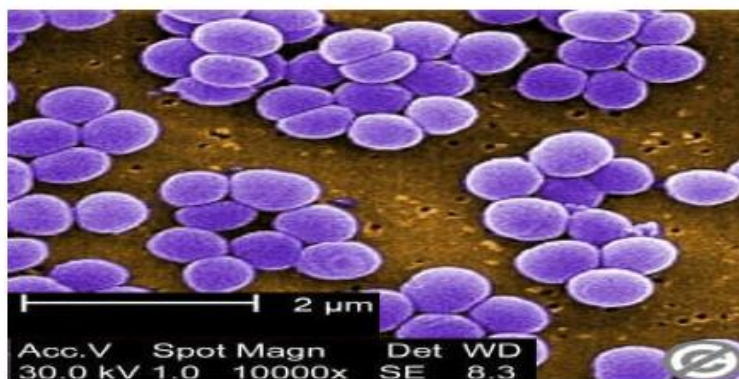


Figure 5 : Aspect morphologique de souche de *Staphylococcus aureus* observé au microscope électronique (LEYRAL et VIERLING, 2007).

Tableau V : Principaux caractères des Staphylocoques (CAMILLE, 2007).

Morphologie.	Cocci sphérique de 0,5 à 1µm de diamètre : -en amas (grappes de raisin) : <i>S.aureus</i> ; -en paires, amas irréguliers : autre espèces.
Coloration de Gram	Gram+.
Mobilité	Immobilés (mouvements browniens).
Type respiratoire	Anaérobies facultatifs en général.
Oxydase	Positive.
Catalase	Positive.
Conditions de culture	<ul style="list-style-type: none"> • Température optimale à 37°C ; croissance à 10°C et à 45°C selon les espèces. • pH optimal de 7,2 à 7,4.
Caractères spécifiques	Halotolérants : 6,5 % de NaCl.
Milieux de culture d'usage Courant	Gélose nutritive, gélose trypticase soja ...
Milieux d'isolement sélectifs	Gélose de Baird-Parker ; Milieu de Chapman ...
Milieu d'enrichissements Sélectifs	Bouillon de Giolitti-Cantoni.

-Caractères cultureux

S. aureus se cultive facilement sur des milieux ordinaires, en aérobie comme en anaérobie ; sur milieu solide, il forme des colonies lisses, rondes, d'un diamètre de 1 à 3 mm, bombées, opaque et parfois élabore un pigment caroténoïde qui donne aux colonies une coloration jaune ou orange (d'où Staphylocoque doré) d'intensité variable selon les souches. En milieu liquide, il donne un trouble homogène. Sur le plan nutritif, il est peu exigeant (acide nicotinique et vitamine B₁ indispensables) et tolère de grandes variations de conditions

de croissance (BOURGEOIS et al, 1996 ; GUIRAUD et ROSEC, 2004). Considéré comme étant un germe mésophile, il se cultive dans des températures de 7°C à 48°C avec un optimal de 30°C à 37°C et un pH de 4,2 à 9,3 avec un optimal de 7 à 7,5 (LE LOIR et al, 2003).

S. aureus est un germe Halotolérant, qui peut se multiplier en présence de concentration élevée de chlorure de sodium (NaCl) jusqu'à 20 %. Ce caractère est mis à profit dans le milieu de culture sélectif hyper salé de Chapman pour isoler le Staphylocoque d'un prélèvement poly microbien. Il tolère une activité de l'eau (a_w) exceptionnellement basse pour une bactérie, puisque sa croissance est inhibée à partir de valeur comprises entre 0,95 et 0,91 et qu'il est capable de survivre sans se multiplier à des valeurs proches de 0,85 (FEDERIGHI, 2005). Sa croissance peut être inhibée par la présence d'une flore de compétition car il supporte mal la concurrence avec les lactobacilles acidifiants, les streptocoques et les entérobactéries. La pasteurisation, réduit cette dernière et favorise donc sa multiplication (ARNAL, 2003).

-Caractères biochimiques

Les Staphylocoques produisent une catalase mais pas d'oxydase. Ainsi, les souches sont : indole -, acétone +, uréase +, réduisant le tellurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (LARPENT, 2000 ; FEDERIGHI, 2005). Le critère de base de leur classification est la production d'une thermonucléase (DNase) et d'une coagulase. Il ya trois espèces productrices de coagulase : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, et *Staphylococcus hyicus*, produit ainsi de l'hémolyse bêta (caractéristique utile pour identifier un Staphylocoque). L'espèce *S.aureus* peut produire de nombreuses enzymes : protéases, lipases, coagulases liées ou "Clumping-facteurs", coagulases libres (BOURGEOIS et al, 1988).

Les genres *Micrococcus* et *Staphylococcus* sont facilement différenciables grâce à leur type respiratoire. Ce genre de bactérie fermente sans produire de gaz, de nombreux hydrates de carbone dont le glucose, saccharose, glycérol (MICHAEL et al, 2007).

4- Génétique de *S. aureus*

4-1- Variabilité génomique

S. aureus est une espèce réputée « plastique » du point de vue génomique. Elle tire d'ailleurs de cette plasticité (ou variabilité) génomique son extraordinaire adaptabilité à divers environnements et surtout ses capacités d'échappement aux défenses de l'hôte et de résistance aux traitements antibiotiques. Toutes les souches séquencées de *S. aureus* contiennent un seul chromosome, dont la taille varie de 2.7 à 2.9 Mb. Une première source de variabilité entre les souches provient de la présence d'éléments extra-chromosomiques, à répllication autonome, les plasmides. Ceux-ci sont très souvent porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques. La deuxième source de variabilité provient de régions chromosomiques entières acquises ou perdues par un ou plusieurs génomes de l'espèce. Chez *S. aureus*, l'alignement multiple de cinq génomes représentatifs de l'espèce (Mu50, MW2, COL, RF122, et MRSA) indique que le squelette représente en moyenne 84% du génome, et au sein de ce

squelette les séquences sont à 98% identiques, prises deux à deux. Jusqu'à présent, l'analyse des séquences de *S.aureus* montrait que les souches n'avaient subi aucune grande inversion les unes par rapport aux autres. Une seule étude a cependant démontré, très récemment l'existence, d'une telle inversion chromosomique différenciant deux souches de *S.aureus* résistantes à la méticilline et dérivant très probablement un ancêtre commun (SCHUKLA et al, 2009).

4-2- Support génétique

Il existe un très grand nombre de gènes liés à la virulence : au moins 40 gènes codant pour des toxines, 20 codant pour des facteurs d'adhésion et 44 régulant la transcription de produits associés à la virulence. Les gènes codant pour les toxines sont regroupés dans des îlots de pathogénicité (LE LOIR, 2010) in (AOUATI, 2009). Ils sont également régulés par des gènes différents, le plus étudié est le gène *agr* (accessory gene regulator). La synthèse des facteurs de virulence est biphasique. Lorsqu'il y a présence d'une faible densité cellulaire (faible activité *agr* au début d'une infection), la bactérie produit des facteurs protéiques tels que les MSCRAMMs et d'autres adhésines capables de promouvoir la colonisation. En revanche, à une forte densité cellulaire (forte activité *agr*) la bactérie réprime les gènes codants pour les facteurs de colonisation et initie la sécrétion d'une variété de toxines et la sécrétion d'enzymes, qui sont impliquées dans la destruction du tissu (VEH, 2014). Cette activation séquentielle est sous la dépendance du système de régulation de la virulence appelé *agr* (BRONNER et al, 2004). En effet, une bactérie dont le gène *agr* est inactivé, entraîne une diminution significative de la virulence de la bactérie (LOWY, 1998).

5- Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène de *S. aureus* est relié à l'expression des gènes de virulence portés par le chromosome. Des études scientifiques ont prouvé que chez l'espèce de *S. aureus* qui possède des facteurs structuraux responsables de cette activité pathogénique, les facteurs de virulences tels que la capacité de sécréter les toxines, le pouvoir invasif et la capacité d'adhésion et la production d'enzyme hydrolytique sont les facteurs qui déterminent le pouvoir pathogène.

5-1- Enterotoxines

Les enterotoxines Staphylococciques (SE) appartiennent à la famille des exo-protéines phylogénétiques produites par certaines souches de *S. aureus* et de *Streptococcus pyrogènes*. Cette famille de protéines présente des propriétés biologiques communes : pyrogénicité, activation des lymphocytes T, mais les SE sont avant tout impliquées dans les toxi-infections alimentaires (BECHER et al, 2001 ; KHAMBATY et al, 1994).

5-1-1- Caractéristiques principales

Les SE sont des petites protéines de PM compris entre 27.8 et 34.1KDa, sécrétées dans le milieu et solubles dans l'eau et les solutions salines. Des études sur les SE ont débutées par l'analyse de souches de *S. aureus* impliquées dans des toxi-infections alimentaires. A ce jour, 19 SE différentes ont été identifiées. Elles partagent des similarités en termes de structures et de séquences peptidiques allant de 26% (la plus faible, entre SEC1 et SEI ou SEM) à 68 %

(la plus forte entre SEB et SEC1). Les enterotoxines Staphylococciques A, B, C, D et E représentent les SE « classiques », elles sont bien caractérisées et leur implication dans des cas d'intoxication alimentaires a été démontrée (JOHNS, et KHAN, 1988 ; BAYLES et al, 2000). Le sérotype C est subdivisé en groupes C1, C2, C3, C_{bovine} et C_{ovine} classés sur la base de différences d'activités superantigéniques et en fonction de l'hôte auquel elles sont associées (BERGDOLL et al, 1965 ; MARR et al, 1993). Elles sont riches en lysine, acides aspartique, acide glutamique et tyrosine. Elles sont très stables, résistantes à la plupart des enzymes protéolytiques telles que la pepsine ou la trypsine et gardent ainsi leur activité après ingestion, dans le tube digestif. Elles résistent aussi à la chymotrypsine, rénine et la papaïne (BERGDOLL, 1983).

Les enterotoxines de *S.aureus* n'agiraient pas directement sur les cellules de la muqueuse intestinale mais pourraient intervenir sur les terminaisons nerveuses de tube digestif. Si cela est confirmé, ce ne seraient pas des enterotoxines mais des neurotoxines (tableau VI) (MICHEL, 2005).

Tableau VI : Propriétés des enterotoxines A à J de *Staphylococcus aureus* (MICHEL, 2005).

Caractéristiques	Enterotoxines								
	A	B	C ¹	D	E	G	H	I	J
Masse moléculaire (kDa)	27,1	28,3	27,5	26,4	26,4	27,0	25,2	24,9	28,6
Point isoélectrique	7,3	8,6	8,6	7,4	7,0	5,7	5,7	8,6	8,6
Nombre d'acides aminés	233	239	239	228	230	230	218	218	245
Présence d'une boucle cystine	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Réponse émétique chez le singe	+	+	+	+	+	+ faible	+	+ Très faible	ND ²
Localisation du gène	C	C ou P	C	P	C	C	C	C	P

1 : Subdivisée en 3 sous classes, C1, C2, C3 et en variant bovin, ovin et canin.

2 : Non déterminé.

3 : C : chromosome, P : plasmide.

5-1-2- Eléments génétiques des enterotoxines

Les gènes spécifiant les SE ont des supports génétiques divers dont la caractéristique commune est d'appartenir à un élément génétique mobile. Ils peuvent être portés par des plasmides (SEB, SED, SEJ) (BAYLES et LANDOLO ; 1989 SHALITA et al, 1977 ; ZHANG et al, 1998), par des phages (tempéré pour SEA ou défectif pour SEE) (BETLEY et MAKALANOS, 1985 ; COLEMANC et a, 1989 ; Couch et al, 1988), par des îlots génomiques (seb, sec, seg, seh, sei, sek, sel, sem, sen, seo, sep et seq). Le gène sec peut

également se trouver sur un plasmide ou un îlot de pathogénécité selon la provenance de l'isolat (FITZGERALD et al, 2001). La localisation de ces gènes sur des éléments génétiques mobiles peut entraîner un transfert génétique horizontal entre les souches de *S. aureus*. Par exemple, le gène *seb* est situé sur le chromosome chez certains isolats cliniques (SHAFER et IANDOLO, 1978) alors qu'il a été localisé sur un plasmide chez d'autres souches de *S. aureus* (SHALITA et al, 1977).

5-1-3- Activité des SE

Les SE appartiennent à la famille des toxines pyrogènes présentes chez les Staphylocoques et les Streptocoques. Ces toxines pyrogènes comprennent les SE, la toxine du syndrome du choc toxique (TSST), les exfoliatines A et B et les toxines pyrogènes Streptococciques. Ces toxines partagent des similitudes en termes de structure, fonction et séquence (THOMAS et al, 2007).

Les enterotoxines sont responsables de deux fonctions bien distinctes, localisées dans deux domaines différents de la protéine, une activité propre aux enterotoxines mais encore mal élucidée, responsables des vomissements caractéristiques et autres signes des TIA à Staphylocoques, et une activité super-antigénique beaucoup mieux connue, commune aux toxines pyrogènes responsables de TSS.

-l'effet émétique

Il impliquerait un processus dont les premières étapes restent inconnues. Les enterotoxines se fixeraient sur des récepteurs abdominaux qui n'ont pas encore été identifiés. Une hypothèse est que les vomissements surviendraient secondairement en réponse à une inflammation induite par l'interaction des enterotoxines avec ces récepteurs. Une stimulation non spécifique de cellules inflammatoires dont les mastocytes par les enterotoxines, a été évoquée. Elle pourrait faire intervenir un neuropeptide. Par contre les étapes finales du processus sont mieux connues : un influx nerveux est transmis par les nerfs vagues et sympathiques active le centre vomitif du cerveau, ce qui déclenche les vomissements violents observés lors d'intoxications alimentaires dues à *S.aureus* (MICHEL, 2005).

- La propriété super-antigénique

S. aureus explique les symptômes observés lors des cas de TSS et impliquant une formation d'enterotoxines *in vivo* mais peut-elle expliquer tout les symptômes (inflammation de la muqueuse intestinale, et diarrhée) observés lors d'intoxication alimentaire ? Cette hypothèse est actuellement remise en cause. En effet, il est probable que les enterotoxines présentes dans un aliment aient une action systémique limitée. Même si elles parviennent à franchir la barrière intestinale et à passer dans la circulation sanguine, elles sont rapidement éliminées par les reins si bien qu'une concentration sanguine suffisante ne peut vraisemblablement pas être atteinte (LE LOIR, 2010).

➤ Toxines du syndrome du choc toxique (TSST-1)

Ce sont des protéines de faible poids moléculaire qui résistent à la chaleur ainsi qu'aux enzymes digestives. Cette protéine antigénique entraîne la formation d'anticorps protecteurs présents chez 85 % des sujets adultes. Comme les enterotoxines, elle a un effet pyrogène et est superantigène qui entraîne l'activation simultanée de plusieurs population lymphocytaire, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs (interleukine, interféron gamma, TNF alpha et bêta) responsables de la symptomatologie du choc Staphylococcique (fièvre, desquamation, hypotension ...) (ANONYME I, 2003 ; HIRSH et BIBERSTEIN, 2004).

5-2-Facteurs de virulence autre que les enterotoxines

Toutes les souches de *S. aureus* produisent des protéines excrétées dans le milieu extracellulaire et douées soit d'une activité toxique, soit d'une activité enzymatique (LE MINOR et VERON, 1990).

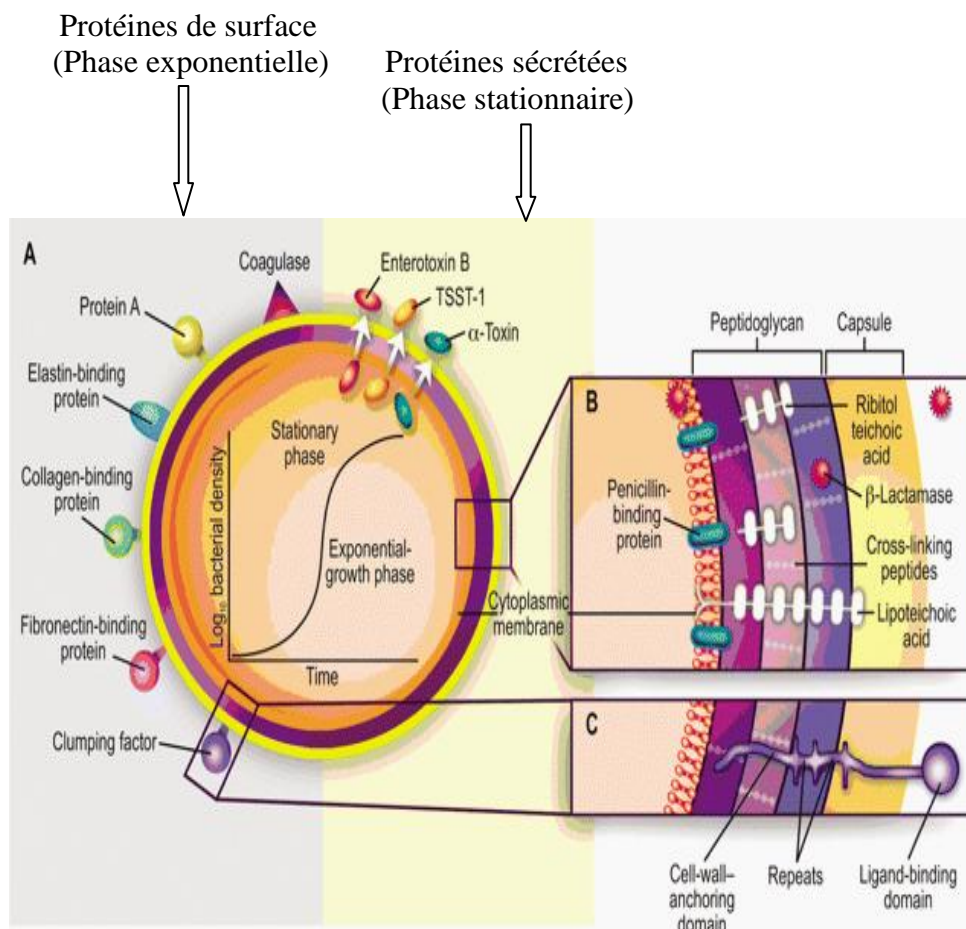


Figure 6: Schématisation des quelques facteurs de virulence de *S.aureus*. Adaptée de GORDON et LOWY, 2008, Clin. Infects. Dis.

5-2-1-Enzymes

➤ Coagulase libre

S. aureus fabrique une substance capable de coaguler en quelques heures le plasma humain ou celui du lapin. Cette substance est thermostable fabriquée pendant la phase exponentielle de croissance du germe ; sa synthèse nécessite la présence d'acide glutamique, d'histidine et de lysine. C'est une protéine de PM 5 000 à 40 000, toujours produite par les souches de *S. aureus*, c'est la coagulase. Elle active la prothrombine en thrombine. La thrombine ainsi activée sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine. C'est la base du test de la coagulase en tube. C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques, en les protégeant des anticorps opsonisants et de la phagocytose. Elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées (ANONYME I, 2003 ; LE LOIR et GAUTIER, 2010).

➤ Coagulase liée ou « Clumping factor »

IL s'agit d'une substance fixée à la surface de la cellule, diffusible dans le milieu après autolyse, qui réagit directement avec le fibrinogène ou des monomères solubles de fibrine. Cette réaction entraîne l'agglutination des Staphylocoques en raison du caractère dimérique du fibrinogène natif (LE MINOR et VERON, 1990).

➤ Nucléases

Il existe des désoxyribonucléases et des ribonucléases ; leur action s'exerce à pH alcalin en présence de calcium. Dans les différentes espèces du genre *Staphylococcus*, la production de désoxyribonucléase thermostable est très répandue ; par contre, seul *S.aureus* produit une enzyme thermostable (LÉON LE MINOR et MICHEL VÉRON, 1982).

- Désoxyribonucléase thermostable

C'est une endonucléase, résistante aux températures élevées (15 mn à 100°C). Facteurs de destruction des noyaux cellulaires, la DNase thermostable est spécifique de *S.aureus*. Ces nucléases interviennent aussi dans la formation des lésions (GUIRAUD et ROSEC, 2004 ; LE LOIR et GAUTIER, 2010).

➤ La catalase

C'est une enzyme associée à la paroi bactérienne qui protège la bactérie des effets létaux du peroxyde d'hydrogène, produit par les phagocytes, qui convertit ce dernier accumulé dans la cellule de la phagocytose en molécules d'eau et d'oxygène (BERCHE et *al*, 1988).

➤ Protéolysines

De nombreuses enzymes protéolytiques ont été isolées et purifiées chez *S. aureus* : élastase, gélatinase, protéase (LÉON LE MINOR et VÉRON, 1982).

- Protéases

Elles hydrolysent certaines protéines, telle que la Staphylokinase et contribue à la destruction du caillot et à la formation de micro emboles bactériens, responsable de métastase septiques (EL KOURI, 1998).

- Lipases

L'une des façons dans laquelle les cellules hôtes répondent à une infection est la production des acides gras et des lipides, qui renferment des petits trous dans la membrane bactérienne, alors que *S.aureus* produit des enzymes appelées lipases qui détruisent ces acides gras avant de causer des dommages au niveau de la membrane bactérienne ainsi elle favorise sa survie (TALLY, 1999) in (REBIAHI, 2012).

- Hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile (80 kDa), agissant à pH acide, qui hydrolyse l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif dont elle diminue la viscosité, ce qui a pour effet, de permettre la diffusion des Staphylocoques dans les tissus (FIQUET, 2009).

- Beta-lactamase

C'est une enzyme située dans la membrane cytoplasmique responsable de l'inactivation des β -lactamines et joue le rôle dans la résistance des souches à ces antibiotiques (COLLOMB, 2011).

- Lysozyme

S.aureus produit un lysozyme capable de lyser la paroi de cellules bactérienne ; sa production serait un trait caractéristique de l'espèce.

5-2-2- les toxines

- Les hémolysines

Les souches de *S.aureus* ont un pouvoir hémolytique qui est lié à la production de toxines protéiques, au nombre de quatre (α , β , γ , δ). Elles sont exprimées surtout vers la fin de la phase exponentielle de croissance *in vitro*, considérée comme la phase de dissémination et de destruction des tissus *in vivo*. A ce stade de croissance, l'hémolysine permet de rendre disponible certains nutriments (fer, acides aminés et autres) pour les bactéries. Les souches productrices d'hémolysine sont discernables par la formation d'une zone de lyse claire sur milieu sang (FREDEGHIRI, 2005).

α -hémolysine : toxine α , c'est une exotoxine protéique de PM de 33 kDa, thermostable, antigénique. Elle est la plus fréquente chez les souches d'origine humaines (90%) que chez les souches animales (50 à 60%). Elle peut détruire les neutrophiles ou bien diminuer leur capacité à attaquer la bactérie. Cette toxine possède des propriétés hémolytiques, dermonécrotiques et létales pour les plaquettes sanguines, les monocytes et les cellules

épithéliales. Elle forme des pores dans la membrane cellulaire des cellules humaines permettant un passage d'ions à travers celle-ci, et provoquant donc une altération de l'équilibre des ions chez l'hôte, provoquant la lyse de la cellule et favorisant la dissémination des bactéries à distance. En causant ainsi des dommages à la cellule, elle déclenche la production de cytokines et contribue ainsi au choc toxique lors de l'infection (BHAKDI et TRANUM, 1991).

β-hémolysine : la toxine bêta, elle est très fréquente chez les souches de *S. aureus* d'origine animale (de 75 à 100%) que chez les souches humaines (10 à 50 %). Il s'agit d'une phospholipase de type C, et donne une hémolysine accrue en présence de souches de *Staphylococcus agalactiae* (AVRIL et al, 2003). Elle agit sur un grand nombre de cellules incluant les globules rouges, les globules blancs et les fibroblastes. Son activité hémolytique est remarquable par les conditions d'apparition, car elle est de type « chaud –froid » : les érythrocytes soumises à son action à 37°C ne sont pas lysées sauf si on les refroidit à 4°C. Le rôle pathogène de cette toxine n'est pas précis, car elle est instable à l'état purifié et ses effets cytopathiques sont mal connus (EL KOURI, 1998).

δ- hémolysine : toxine δ, c'est une protéine de PM de 103 KDa, composée de sous unités, elle est thermostable, faiblement antigénique, elle cause des dommages sur la membrane d'un certain nombre de cellules des mammifères. Elle a une activité hémolytique, mais bien qu'elle a de nombreux effets cytotoxiques, son importance dans l'étiologie des maladies liées à *S. aureus* reste assez peu claire (LE MINOR et VERON, 1990 ; AVRIL et al, 2003). Elle agit comme un détergeant sur les membranes biologiques, sans spécificité mais avec une certaine rapidité, active notamment sur les érythrocytes de lapins, de chevaux, de l'homme et de cobayes, les macrophages et les granulocytes . Elle inhibe aussi la respiration mitochondriales et la phosphorylation, mais sa toxicité *in vivo* paraît douteuse car elle est complètement inhibée par le sérum sanguin, le fibrinogène, les globulines sériques et les phospholipides (BHAKDI et TARNUM, 1991).

γ-hémolysine : la toxine gamma, antigénique chez l'homme qui est formée de deux constituants agissant en synergie dont le cholestérol inhibe leur action. Elle stimule la dégranulation des phagocytes, ce qui augmente les dommages tissulaires liés à la réponse inflammatoire (LABRECQUE, 2007).

Conclusion

Les Staphylocoques sont de puissants pathogènes, largement répandus dans l'environnement et capables de provoquer un certain nombre d'infection. Ce sont des germes coriaces qui peuvent survivre dans des conditions de vie difficile. Ils possèdent un grand nombre de facteurs de virulence qui leur permettent de provoquer des maladies graves par des mécanismes variés. Ils fabriquent également des toxines spécifiques qui sont à l'origine de maladies bien définies. Les Staphylocoques ont appris à s'adapter à de nouveaux environnements par l'acquisition de mécanismes de résistances et de nouveaux facteurs de virulence, le syndrome du choc toxique (TSS) de ces bactéries existent depuis longtemps et vont probablement évoluer et utiliser de nouveaux mécanismes pouvant entraîner des maladies graves.

Introduction

Avant la découverte des antibiotiques, les pathologies infectieuses bactériennes entraînaient, dans la majorité des cas, la mort : la peste au moyen âge, la tuberculose et les blessures infectées sur les champs de bataille en sont des exemples. A partir de la découverte de la pénicilline par FLEMMING en 1929, les découvertes de molécules nouvelles ce sont succédées : céphalosporine, streptomycine, tétracyclines, chloramphénicol, etc.

Donc on est passé à l'ère antibiotique au cours de laquelle la guérison des pathologies bactériennes est considérée comme habituelle. Mais, malheureusement l'usage intensif et non réfléchi de ces molécules d'antibiotiques permet aux bactéries de développer une certaine résistance vis-à-vis de ces molécules et donc de s'adapter à une nouvelle situation écologique.

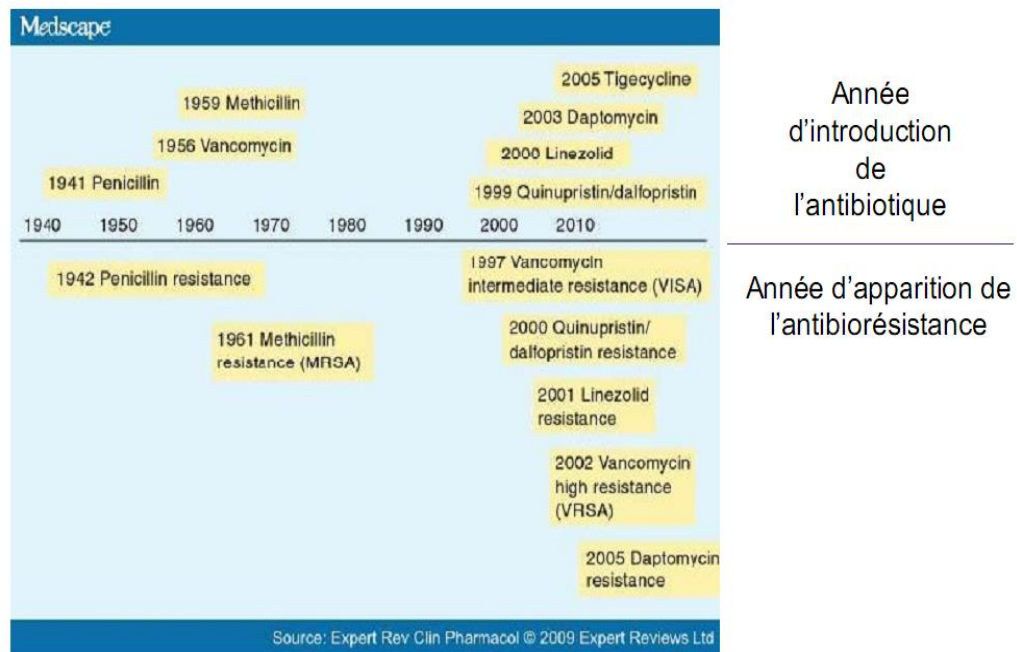


Figure 7: introduction des antibiotiques et développement de l'antibiorésistance chez *Staphylococcus aureus* (HERMAN et al, 2011).

1-Les antibiotiques

1-1définition

Un antibiotique est une molécule toxique (microbiostatique ou microbiocide) pour un groupe cible de microorganisme (bactéries, champignons, virus, parasite eucaryote ...), de mode d'action spécifique ; actif à des concentrations faibles, de l'ordre du $\mu\text{g.cm}^3$; généralement synthétisé par un microorganisme mais souvent modifié chimiquement ou même synthétisé entièrement par des chimistes (JOFFIN et LEYRAL, 2009). Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactéries, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (OGAWARA, 1981).

1-2 Critères de classification des antibiotiques

L'abondance des molécules a rendu nécessaire leur classification en familles et sous-familles, qui peuvent se faire selon (PASTAN et LAPOUGE, 2011) :

- L'origine : élaborée par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétiques).
- Le mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse protéique, synthèse des acides nucléiques (GAILLARD et *al*, 1995).
- Le spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) :

Un antibiotique à spectre large agit sur la majorité des espèces bactériennes pathogènes précises. Certain à Gram⁺ et Gram⁻. Un antibiotique à spectre étroit a une action limitée (antibiotique des bactéries Gram⁺) ou très limitée (antibiotique anti Staphylocoque) (DELARRAS, 2007).

- La nature chimique: très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (Ex: cycle bêta – lactame) sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse (GAILLARD et *al*, 1995).

➤ Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne

- Les β -lactamines
- La fosfomycine
- Les Glycopeptides

➤ Destructeurs de la membrane cytoplasmique

- Les polymyxines

➤ Inhibiteurs du fonctionnement de l'ADN

- Les quinolones
- Les imidazolés
- Les sulfamides
- Le triméthoprim

➤ Inhibiteurs de la synthèse des protéines

- Les aminosides
- Les macrolides
- Les tétracyclines
- La rifampicine

1-3- Mode d'action

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactérie de l'autre part. Pour résumer ces dernières, on peut dire que pour être actif, un antibiotique doit :

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- ne pas être inactivé ;

- être capable de se lier à sa cible.

Ce sont les conditions nécessaires à l'activité antibactérienne.

Donc les antibiotiques agissent sur des cibles bactériennes précises. Certains altèrent la structure des bactéries en inhibant la formation de leur paroi ou en désorganisant leur membrane. D'autres inhibent différentes étapes de la synthèse protéique ou des acides nucléiques (GAILLARD *et al*, 1995).

L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types :

- bactériostatique s'il n'y a qu'une seule inhibition de la croissance bactérienne ;
- bactéricide s'il y a mort de la bactérie (JOFFIN et LEYRAL, 2009).

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

a- Mode d'action des β -lactamines

Les β -lactamines se fixent sur des protéines de la membrane cytoplasmique : les protéines liant les pénicillines (PLP). Ce sont les cibles des β -lactamines. Ces PLP sont en fait les enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane : les transpeptidases ; les carboxypeptidases et les transglycosylases. Les β -lactamines présentent une analogie structurale avec un constituant du peptidoglycane en formation, le dipeptide D-ala D-ala qui est le substrat naturel de ces enzymes. Elles agissent en « substrat suicide » et bloquent le fonctionnement de ces enzymes, inhibant ainsi la formation du peptidoglycane. Les β -lactamines exercent un effet bactériostatique en empêchant les bactéries de se multiplier. Le blocage de la multiplication est suivi d'une lyse bactérienne. Le peptidoglycane est dégradé sous l'action d'autolysines, ce qui entraîne finalement la lyse bactérienne. L'efficacité des β -lactamines tient en partie à cette lyse : c'est la bactéricidie. Le mécanisme exact de ce phénomène reste sujet à discussion. Le nombre et la nature des PLP varient selon les espèces bactériennes. L'affinité des diverses PLP n'est pas la même pour toutes les β -lactamines. L'effet d'une β -lactamine est donc fonction de son affinité pour les différentes PLP de la bactérie considérée (BONET, 2006).

- Chez les Gram positif

Les molécules des β -lactamines traversent facilement le peptidoglycane, qui ne constitue pas une barrière, pour aller se fixer sur la cible.

- Chez les Gram négatif

Il existe pour ces bactéries un obstacle à l'accès des β -lactamines à leurs cibles : la membrane externe. Les molécules d'antibiotiques doivent la traverser, passer ensuite à travers le peptidoglycane et l'espace péri plasmique pour arriver au niveau des PLP. La traversée de la membrane externe peut s'effectuer, pour les molécules hydrophobes, par diffusion passive à travers la bicouche lipidique. Les molécules hydrophiles empruntent des canaux, les pores que forment les protéines spécialisées : les porines. C'est la voie principale pour les β -lactamines (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

b- Mode d'action des glycopeptides

Ils se fixent sur la partie peptidique du peptidoglycane. Les molécules se lient au dipeptide terminal D-ala D-ala. Cette fixation du type clé-serrure empêche le fonctionnement normal des transpeptidases et des transglycosylases, entraînant l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et secondairement la mort de la bactérie. Ce sont de volumineuses molécules qui ne sont actives que sur les Gram positif. En effet elles ne peuvent traverser les pores de la membrane externe des bactéries à Gram négatif (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

c-Mode d'action de la fosfomycine

Elle agit sur des étapes précoces de la synthèse du peptidoglycane. Elle doit donc pénétrer, quel que soit le type de la bactérie, dans le cytoplasme bactérien. Son passage à travers la membrane cytoplasmique se fait par transport actif. Une fois dans le cytoplasme, la fosfomycine inhibe les premières étapes de la formation du peptidoglycane en se fixant sur une enzyme, la pyruvyletransférase, impliquée dans la formation d'un précurseur du peptidoglycane. Il y'a arrêt de la synthèse de la paroi bactérienne et mort de la bactérie (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

1-3-2- Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines

a- Mode d'action des aminosides

Ces antibiotiques exercent sur la bactérie des effets pléiotropiques qui conduisent à une bactéricidie puissante et précoce. Ce sont des molécules de petite taille qui traversent de manière passive les pores de la membrane externe des Gram négatifs et ensuite le peptidoglycane des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, pour se concentrer au niveau de la membrane cytoplasmique. Le passage de la membrane cytoplasmique est un transport actif nécessitant de l'énergie et qui s'effectue en deux phases. La première est lente EDP I (*energy dependant phase I*) et dépendante du gradient transmembranaire de potentiel électrique. Les premières molécules rentrent et se fixent sur l'acide ribonucléique (ARN) ribosomal 16S, constituant de la sous-unité 30S du ribosome. Il y'en a ensuite une altération de traduction de l'ARN messager, des erreurs de lecture et donc une production de protéines anormales. L'incorporation de certaines de ces protéines dans la membrane cytoplasmique entraîne une altération membranaire. C'est alors que débute la seconde phase du passage membranaire des aminosides (EDP II). Les molécules rentrent massivement et rapidement à travers la membrane lésée, se fixent en grand nombre sur le ribosome et bloquent la synthèse des protéines. Les actions combinées de blocage des synthèses de protéines et l'altération des membranes expliquent l'action bactéricide des aminosides (LAMBERT et COURVALIN, 2000 ; LAMBERT, 2006).

b- Mode d'action des macrolides

Dans cette catégorie sont regroupés des antibiotiques de structures chimiques différentes mais dont les modes d'action et les spectres d'activité sont similaires : les macrolides, les lincosamides, et les synergistines. L'impossibilité pour ces molécules de traverser la membrane externe des bacilles à Gram négatif, du fait de leur grande taille et de leur

hydrophobicité, explique leur absence d'activité sur ces bactéries. Les macrolides se fixent sur la cible, l'ARN ribosomal 23S de la sous-unité 50S du ribosome. Les sites de fixation diffèrent légèrement selon les molécules, mais le mécanisme d'action est identique. La fixation du macrolide au ribosome entraîne l'inhibition de l'élongation du peptide en formation. Les lincosamides agissent de même et ces deux classes sont en général considérées comme bactériostatiques. Cependant, à fortes doses, notamment en intracellulaire où ces antibiotiques se concentrent, ces molécules sont bactéricides. Les synergistines sont formées de deux composés, A et B, qui agissent en synergie. La fixation du composé A favorise la fixation du composé B, ce qui expliquerait en partie la synergie et l'effet non plus bactériostatique mais bactéricide (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

c- Mode d'action des tétracyclines

La première étape de l'entrée des tétracyclines est une diffusion passive à travers la membrane externe des bactéries à Gram négatif soit par les pores, soit directement à travers la couche lipidique ; elle est suivie par le passage au travers du peptidoglycane. Les tétracyclines sont des molécules amphotères, propriété qui leur confère la possibilité de former des complexes avec de nombreux ions, dont les ions Mg^{2+} . La formation de ces complexes et un gradient de pH transmembranaire expliqueraient le passage à travers la membrane cytoplasmique des tétracyclines et leur accumulation intracytoplasmique. Dans le cytoplasme, les tétracyclines se fixent de façon irréversible sur la sous-unité 30S du ribosome, empêchant la fixation de nouveaux aminoacyl-ARNt. La synthèse protéique est donc interrompue (BERGOGNE-BEREZINE et DELLAMONICA, 1995).

d- Mode d'action de la rifampicine

Cette molécule très hydrophobe passe mal la membrane externe des bactéries à Gram négatif. C'est ce qui explique sa faible activité sur ces bactéries. La molécule inhibe la synthèse protéique à une étape très précoce puisqu'il s'agit d'une inhibition de la transcription de l'ADN en ARN messager. La rifampicine se fixe sur une sous-unité de l'ARN polymérase et bloque son action (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

1-3-3- Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique

a- Mode d'action des quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides qui bloquent la réplication de l'ADN. Avant d'atteindre leur cible, elles traversent les diverses structures membranaires de manière passive. Elles se concentrent dans le cytoplasme où elles se lient à une topo-isomérase, sont des enzymes qui modifient la topologie de l'ADN bactérien (JACOBY et *al*, 2003). Au cours du cycle de réplication de l'ADN, le chromosome bactérien est tantôt, surenroulé, tantôt relâché. Les topo-isomérases sont les enzymes qui permettent le passage d'un état à l'autre, en coupant l'ADN et en le recollant. La quinolone se fixe sur le complexe ADN-topo-isomérase en inhibant son fonctionnement. La bactéricidie s'expliquerait par la stabilisation des coupures d'ADN qui déclencheraient des phénomènes d'autolyse. Les deux enzymes cibles principales sont l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV (JACOBY et *al*, 2003).

b- Mode d'action des imidazolés

La diffusion intracellulaire est facilitée par leur faible poids moléculaire. Dans le cytoplasme, les nitro-imidazolés se lient à des protéines réductrices, entraînant la libération de radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper. Seules les bactéries anaérobies strictes sont concernées par ce mécanisme (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

c- Mode d'action de l'association sulfamides/triméthoprime

Les sulfamides et le triméthoprime sont des anti-métabolites qui entrent en compétition avec les substrats naturels dans la synthèse des folates. Les folates sont des substrats carbonés utilisés par la bactérie dans la synthèse de ses acides nucléiques. Les sulfamides et le triméthoprime sont des analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque (PAB) et du dihydrofolate (DHF), respectivement. A ce titre, ce sont des inhibiteurs compétitifs des deux enzymes dihydroptéroate synthétase (DHPS) et du dihydrofolate réductase (DHFR). La fabrication des acides nucléiques engagés dans la synthèse de l'ADN est diminuée, ce qui ralentit la croissance bactérienne. Ces antibiotiques sont bactériostatiques. Cependant, la combinaison des deux composés au sein du cotrimoxazole est bactéricide. Cela est dû à la synergie et à l'activité séquentielle de ces molécules dans la synthèse du tétrahydrofolate (THF) (SINGLETON, 2005).

1-3-4- Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique

Ces molécules ne présentent plus aujourd'hui un grand intérêt sur le plan clinique

- **Polymyxines**

Elles se fixent sur les membranes bactériennes et les désorganisent. Antibiotiques à effet bactéricide. La colistine est l'antibiotique le plus utilisé. Elle n'agit que sur les bacilles à Gram négatif (SINGLETON, 2005).

- **Nitrofuranes**

Ce sont des produits à large spectre. La nitrofurantoïne est utilisée exclusivement dans les infections urinaires (NAUCIEL, 2000).

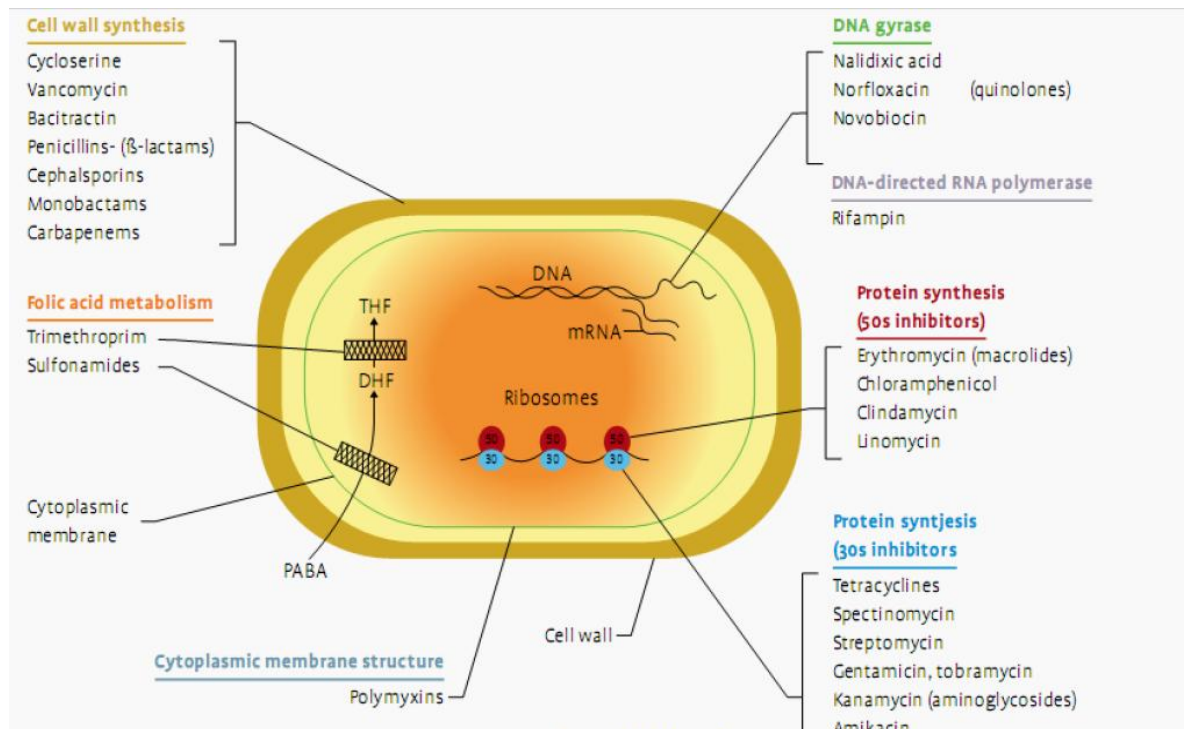


Figure 8: Mode d'action des antibiotiques (MADIGEN et al, 2000).

2- Mécanismes de résistance

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème majeur de santé publique. La connaissance des caractéristiques de résistance bactérienne, de son support génétique ; caractère naturel ou acquis, de son expression phénotypique ou ses divers mécanismes biochimiques permet de mieux comprendre l'épidémiologie des espèces résistantes.

2-1-Définition de la résistance bactérienne

Un microorganisme est considéré « résistant » vis-à-vis d'un antibiotique 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. Les bactéries sont dites multi- résistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistance naturelle et acquise, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotique. Elles sont alors résistantes à plusieurs antibiotiques ou classes pharmacologiques d'antibiotiques (CARLE, 2009).

2-2- Les phénotypes de résistance

Quand on étudie la sensibilité d'une souche à plusieurs antibiotiques, on détermine son phénotype de résistance aux antibiotiques. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype "sauvage" ou sensible. Si des résistances acquises ont modifié sa sensibilité, elle exprime un phénotype de résistance qu'on peut identifier et dont on doit tenter de déterminer le mécanisme (CARLE, 2009).

2-3-Les niveaux de résistance

D'un point de vue bactériologique, on dit qu'une souche est résistante lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce. On parle de bas niveau de résistance si la croissance est stoppée par de faibles concentrations d'antibiotique et de haut niveau de résistance si de fortes concentrations sont nécessaires.

2-4-Origine génétique de la résistance et modalités de transfert génétique

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans les chromosomes (résistance chromosomique), soit dans des éléments mobiles, comme plasmides, éléments transposables ou intégrons (résistance extra-chromosomique). La résistance peut être naturelle, ou acquise (MANDELL et *al*, 2009).

2-4-1- Résistance naturelle ou intrinsèque

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie, la résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. La résistance intrinsèque est permanente, stable et transmissible à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (MANDELL et *al*, 2009).

2-4-2-Résistance acquise

Les bactéries, préalablement sensibles à un antibiotique, peuvent développer une résistance à cet antibiotique, ce qui implique des changements génétiques chromosomiques ou extra-chromosomiques. Elles ne concernent que quelques souches, d'une même espèce, normalement sensible à un antibiotique donné. La résistance acquise possède généralement un faible risque de transmission horizontale lorsque la résistance est la suite d'une mutation chromosomique. En revanche, la résistance acquise est considérée comme ayant un potentiel élevé pour la diffusion horizontale de résistance aux antibiotiques, lorsque les gènes de résistance sont présents sur des éléments génétiques mobiles (plasmides et transposons) (KHACHATOURIANS, 1998 ; commission Européenne, 2008).

a-Mutation chromosomique (évolution verticale)

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Elle se produit environ une fois pour chaque milliard de divisions cellulaires (PLLASCH, 2003). Ces mutations sont associées à des erreurs non corrigées survenant pendant la réplication d'ADN ou réarrangements génomiques spontanés ..., les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement

qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotique ayant le même mécanisme d'action (YAMASHITA et *al*, 2000). La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés et s'observe aussi bien chez les bactéries à Gram positif qu'à Gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles.

b-Acquisition de gènes de résistance (évolution horizontale)

Les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur de certains éléments mobiles du chromosome, tels les transposons. Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèce différente. Le transfert d'un seul plasmide augmente aussi le risque d'une résistance à plusieurs antibiotiques. Par exemple, *Enterococcus faecalis* peut transférer un plasmide responsable de résistance à quatre ou cinq antibiotiques différents. Les gènes ou les groupes de gènes de résistances peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou conjugaison (CARATTOLI, 2001).

- **La transformation**

La transformation est un processus actif qui permet le transfert et l'échange de gène, ce phénomène naturel est contrôlé par des gènes chromosomiques qui permettent l'absorption de l'ADN exogène libre par une cellule compétente (BACON et *al*, 2003). C'est un mécanisme d'échange de gènes très répandu, mais pas universel entre les souches bactériennes (WOLFGANG et *al*, 1999). Beaucoup de bactéries transformables libèrent leur ADN pendant la croissance. Ainsi, au moins 50 bactéries différentes ont été démontrées comme étant compétentes pour acquérir des gènes libérés dans l'environnement par d'autres organismes, même d'origine eucaryote (Plantes, levures ...) (HAVARSTEIN et *al*, 1998). Les gènes acquis après transformation doivent être intégrés dans un plasmide ou un chromosome pour être fonctionnel (LEVY et *al*, 1998) après une recombinaison homologue entre les séquences exogènes et endogènes.

- **La transduction**

La transduction est un mécanisme de transfert de l'ADN d'une bactérie à une autre, dont le vecteur est un virus bactérie appelé bactériophage. Ce mécanisme se produit généralement lorsqu'un virus porte accidentellement de l'ADN d'une cellule bactérienne et l'injecte dans une autre essentiellement à la même espèce. Deux types de transduction sont rencontrés : la transduction généralisée et la transduction spécialisée (DAVISON et *al*, 1999).

- ❖ **Transduction généralisée**

Elle résulte d'une erreur lors de l'assemblage d'un phage, lorsqu'un segment de génome de l'hôte est emporté avec l'ADN du phage. Cet ADN sera injecté à l'intérieur de la bactérie réceptrice et pourra apporter des gènes de résistances aux antibiotiques transmis verticalement à la descendance. S'il n'est pas intégré au chromosome de la bactérie réceptrice il sera perdu par dilution au cours des divisions bactériennes.

❖ Transduction spécialisée

C'est une caractéristique de certains phages lysogènes qui sont restés intégrés dans le chromosome de l'hôte un certain temps. A l'activation, l'excision du génome viral emporte des gènes adjacents de leur site d'intégration, l'infection d'une autre bactérie par ces virions apportera à celle-ci de nouveaux gènes qui pourront être des gènes de résistances aux antibiotiques.

- **La conjugaison**

Les plasmides sont souvent transférés par conjugaison. La conjugaison est un processus au cours duquel l'ADN est transféré d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice par un mécanisme complexe nécessitant un étroit contact cellulaire et responsable en grande partie de l'émergence d'une résistance chez les bactéries pathogènes. En pareil cas, la résistance se transmet aux bactéries filles. Les bactéries ayant reçu cet élément mobile peuvent se rétablir et redevenir sensibles aux antibiotiques si elles ne sont pas exposées à ces derniers (YAMASHITA *et al*, 2000).

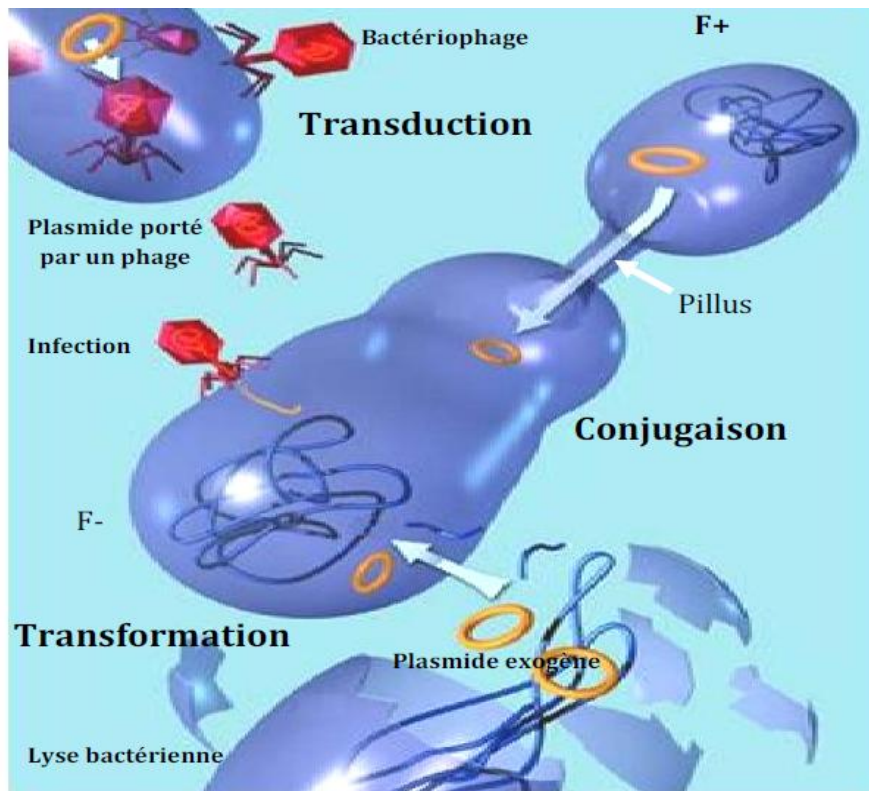


Figure 9: Différents moyens pour le transfert horizontal des gènes de résistances aux antibiotiques (GEORGE *et al*, 1998).

3-Principaux modes de résistances des bactéries

Selon le LOIR et GAUTIER (2010), quatre mécanismes de résistances concernent *S. aureus* ainsi que la plupart des espèces bactériennes d'intérêt médical. Il s'agit de:

-Phénomène d'imperméabilité ;

- Phénomène d'efflux ;
- Défaut d'affinité ;
- Résistances par modification enzymatique.

3-1-Phénomène d'imperméabilité

Pour qu'un antibiotique soit actif, il faut qu'il pénètre jusqu'à sa cible. Cela suppose qu'il soit capable de traverser les divers obstacles mis sur sa route par la bactérie. Ces obstacles potentiels varient selon la localisation de la cible et selon le type bactérien : Gram positif ou Gram négatif. On peut retenir :

- La capsule ;
- La membrane externe ;
- L'espace péri plasmique ;
- Le peptidoglycane ;
- La membrane cytoplasmique.

La présence d'une capsule n'est pas un obstacle à la pénétration des antibiotiques. Le peptidoglycane est un réseau lâche qui ne joue pas de rôle dans la rétention des substances, y compris les antibiotiques. L'espace périplasmique qui sépare le peptidoglycane de la membrane cytoplasmique est un bain liquidien où peuvent se trouver des enzymes qui détruiront les antibiotiques (SINGLETON, 2004).

- **Rôle de la membrane externe**

Les antibiotiques qui agissent sur les bactéries à Gram négatif doivent au moins franchir cette barrière. Cette bicouche lipidique est peu perméable aux molécules hydrophiles que sont la majorité des antibiotiques. Les canaux que forment les porines traversent la membrane externe ; c'est la voie de passage utilisée par la plupart des antibiotiques. Les antibiotiques doivent être suffisamment hydrophiles et de faible poids moléculaire pour traverser ces canaux.

- **Rôle de la membrane cytoplasmique**

- ❖ **Résistance naturelle**

Les aminosides passent à travers la membrane cytoplasmique par un mécanisme de transport actif nécessitant de l'énergie. L'énergie provient de la chaîne respiratoire. Or, les bactéries anaérobies strictes et anaérobies aéro-tolérantes comme les *Streptocoques* en sont dépourvus, ce qui explique leur résistance naturelle vis-à-vis des aminosides.

- ❖ **Résistance acquise**

Il existe aussi des résistances acquises par modification de système de transport de la membrane cytoplasmique. C'est le cas des mutants résistants à la fosfomycine par mutation chromosomique.

3-2-Phénomène d'efflux

Outre l'imperméabilité, il existe un autre mécanisme qui explique la non-accumulation à l'intérieur de la bactérie ; c'est l'excrétion ou l'efflux actif.

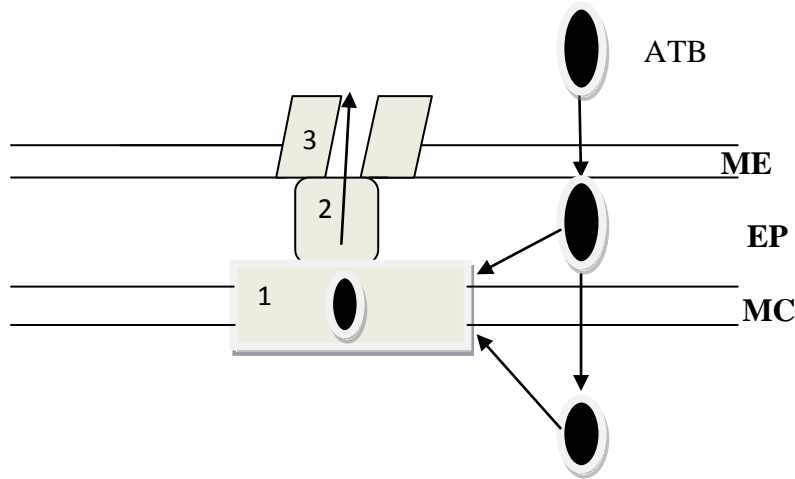


Figure 10 : Structure des systèmes d'efflux actifs ; 1: pompe ; 2: protéine de diffusion ; 3: canal transmembranaire ; ATB: antibiotique ; ME: membrane externe ; EP: espace périplasmique ; MC: membrane cytoplasmique (GAUDY, 2011).

L'antibiotique rentre dans la bactérie, mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par des protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie (figure 10). Ce système fonctionne avec une protéine de la membrane cytoplasmique qui est le transporteur ou pompe, une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine périplasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes. C'est le cas de la résistance naturelle des Staphylocoques vis-à-vis des quinolones (GAUDY, 2011).

3-3- Défaut d'affinité

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

- Soit d'une résistance naturelle avec la mauvaise affinité de certains antibiotiques pour les cibles ;
- Soit d'une résistance acquise avec modification des cibles et perte d'affinité des antibiotiques pour ces cibles. Par exemple les quinolones de première génération n'ont que peu d'affinité à l'ADN gyrase des *Staphylococcus aureus* (SINGLETON, 2004).

3-4-Résistance par modification enzymatique

Quantitativement et qualitativement, ce type de mécanisme est sûrement le plus important. De nombreuses classes d'antibiotiques et pratiquement toutes les espèces bactériennes sont concernées. Pour être actifs, l'antibiotique doit arriver intact à sa cible. Lorsqu'il y a modification de l'antibiotique par les enzymes présents dans la bactérie ce dernier reste

inactif. Ces enzymes se rencontrent de façon naturelle ou acquise chez les bactéries d'intérêt clinique (GUADY, 2011).

4) Résistances de *S.aureus* aux antibiotiques

4-1-Résistance aux β -lactamines : il existe deux mécanismes de résistance à ces antibiotiques chez *S.aureus* :

a-Production de β -lactamase

Enzymes plasmidiques inductibles qui catalysent l'inactivation des pénicillines par fixation covalente au niveau du cycle β -lactame (COURVALIN et LECLERCQ, 2012). Parmi ces β -lactamases, on peut citer principalement les pénicillinases (qui détruisent les pénicillines) et les céphalosporinases (qui détruisent les céphalosporines).

Les pénicillinases ont pour substrat préférentiel les pénicillines G, les aminopénicillines, et les carboxypénicillines. Les céphalosporinases hydrolysent principalement les céphalosporines de 1^{ère} génération et certains céphalosporines de 2^{ème} génération mais aussi les pénicillines G et les aminopénicillines (SHORDERET, 1992).

b-Modification de la cible

La résistance des *S.aureus* à la méticilline est principalement due à la modification de la cible des β -lactamines, enzymes appelées aussi protéine liant la pénicilline (PLP). Les PLP interviennent dans la synthèse de la paroi bactérienne en catalysant la formation des ponts peptidiques entre les chaînes glycaniques (CHUYSEN, 1994). Les β -lactamines se fixent à ces enzymes et bloquent la polymérisation de la paroi bactérienne, altérant ainsi sa structure et provoquent la lyse de la bactérie. *S.aureus* produit naturellement 4 PLP. Les β -lactamines doivent en inhiber plus d'une pour obtenir une activité anti bactérienne efficace (KORTA et MOBASHERY, 1998).

Les SARM synthétisent une 5^{ème} PLP modifiée appelée PLP2a. qui a une faible affinité pour les β -lactamines (BERGER, 1999). Cette dernière est autonome, et peut réaliser à elle seul la synthèse de la paroi bactérienne, même lorsque les quatre autres PLP sont inhibées (GARNER, 1998).

La PLP2a est codée par un gène chromosomique appelé *mecA* (CHAMBERS, 1997). Il est transporté dans un élément génétique appelé Staphylococcal Chromosomal Cassette (SCC). SCC*mec* est un fragment de 21-67 kb qui s'intègre dans un site unique proche de l'origine de réplication du chromosome de *S.aureus* (HIRAMATSU et al, 2002).

4-2-Glycopeptides

De nombreux termes ont été utilisés dans la littérature pour désigner les souches de *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux Glycopeptides (VSSA : *Staphylococcus aureus* sensible à la vancomycine, *Staphylococcus aureus* intermédiaire à la vancomycine, VRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine et teichoplanine, GISA : intermédiaire à la teichoplanine et sensible à la vancomycine) (PESAVENTO et al, 2007).

La résistance aux Glycopeptides chez *S. aureus* pourrait être liée à une diversité de mécanismes moléculaires responsables de la réorganisation de la structure de la paroi bactérienne. L'épaississement qui en résulte de ces modifications empêche la vancomycine de traverser la paroi et celle-ci reste bloquée (JOLY-GUILLOU, 2004).

Cette résistance est associée principalement au gène *vanA* situé sur un transposon localisé sur un plasmide. Cette résistance étant le résultat d'un changement du D-alanine terminal en D-lactate prévenant ainsi la liaison de l'antibiotique (BEAUDRY-FERLAND, 2011). L'opéron *vanA* provient de souche d'entérocoques résistants aux Glycopeptides (DAUREL et LECLERCQ, 2008).

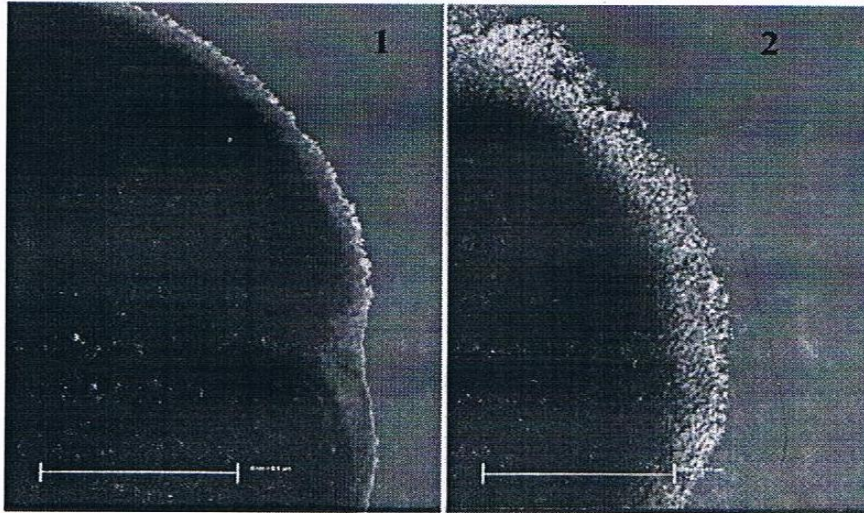


Figure 11 : Comparaison d'une cellule de *S.aureus* sensible (1) et une autre résistante à la vancomycine (2). (Image prise par microscope électronique à transmission grossissement : x 30000) (SMITH *et al.*, 1999).

- (1) *S. aureus* sensible à la vancomycine ne montre aucun gonflement de la paroi, en revanche, la souche (2) qui est résistante montre un gonflement de cette dernière

4-3- Aminosides

La résistance aux aminosides est rarement due à des mutations affectant les cibles ribosomales des antibiotiques. Le mécanisme de résistance aux aminosides (kanamycines, amikacine, tobramycine, gentamycine, nétilmicine) est surtout dû à la production par les Staphylocoques d'enzymes modifiant la cible ribosomale. Il existe trois enzymes de résistances, chacune d'entre elles conférant un phénotype de résistance spécifique aux aminosides. Ces enzymes (acétyltransférase, nucléotidyl-transférase et phosphotransférases) sont codées par des gènes plasmidiques ou transposables (TANKOVIC *et al.*, 1997). Les trois phénotypes de résistance sont (BISMUTH et LECLERCQ, 2000 ; LECLERCQ, 2002) :

- Aminoglycoside phosphotransférase (3')-III : cette enzyme confère la résistance à la kanamycine et l'amikacine (phénotype K). Cette enzyme est présente chez moins de 10% des souches méticillino-sensibles.

- Aminoglycoside nucléotidyltransférase (4'-4'') : cette enzyme confère la résistance à la kanamycine, à l'amikacine et à tobramycine (phénotype KT). Cette résistance est présente chez environ 1/3 des souches résistantes à méticilline

- Aminoglycoside acétyltransférase (6') – aminoglycoside phosphotransférase (2'') : cette enzyme bifonctionnelle confère la résistance à la kanamycine, l'amikacine, la tobramycine, et à la gentamicine (phénotype KTG). Cette enzyme est détectée chez 2/3 ou plus des souches méticillino-résistantes.

4-4-Tétracyclines

Les modes de résistance aux tétracyclines qui ont été observés, soit l'élimination des tétracyclines intracellulaires par efflux ou protection du ribosome par modification de la cible (BEAUDRY-FERLAND, 2011). Le premier est codé par les gènes tetL d'origine plasmidique, le deuxième par le gène transposable tetM (BISMUTH et LECERCQ, 2000).

4-5- Fluoroquinolones

La résistance aux Fluoroquinolones est due à une modification de la cible, soit la topoisomérase IV par mutation des gènes chromosomiques grlA ou grlB soit les sous-unités de la gyrase par une mutation au sein des gènes gyrA ou gyrB. Cette résistance touche essentiellement les Staphylocoques hospitaliers, en particulier le Staphylocoque doré résistant à la méticilline (MCCALLUM et al, 2006).

4-6- Rifampicines

Des mutations sur le gène rpoB qui code la sous-unité β de l'ARN polymérase-ADN dépendante entraînent le mécanisme de résistance. Ces mutation altèrent la structure de l'ARN polymérase sur laquelle l'antibiotique ne pourra plus agir (LE LOIRE et GAUTIER, 2010).

4-7- Résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines (MLS)

La résistance aux MLS est due à trois mécanismes :

- La modification de la cible des antibiotiques qui est le mécanisme le plus répandu et confère un spectre de résistance croisée entre macrolides, lincosamides et streptogramines B. d'où son nom de MLS_B, car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs. En effet les souches résistantes produisent une enzyme, une méthylase d'origine plasmidique (codée par le gène emr) qui modifie la cible ribosomale par méthylation (CRISTINO, 1999).

La résistance MLS_B est dite inductible quand la méthylase est produite seulement en présence de macrolide inducteur (comme l'érythromycine), ou constitutive, lorsque la production est permanente, et indépendante de l'antibiotique. La production de méthylase inductible n'entraîne de résistance qu'aux antibiotiques inducteurs, qui sont les macrolides à noyau de 14 à 15 atomes, (érythromycines, roxythromycine, dirithromycine, azithromycine) alors que

les macrolides à noyau de 16 atomes (josamycine et spiramycine), les lincosamides (clindamycine et lincomycine) et les streptogramines B (pristinamycine I et quinupristine) restent actifs car sont non inducteurs. La production constitutive de méthylase induit une résistance croisée à tous les antibiotiques de la famille, à l'exception des streptogramines. En effet, pour ces dernières, l'effet synergique des composants A et B permet le maintien de l'activité *in vitro*. Le marqueur de la résistance de type constitutif est la résistance à la clindamycine. La plupart des SARM présentent une résistance MLS_B constitutive (LECLERCQ, 2002). Le mécanisme le plus fréquemment en cause est la modification de la cible : le phénotype associant la résistance aux macrolides, aux lincosamides et au composé B des streptogramines (phénotype MLS_B constitutif) prédomine chez les SARM est lié au gène *ermA* de nature transposable ; la résistance isolée aux macrolides à 14 ou 15 atomes de carbone (phénotype MLS_B inductible) se retrouve aussi plus souvent chez les SARM et est liée au gène *ermC* d'origine plasmidique (CRISTINO, 1999).

- Les mécanismes d'efflux actifs ne touchent que les antibiotiques de structure apparentée. Les macrolides à noyau de 14 et 15 atomes (érythromycine, roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine, azithromycine) codés par le *msr* et les streptogramines A codés par le gène *vga*, peuvent subir un efflux actif par mécanismes ATP-dépendant alors que les macrolides à noyau de 16 atomes (josamycine et spiramycine), les lincosamides (clindamycine et lincomycine) et les streptogramines B (pristinamycine I et quinupristine) restent actifs car sont non inducteurs (ROSS *et al*, 1990).

- L'inactivation enzymatique est due à diverses enzymes spécifiques. Les lincosamides peuvent être inactivés par acétylase codée par un gène plasmidique *linA* (LECLERCQ, 2000). Les streptogramines sont touchés par une hydrolase codée par le gène *vgb*. Le gène *vat* est responsable d'acétylase des streptogramines A. ce gène est très souvent associé au gène *vgb* sur le même plasmide (TANKOVIC *et al*, 1997).

5- les facteurs induisant la résistance aux antibiotiques

Selon CARLE (2009), l'émergence de la résistance bien qu'étant un phénomène naturel d'adaptation des microorganismes à leur environnement, peut être accéléré par divers facteurs. Toute mauvaise utilisation des antimicrobiens, tout usage abusif et traitement trop court, toute posologie insuffisante, activité trop faible et maladie ne relevant pas du médicament en question renforcent considérablement la probabilité que *S.aureus* ou d'autres microorganismes s'adaptent et se multiplient au lieu de disparaître. L'émergence de la propagation de la résistance aux antibiotiques est le résultat de plusieurs facteurs résumés dans le tableau suivant.

Tableau VII: les facteurs induisant la résistance aux antibiotiques (CARLE, 2009).

Facteurs	Exemples (liste non exhaustive)
Emergence de la résistance	Usage abusif d'antibiotique ; durée trop courte ou dose sous thérapeutique ; diagnostic non confirmé d'infection bactérienne ; utilisation inadéquate d'antibiotique dans les pays en voie de développement.
Propagation des souches résistantes	Mesure d'hygiène inadéquate dans les hôpitaux ; non respect des directives de lutte contre les infections ; promiscuité des patients (transfère des patients colonisés ou infectés entre les hôpitaux et milieu communautaire) ; voyage internationaux ...
Utilisation d'antibiotiques dans l'agro-alimentaire	Animaux destinée à la consommation, agriculture, aquaculture....
Utilisation d'antibiotique et des désinfectants	Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons...

Conclusion

La découverte des antibiotiques peut être considérée comme un des plus importantes avancées thérapeutiques de l'histoire de la médecine. Mais les traitements mal conduits, voire inutiles, sont autant d'éléments susceptibles de favoriser l'émergence de souches bactériennes résistantes. Bien au connaître les antibiotiques est donc un préambule indispensable à leur bonne utilisation.

Introduction

Staphylococcus aureus est une bactérie commensale et pathogène de l'homme comme de certains animaux. *S. aureus* est responsable d'un spectre d'infections très variées, en termes de diversité comme en termes de gravité. Bactérie colonisant la peau et les muqueuses, son portage, notamment nasal, semble être un facteur favorisant les infections à *S. aureus*. On distingue physio-pathologiquement les infections suppuratives, liées à la multiplication bactérienne et à l'expression de multiples facteurs de virulence responsables de l'invasion et de la destruction des tissus de l'hôte, des syndromes toxiques, où la production de toxines est majoritairement responsable à elle seule des symptômes cliniques.

1-Principales pathologies chez l'Homme

1-1 Staphylococcies cutané-muqueuses

La localisation anatomique principale de l'infection dans les structures cutanées confère aux pyodermites primitives des aspects cliniques et évolutifs particuliers. La figure 12 illustre ces principales localisations.

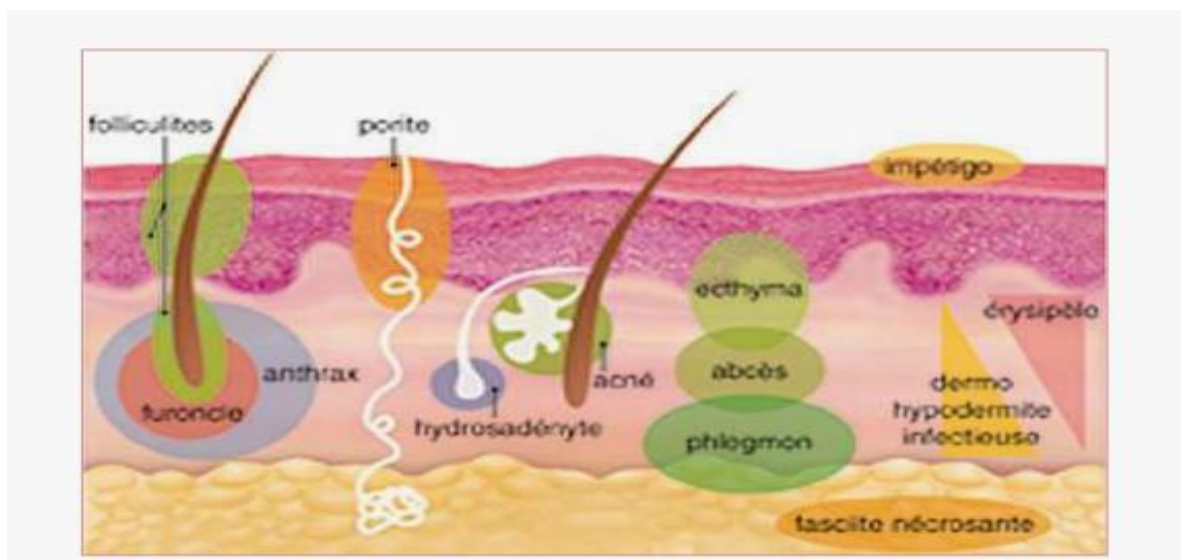


Figure 12: Infections bactériennes de la peau ; localisation schématique des différentes maladies (MAZEREEUW, 2006).

❖ Infections folliculaires : folliculites, furoncles, anthrax

Le *Staphylococcus aureus* est responsable de la majorité des inflammations aiguës du follicule pileosébacé.

- **Folliculite superficielle (ostio-folliculite) et furoncles**

a- Epidémiologie

Une folliculite est une infection aiguë superficielle du follicule pilo-sébacé (ostiofolliculite), alors que le furoncle est une infection profonde et nécrosante du follicule pilo-sébacé. Le

Chapitre VI : les infections Staphylococciques.

germe responsable est en règle le *S. aureus*, dont le portage chronique (foyer nasal, périnée, plaies) peut favoriser les récurrences. D'autres micro-organismes peuvent être à l'origine de folliculites (bacilles à Gram négatifs, levures) (BENJAMIN DAVIDO, 2010).

Des facteurs favorisants peuvent exister :

- locaux (macération, traumatisme, hygiène déficiente) ;
- généraux (diabète, obésité, déficit immunitaire).

b- Clinique

Il convient de séparer deux entités cliniques, appartenant au même cadre nosologique :

- la folliculite : pustule centrée par un poil, reposant sur une base inflammatoire (figure 13).
- le furoncle : nodule inflammatoire centré par un poil surmonté par une pustule (figure 14).



Figure 13: folliculite



Figure 14: Furoncle

La fièvre est en général absente.

L'évolution se fait en quelques jours vers la collection, puis l'évacuation du bourbillon central nécrotique, laissant place à une ulcération hémorragique et/ou purulente.

Les localisations préférentielles sont les zones pileuses et/ou les zones de frottements, de macération (Anonyme II, 2010).

- **L'anthrax**

Il s'agit de la confluence et de la prolifération de plusieurs furoncles. Il s'observe surtout dans les zones de transpiration importante. Il se traduit par tuméfaction érythémateuse douloureuse, chaude, dont la profondeur se devine à la palpation. Il est centré par une ulcération nécrotique avec présence d'un pus blanc. Fièvre et adénopathie locale complètent ce tableau clinique. L'anthrax doit être différencié du kyste sébacé infecté ou d'un abcès fistulisé (ANONYME II, 2010).



Figure 15 : l'anthrax

- **La furonculose**

C'est une répétition des furoncles, elle doit faire chercher une pathologie sous jacente pouvant être à l'origine d'une immunodépression (diabète, surmenage, maladies intercurrentes, déficit immunitaire, carence martiale), mais surtout un réservoir cutané de *S. aureus* chez le patient ou dans son entourage (YAMASAKI *et al*, 2005).



Figure 16 : Furonculose

- ❖ **Infections non folliculaires**

- **L'impétigo**

- a- Epidémiologie**

C'est une infection cutanée contagieuse, superficielle (intra-épidermique, sous-cornéenne), survenant principalement dans l'enfance. Les agents bactériens en cause sont principalement le *S. aureus*, suivi des streptocoques β -hémolytiques du groupe A (*S. pyogènes*). Le *S. aureus* est le plus fréquemment isolé comme agent étiologique de l'impétigo dans les études récentes (seul ou en association aux Streptocoques), l'impétigo se manifeste souvent à partir de petites lésions cutanées (par ex. piqûres d'insecte, égratignures) (BENJAMIN DAVIDO, 2010).

- b- Clinique**

L'impétigo débute, par de petites vésicules et pustules sur un érythème cutané. Les pustules donnent lieu après leur éclosion à des croûtes couleur de miel caractéristiques (figure 17). Dans sa forme bulleuse, l'impétigo donne lieu à de grosses bulles de 2 à 5 cm de diamètre, remplies de sécrétions jaunâtres. De grandes lésions de plusieurs centimètres surviennent lors de la rupture de ces bulles. Des démangeaisons et des adénopathies discrètes les accompagnent fréquemment (YAMAGUCHI *et al*, 2002 ; LIASSINE *et al*, 2004).



Figure 17: impétigo bulleux.

- **L'abcès**

a-Epidémiologie

Un abcès survient suite à une inoculation directe (piqûre, blessure), ou à un furoncle mal traité. Le germe responsable est en règle le *S. aureus*.

b-Clinique

La lésion se traduit par un placard inflammatoire très douloureux, collecté, avec ou sans fièvre et parfois une altération de l'état général (BENJAMIN DAVIDO, 2010).



Figure 18 : l'abcès

1-2-Septicémie

Les septicémies correspondent à la multiplication et la dissémination de *S. aureus* dans la circulation sanguine. Elles résultent le plus souvent soit d'une infection cutanéomuqueuse (furoncle, plaie infectée) mal soignée, soit en milieu hospitalier, de l'entrée de *S. aureus* dans la circulation sanguine suite à l'implantation d'un cathéter veineux, d'une sonde ou d'une prothèse. Elles s'accompagnent très souvent d'infections viscérales (endocardite, pneumopathie, ect.) ou osseuses (ostéomyélite) (FEDERIGHI, 2005).

1-3- Entérocolites aiguës

Les entérocolites aiguës sont d'évolution sévère. Elles surviennent au cours d'une antibiothérapie intensive : un malade ayant reçu pendant une période prolongée un antibiotique à large spectre, mal absorbé par la muqueuse intestinale. La maladie se manifeste par une diarrhée intense avec déshydratation rapide, d'évolution fatale. Ces entérocolites aiguës sont dues, alors, à la prolifération intense dans le tube digestif d'une souche de *S. aureus* antibiorésistante et productrice d'enterotoxines où la flore intestinale normale est détruite et remplacée par cette souche de *S. aureus*. Ainsi, la muqueuse intestinale est recouverte de fausses membranes (pseudo-membrane) avec des ulcérations hémorragiques et nécrotiques (LE LOIR, 2010).

1-4- les maladies liées à la production de toxines (Toxémie)

Les infections toxiques Staphylococciques regroupent le choc toxique Staphylococcique, la maladie exfoliative généralisée, les toxi-infections alimentaires, la pneumonie nécrosante, (DINGES et *al*, 2000).

- **Syndrome du choc toxique (TSS)**

Le syndrome de choc toxique Staphylococcique est provoqué par la diffusion dans l'organisme de la toxine (TSST-1) ou de certaines entérotoxines (B, C, etc.) (MCCORMICK et *al*, 2001). La particularité des toxines produites lors du choc toxique Staphylococcique est d'être des superantigènes qui vont entraîner une activation des lymphocytes T. Ces derniers vont libérer brutalement et massivement des cytokines pro-inflammatoires responsables des signes de choc (GILLET et *al*, 2002). Ce syndrome associe une fièvre supérieure à 39°C, une hypotension artérielle, suivie 7 à 14 jours plus tard d'une desquamation intense et d'une atteinte multi-viscérale. On retrouve la toxine TSST-1 dans 20% des souches de *S.aureus* (FANNY, 2008).

- **La pneumonie nécrosante**

La toxine de panton et valentine individualisée dans la pneumonie nécrosante n'est pas un superantigène, mais détruit les polynucléaires et entraîne une nécrose du tissu pulmonaire et des muqueuses de voies aériennes (GILLET et *al*, 2002).

- **Le syndrome d'exfoliation généralisée (syndrome de la peau ébouillantée)**

Le syndrome d'exfoliation généralisée est une érythrodermie douloureuse initialement péri-orbitaire et péri-buccale, qui se généralise en 24 heures, et qui est suivie par un décollement bulleux, régressif en 2 à 4 jours sous antibiothérapie, c'est une pathologie rare (EVEILLARD, 2007).

- **Les intoxications alimentaires**

Les intoxications alimentaires à *S. aureus* représenteraient de 15 à 30 % des toxi-infections alimentaires collectives. Elles sont provoquées par l'ingestion d'entérotoxines Staphylococciques qui sont toutes émétisantes, à l'exception notable de la TSST-1. Ces toxines produites par les souches de *S.aureus* sont thermostables, résistent à la cuisson et aux enzymes du tube digestif. Elles contaminent les aliments, le plus souvent les produits laitiers et la viande (AVRIL et *al*, 1992 ; FANNY et *al*, 2008). L'intoxication est caractérisée par une incubation courte (1 à 6 heures après l'ingestion), des crampes abdominales douloureuses, des vomissements, des diarrhées et l'absence de fièvre. L'évolution est le plus souvent favorable en l'absence de traitement, mais la survenue d'un choc toxique staphylococcique est possible en cas d'intoxication massive (WOOTON et *al*, 2004).

Chapitre VI : les infections Staphylococciques.

Tableau VIII: Toxi-infections Staphylococciques et toxines impliquées (DINGES *et al*, 2000).

Infections	Toxines
Choc toxique staphylococcique.	Toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1). Enterotoxines staphylococciques B et C (SEB et SEC).
Maladie exfoliante généralisée.	Exfoliatines A et B (ETA et ETB).
Toxi-infections alimentaires.	Enterotoxines Staphylococciques A et M (SEA et SEM).
Pneumonie nécrosante.	Leucocidines de Panton -Valentine (LPV).

1-5-Autres infections Staphylococciques (infections nosocomiales)

- **Bactériémies**

Les Staphylococcémies sont les plus fréquentes des bactériémies, elles surviennent à partir d'un foyer primaire, favorisé par la formation de thrombophlébite suppurée et peuvent entraîner des métastases septiques viscérales de localisations variées qui doivent systématiquement être recherchées. Dans le cadre des infections communautaires ; l'origine est habituellement cutanée. Les bactériémies liées aux soins sont les plus fréquentes et compliquent volontiers l'infection d'un cathéter veineux, d'une prothèse, d'une sonde ou d'un site opératoire (LE LOIR, 2010).

- **Endocardites**

Elles compliquent environ 10% des bactériémies à *S. aureus*. On distingue les endocardites sur valves natives qui sont habituellement dues à *S. aureus*, la porte d'entrée n'est souvent pas retrouvée dans les endocardites communautaires, et les endocardites sur valves prothétiques dont le délai d'apparition par rapport à la mise en place de la prothèse est variable (MURRAY, 2005).

- **Les infections urinaires**

S. aureus est rarement mis en cause. Après sondage ou cystoscopie, l'infection est ascendante. En petite quantité, *S. aureus* dans l'urine correspond à une bactériémie dans un contexte d'endocardite infectieuse (EI) par exemple, mais il peut traduire aussi une infection parenchymateuse (atteinte infectieuse des reins avec ou sans abcès, prostatite) (FRENEY *et al*, 2007).

2- Principales pathologies chez l'animal

Chez les animaux (mammifères et oiseaux), *S. aureus* est responsable d'infections variées : infections cutanées (furuncle, dermatite), articulation (synovite), viscérales (abcès) et de septicémies. Mais les principales pathologies dues à *S. aureus* en élevage sont les infections

Chapitre VI : les infections Staphylococciques.

mammaires ou mammites chez les femelles en lactation (vache, brebis, chèvre). Chez la vache, les infections mammaires dues à *S.aureus* sont le plus souvent subcliniques et peuvent passer inaperçues alors que chez la chèvre et la brebis, elles évoluent très souvent vers une forme gangréneuse. L'incidence des mammites est difficile à connaître avec précision : on estime qu'il n'existe pas de troupeau laitier indemne d'infections mammaires et qu'à tout moment, une vache sur quatre est atteinte d'infection mammaire. *S. aureus* serait responsable de 20 à 40 % des infections mammaires subcliniques et de 15 à 30 % des infections cliniques. Les mammites sont responsables d'une contamination originelle du lait par *S. aureus*. Or, la présence de cette bactérie dans le lait destiné à la consommation, représente un risque pour la santé humaine (FEDERIGHI, 2005).



Figure 19 : les mamelles d'une vache atteinte de mammite.

3- Traitement

Le traitement des infections localisées à la peau et aux muqueuses est, avant tout, basé sur des soins locaux appropriés : désinfection par des antiseptiques, drainage du pus, ablation de cathéters ou de corps étranger....Le traitement antibiotique peut être adjoint avec bénéfice en fonction des signes clinique : gravité locale de l'infection (extension locale), et risque de dissémination. Ce traitement est guidé par les résultats de l'antibiogramme et doit utiliser au moins un antibiotique, tel que la méticilline, la gentamycine, la lincomycine ou la pristinamycine.

Le traitement des infections profondes (septicémies, endocardites...) à Staphylocoque est basé sur l'association de deux antibiotiques bactéricides et synergiques utilisés à fortes doses par voie parentérale. Il s'agit en règle générale, de l'association de la méticilline par voie veineuse (100mg/kg/jour) avec un aminoside par voie musculaire tel que la gentamycine (3mg/kg/jour). Si la souche résiste à la méticilline, on choisit alors les deux antibiotiques en fonction de l'étude *in vitro* de l'activité bactéricide des antibiotiques et de leur association. L'antibiothérapie est toujours associée avec un traitement soigneux de la porte d'entrée (ablation de cathéter, drainage...) et avec celui des métastases septiques. En cas d'endocardite, le traitement sera prolongé pendant six semaines (BERCHE, 1988).

4- prévention

La prévention des TIA à Staphylocoques est fondée sur des mesures d'hygiène visant à éviter ou à limiter la contamination des aliments par *S. aureus*. Ces mesures doivent intégrer le contrôle des animaux (mammites), les bonnes pratiques de manipulation, le nettoyage et la désinfection du matériel et des locaux, depuis le producteur jusqu'au consommateur. Ces conditions ne suffisent pas à obtenir un taux de contamination nul, il est nécessaire de détruire les Staphylocoques par un traitement adapté, thermique ou autre, avant qu'ils ne se soient multipliés, ou bien d'empêcher leur multiplication en maintenant les aliments en dessous de 6°C. Le respect de la chaîne du froid est capital en ce qui concerne les Staphylocoques. Toute technologie alimentaire pratiquée dans une zone de température dangereuse doit être de courte durée ou doit s'appuyer sur d'autres paramètres que la température pour stopper la croissance de la bactérie (DE BUYSER et SUTRA, 2005). Les Staphylocoques étant thermosensibles alors que les enterotoxines sont thermostables, l'assainissement d'un produit fortement contaminé par *S. aureus* n'est pas garanti par un traitement thermique, ce traitement détruira uniquement les bactéries mais pas leurs enterotoxines si elles sont présentes. Ces dernières seront plus au moins inactivées par la chaleur mais il pourra en subsister suffisamment pour provoquer une intoxication. Il faut considérer qu'une fois formées dans l'aliment, les enterotoxines sont indestructibles.

Conclusion

Les infections à Staphylocoque se présentent souvent sous la forme d'infections suppuratives superficielles cutané-muqueuses pouvant se compliquer par diffusion à distance du foyer infectieux initial. Il peut parfois s'agir d'infections non suppuratives via un phénomène toxinique. Plusieurs facteurs expliquent la fréquence et la gravité des infections à *S.aureus*, le caractère ubiquitaire de la bactérie, la multi-résistance de certaines souches aux antibiotiques. Il s'agit des facteurs de virulence. Le Staphylocoque a en effet des capacités de sécrétion de facteurs d'adhésion, d'enzymes de résistance ou encore de toxines.

1-Objectifs

L'objectif de cette présente étude est d'isoler des souches de *S. aureus* à partir du lait cru et des produits laitiers traditionnels (petit lait, lait caillé, fromage, beurre), et ceci afin d'étudier la prévalence de ce germe dans ces denrées alimentaires à large consommation. Dans le second volet, nous nous sommes intéressés à l'étude de la résistance des isolats vis-à-vis quelques molécules d'antibiotiques utilisées en thérapeutique humaine et vétérinaire, et ceci afin d'étudier le comportement des souches et prévoir l'existence des SARM (*Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline).

2-Durée et lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée entre la période du mois de mars et juin 2015. Les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB), département de biochimie et de microbiologie de l'université MOULOUD MAMMERI, Tizi-Ouzou.

3-Nature des échantillons

Durant cette étude, 84 échantillons ont été soumis à la recherche et l'identification de *S. aureus*, et sont repartis comme suit :

- 15 échantillons du lait cru prélevés au niveau de 5 collecteurs affiliés à la laiterie Tifra-Lait de Tizirt (Tizi-Ouzou) ;
- 15 échantillons du lait cru prélevés au niveau de 5 élevages affiliés à la laiterie Tifra-Lait de Tizirt (Tizi-Ouzou);
- 5 échantillons de lait cru prélevés au niveau de 2 tank de la laiterie Tifra-Lait (avant pasteurisation) ;
- 13 échantillons de lait cru, 12 échantillons du petit lait, 9 échantillons du lait caillé, 12 échantillons de beurre et 3 échantillons de fromage prélevés au niveau de 4 crémeries de la ville de Tizi-Ouzou.

4- Prélèvement des échantillons

Nos prélèvements ont été effectués au niveau de 4 segments de la chaîne de production du lait à savoir : élevages, collecteurs, unité de transformation, et point de vente (crémérie). Pour cela, 5 fermes, 5 collecteurs, une laiterie-fromagerie ainsi que 4 crémeries ont été visés par l'investigation.

Au niveau des élevages, les prélèvements sont effectués à partir des cuves de réfrigérations, ceux des collecteurs à partir des citernes isothermiques. Tandis que, ceux des crémeries sont à partir de petites cuves de réfrigération. Les échantillons du lait et les produits laitiers prélevés

sont recueillis dans des flacons en plastique stériles, d'une capacité de 60 ml, étiquetées et numérotées.

5- Transport et conservation des échantillons

Une fois prélevés, les échantillons sont placés dans une glacière à une température voisine de 4°C, puis acheminés au niveau du laboratoire (ISO 17604, 2003).

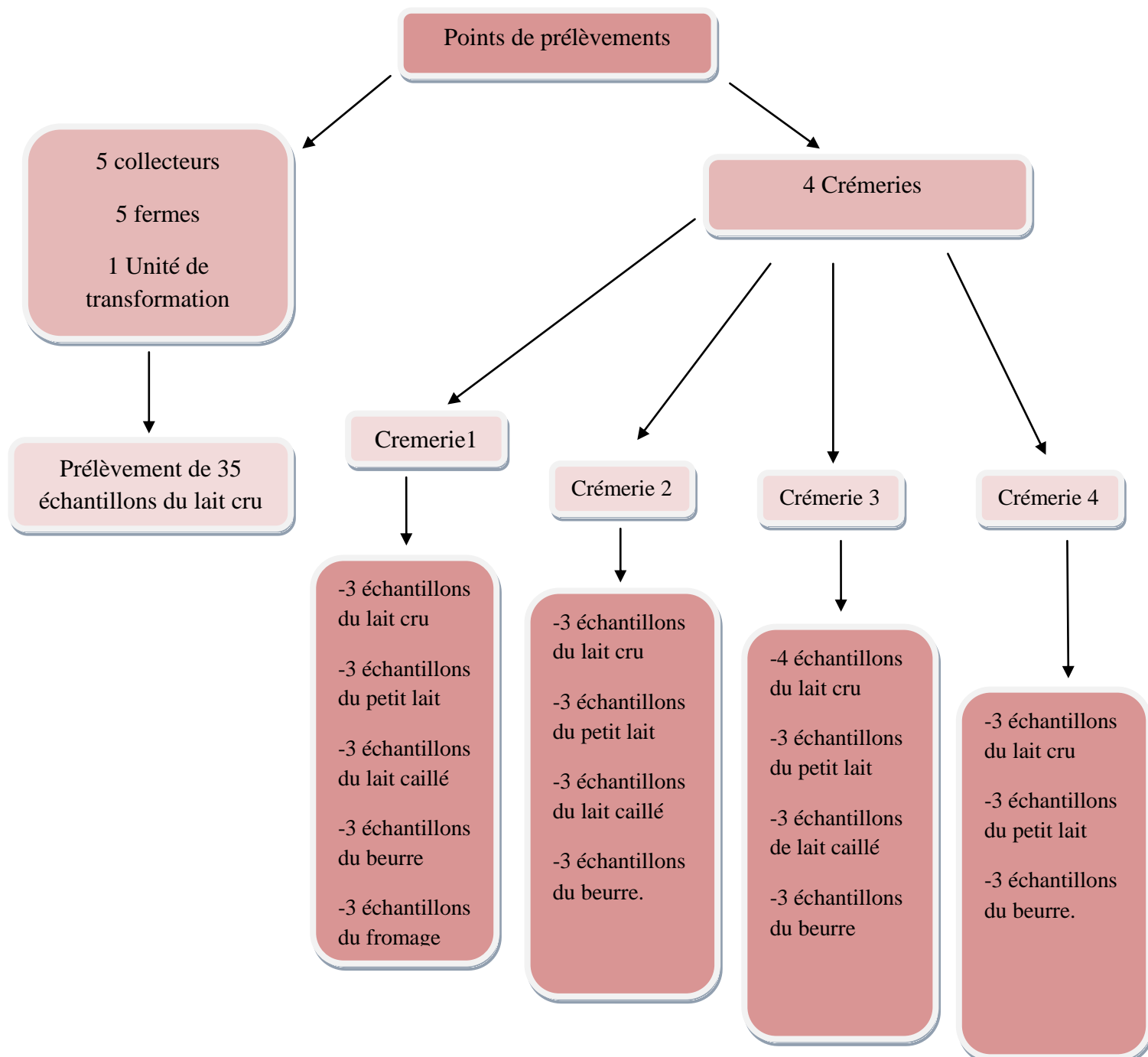


Figure 20 : Protocole de prélèvements des échantillons de lait cru et des produits laitiers au niveau de différents points de prélèvement.

6- Recherche des *S. aureus*

La recherche de *Staphylococcus aureus* a été effectuée en deux étapes : étape d'enrichissement et étape d'isolement selon la norme (NF V08-057-2) in (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

6.1. Prise d'essai et préparation de la suspension mère

Dans le cas des produits solides (beurre, fromage), une suspension mère a été préparée et ceci après prélèvement d'une prise d'essai de 10 g de l'échantillon à analyser. Cette dernière est mise dans 90 ml d'eau peptonnée tamponnée (Conda Pronadisa, Espagne).

6.2. Enrichissement

Pour cela, le milieu liquide Giolitti Cantoni est utilisé car il possède une composition proche de celle du milieu de Baird-Parker étant le plus sélectif. Le pyruvate, le mannitol et la glycine favorisent le développement des Staphylocoques coagulase +, qui en outre réduisent le tellurite en tellure métallique en éliminant sa toxicité. La formation de tellure noir révèle donc la croissance de *Staphylococcus* (GUIRAUD, 2003).

L'enrichissement consiste à prendre 1ml des échantillons du lait, petit lait et lait caillé ou bien des suspensions mères préparées et lui rajouter 15 ml du milieu Giolitti Cantoni (Biokar, France) , additionné de tellurite de potassium (Institut Pasteur, Algérie). L'incubation est ainsi faite à 37°C/24 heures.

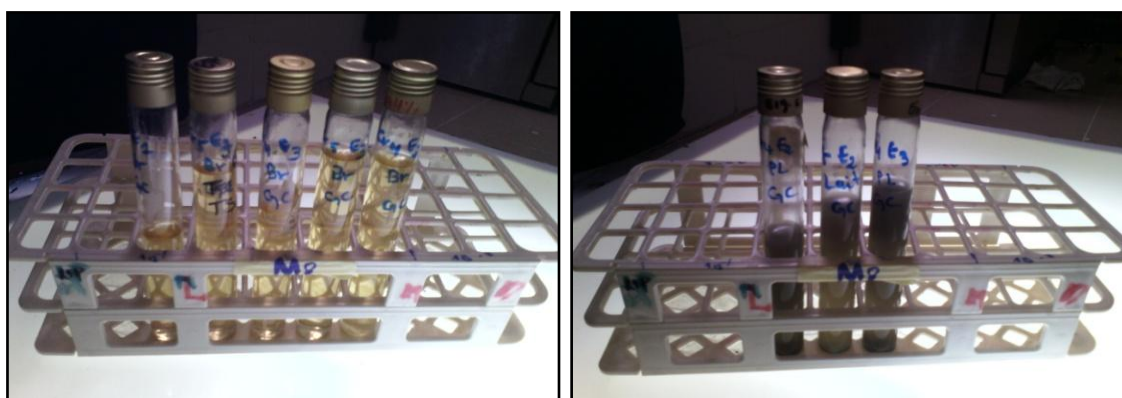


Figure 21 : Milieu Giolitti Cantoni avant et après incubation.

Les tubes ayant viré au noir sont présumés positifs (présence de *Staphylococcus aureus*) et feront l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman (Conda Pronadisa, Espagne).

6-3- L'isolement

L'isolement a été effectué sur la gélose Chapman. Ce milieu contient une forte teneur en NaCl (7,5%), ce qui permet principalement la croissance des espèces du genre *Staphylococcus* au détriment des autres bactéries. Il donne une indication de l'action de la souche isolée sur le mannitol, contenant du rouge de phénol (indicateur de pH). L'utilisation de mannitol avec production d'acide se traduit par un virage de couleur du rouge au jaune (GUIRAUD, 2003).

➤ Mode opératoire

A partir des tubes présumés positifs, une à deux gouttes sont prélevées à l'aide d'une anse à boucle, déposées et étalées sur la gélose Chapman préalablement fondue, coulée sur boîte de Pétri et bien séchée.

Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48h.

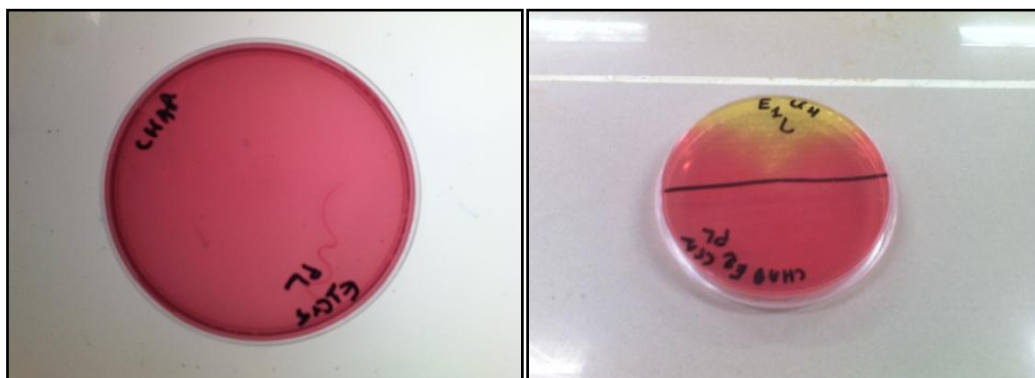


Figure 22: Gélose de Chapman avant et après incubation.

Après incubation, s'il y a vraiment présence de *Staphylocoques*, des colonies de taille moyenne, bombées, rondes et lisses apparaissent avec un virage de couleur au jaune (fermentation du mannitol). Dans le cas contraire la boîte reste en rouge. Ces colonies feront l'objet d'une purification et d'une identification biochimique miniaturisée.

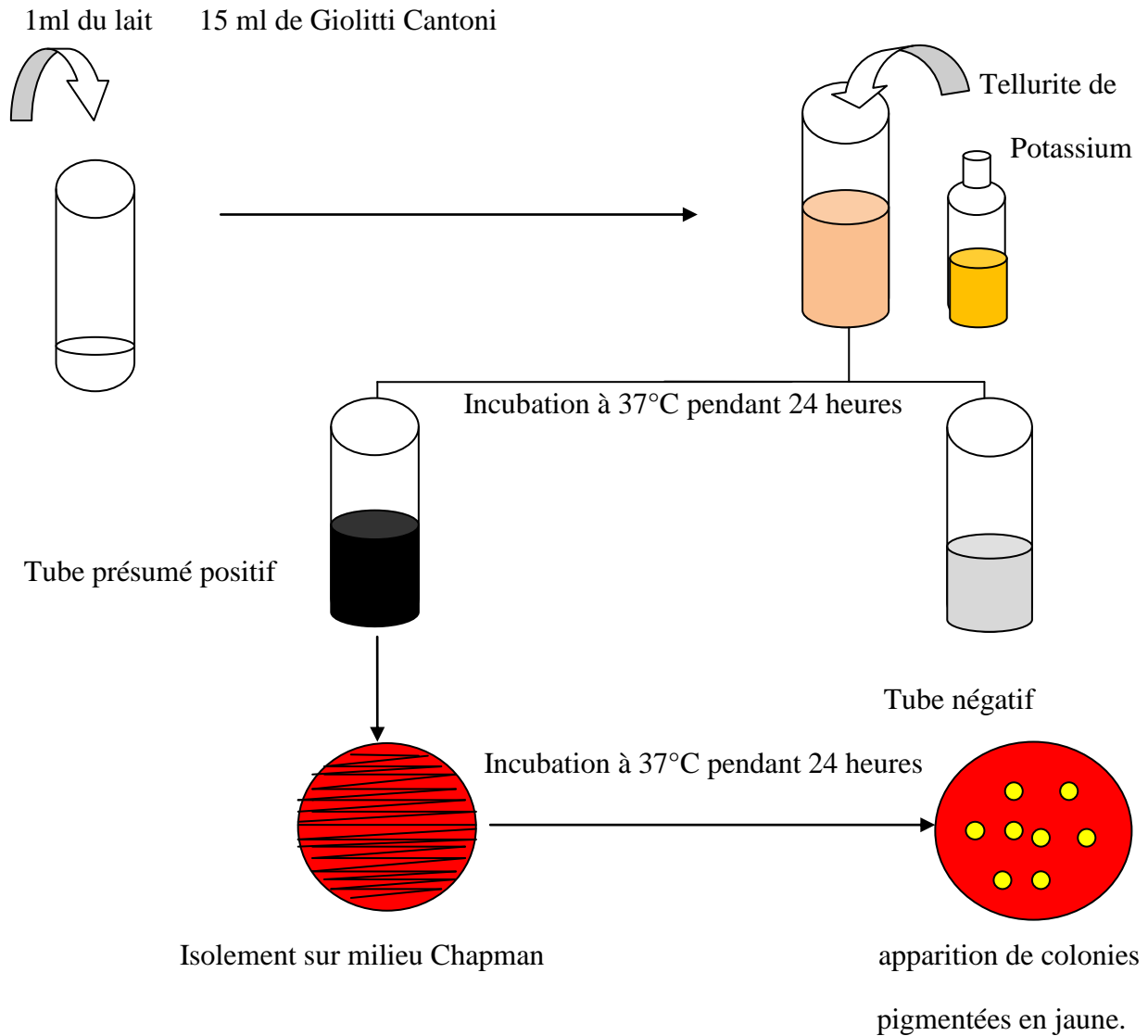


Figure 23: Schéma illustrant les étapes de la recherche des *S.aureus*.

7- Purification des souches isolées

Pour purifier les souches de *Staphylococcus* isolées, des repiquages successifs sont réalisés sur le même milieu d'isolement (Chapman) ou à défaut sur un autre milieu moins sélectif qui est la gélose nutritive ou la gélose BHI. Une coloration de Gram est faite à chaque fois pour contrôler la pureté des souches.

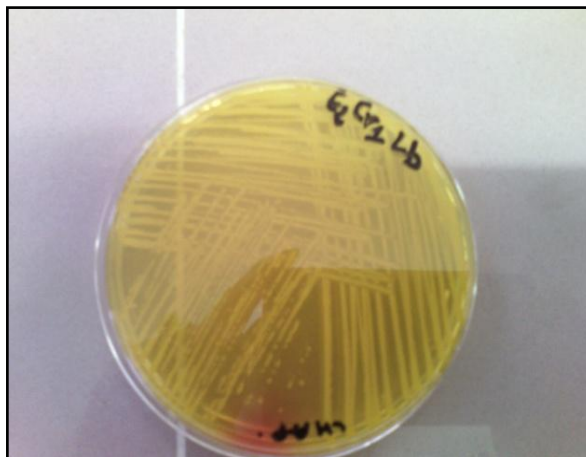


Figure 24 : Souches de *Staphylococcus aureus* purifiées sur gélose Chapman.

Une fois que les souches sont purifiées, l'identification biochimique s'impose.

8- Aspect microscopiques des colonies (Coloration de Gram)

L'étude de cet aspect par la coloration de Gram est la première étape de l'identification du genre. Elle est assurée par l'observation microscopique des bactéries et renseigne sur la forme des bactéries : cocci ou bacille (MARCHAL, 1992) et sur leur mode d'agencement, ainsi sur leur classement en deux grands groupes, celui des Gram positif et celui des Gram négatif (DIOP *et al*, 2007).

Mode opératoire

Avant de procéder à la coloration, un frottis doit être préparé comme suit :

- étaler sur une lame propre une colonie prélevée à l'aide d'une anse à boucle dans une goutte d'eau physiologique;
- sécher à la flamme puis fixer le frottis.

Une fois refroidi, nous entamons la coloration de Gram :

- recouvrir le frottis avec le violet de Gentiane et laisser agir pendant une minute;
- rejeter le colorant et recouvrir la lame avec le lugol, laisser agir 45 secondes puis le renouveler avec la même durée;
- rejeter et décolorer à l'alcool pendant 30 secondes;
- rincer la lame avec de l'eau;
- recouvrir le frottis avec de la fushine et laisser agir une minute;
- rincer la lame et laisser sécher avant de passer à l'observation microscopique à l'immersion (au G x 1000).

Lecture : les *Staphylococcus* se présentent sous forme de diplocoques et en cocci en grappe de raisin.

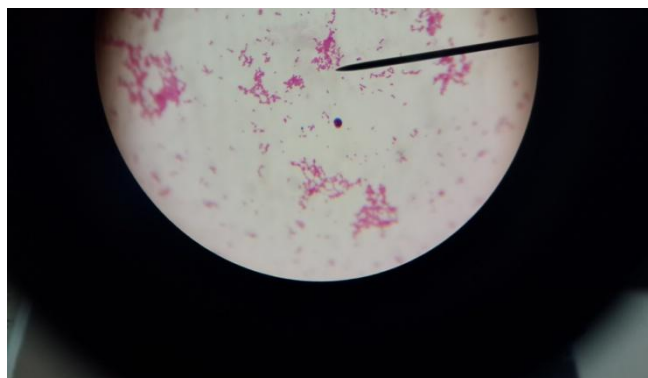


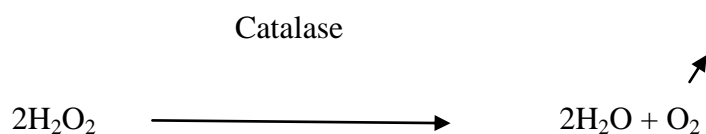
Figure 25 : Aspect microscopique des *Staphylococcus* (observation au microscope optique, grossissement $\times 100$).

9- Identification biochimique

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques (GUIRAUD, 1998 ; FRENEY et *al*, 2007).

9-1-Test de la catalase

Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction (MARCH et *al*, 1991).



Ce test permet de différencier les staphylocoques catalase (+) des streptocoques catalase (-) et intervient aussi dans le mécanisme de résistance à la bactéricidie (CHAALA, 2013).

➤ Technique

Prendre une lame porte objet propre, déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose. Un test positif se traduit par un dégagement de bulles de gaz.

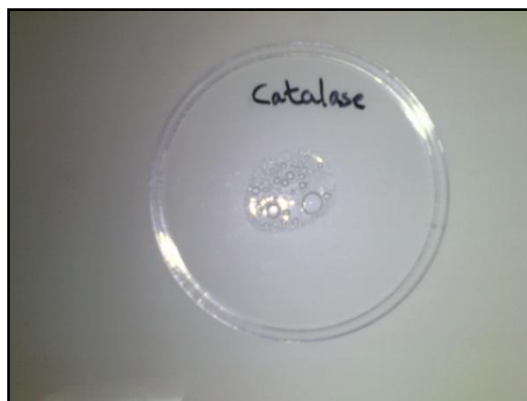


Figure 26 : Mise en évidence de la catalase.

9-2- Test de la coagulase

La propriété de *Staphylococcus aureus* à provoquer la coagulation d'un plasma est due à la sécrétion d'une protéine extracellulaire ; la Staphylocoagulase ou la coagulase.

La recherche de la Staphylocoagulase est le test essentiel qui permet de distinguer les souches potentiellement pathogènes, car la Staphylocoagulase joue un rôle central dans le pouvoir pathogène des *Staphylocoques*, en leur permettant de lutter contre les anticorps opsonisants et la phagocytose (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

➤ Technique

L'activité coagulase libre doit être mesurée à partir d'une culture sur milieu non inhibiteur.

À l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une partie de chaque colonie sélectionnée et ensemencée dans un tube de bouillon cœur-cervelle, puis incubé à 37°C durant 18 à 24h.

Le substrat de cette enzyme est le plasma du lapin, à défaut nous avons eu recours à l'utilisation du plasma humain.

On prélève ensuite 0,5 ml de chaque culture ajoutées à 0.5 ml du plasma humain dans des tubes stériles, puis l'incubation est faite à 37°C. La coagulation est examinée après 4 à 6h. Un témoin négatif est préparé en mélangeant le bouillon nutritif, non ensemencé, au plasma humain. Le témoin positif est réalisé, en utilisant la souche de référence ATCC 25923.

Le test est considéré comme positif lorsqu'on observe une prise en masse totale du plasma ou un caillot moins compact.

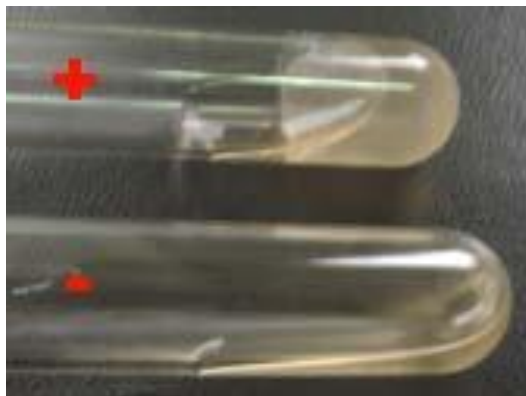


Figure 27: Test de la coagulase.

9-3-Test de la désoxyribonucléase (DNase)

Certaines bactéries sont capables d'hydrolyser l'ADN (Acide Désoxyribonucléique) grâce à une enzyme l'ADNase

La réaction catalysée est la suivante :



La DNase des *Staphylococcus aureus* est, de plus, capable d'hydrolyser les ARN (activité ARNase).

Les deux réactifs utilisés pour révéler l'action d'une DNase sont :

- L'acide chlorhydrique HCl à 2 N qui précipite les molécules d'ADN combinées à des protéines ;
- Le bleu de toluidine qui prend une teinte rose en présence des composés d'hydrolyse de l'ADN.

La DNase recherchée n'est pas active sur le propre ADN des bactéries sécrétrices (JEAN-NOEL et GUY LEYRAL, 2009).

➤ Technique

Cette enzyme est recherchée par culture des souches à tester sur des boîtes contenant le milieu à ADN (Conda Pronadisa, Espagne). La présence de cette enzyme se traduit par la présence d'une zone claire tout autour de la strie et ceci après inondation de la boîte de Pétri par le HCl à 2N.

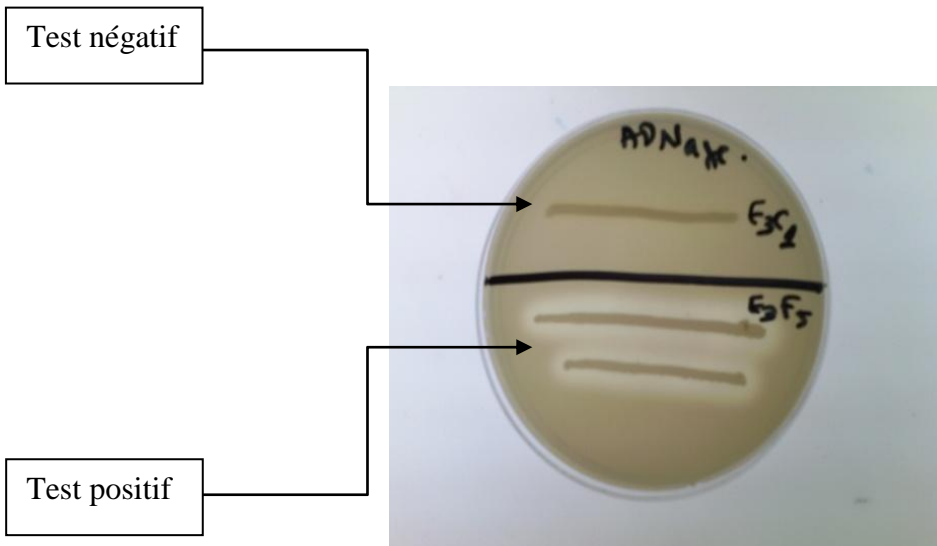


Figure 28: Mise en évidence de l'ADNase.

9-4- Test de Vogs Proskauer (VP)

La réaction de Vogs Proskauer permet de mettre en évidence la production d'acétoïne (acétyl méthyl carbinol) à partir du glucose. Au cours de la fermentation butylène glycolique, avant de parvenir au stade butylène glycol, l'acide pyruvique est transformé en acétyl-méthyl-carbinol ou acétoïne. L'acétoïne est mise en évidence par une coloration rose obtenue en milieu alcalin par action de créatine sur le diacétyl formé par oxydation (RENAUD et al, 2007).

➤ Technique

Un volume de 5 ml du milieu Clark et Lubs est ensemencé par la souche à tester, puis incubé à 37°C pendant 48 heures. La lecture se fait après l'addition de 0.5 ml d' α -naphthol à 6% (VPI) et de 1 ml de NaOH 4N (VPII) à 1 ml du milieu d'incubation.

Le test positif se traduit par l'apparition d'une coloration rouge cerise en surface au bout de 10 à 15 mn.

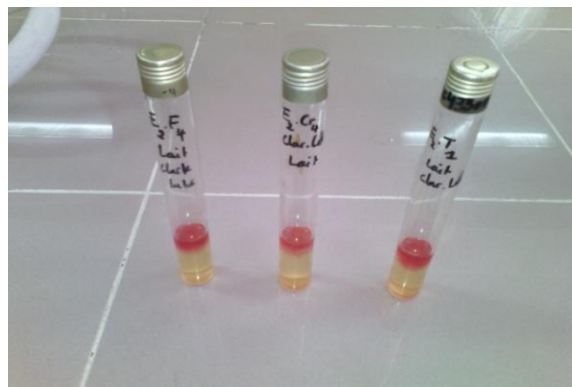


Figure 29: Mise en évidence de la production de l'acétoïne.

9-5- Recherche du nitrate réductase

La nitrate réductase est une enzyme (un complexe enzymatique en réalité) qui est capable de catalyser la réaction de réduction des nitrates (NO_3^-). Au cours de ce test, on recherche donc la production de cette enzyme : la nitrate-réductase par la bactérie. La réduction des nitrates par la nitrate réductase se traduit par la production de nitrites. Parfois, certaines bactéries peuvent poursuivre cette réduction, jusqu'à une dénitrification.

➤ Technique

La recherche du nitrate réductase est faite par ensemencement d'un bouillon nitraté par la souche à tester. L'incubation est faite à 37°C pendant 48 heures.

La révélation est faite après ajout de deux réactifs (nitrate réductase I et II). Dans le cas où il y'a apparition d'une couleur rouge ça voudra dire qu'il y'a eu réduction des nitrates en nitrites ce qui implique donc la présence de l'enzyme, et quand il n'ya pas eu de virage de couleur ça peut se traduire par l'absence de l'enzyme ou par la réduction totale des nitrites en azote (N_2) ; pour le savoir il faut poursuivre le test en rajoutant de la poudre de zinc, dans le cas où il y'aura un changement de couleur au rouge donc le test est négatif car la réduction est due au zinc, et dans le cas contraire le test est positif et que la réduction par l'enzyme était totale jusqu'à dénitrification.

La réduction se fait selon la réaction suivante :

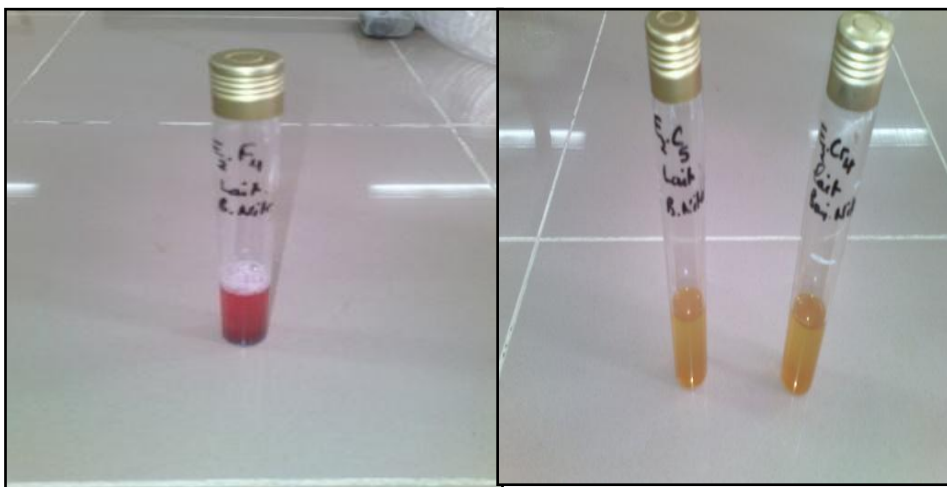
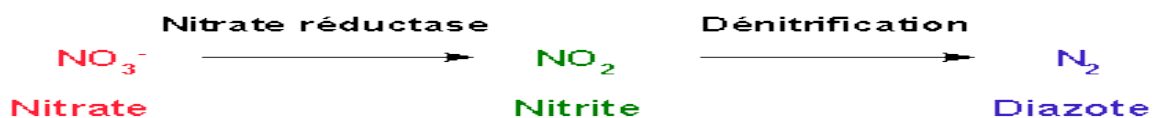


Figure 30 : Mise en évidence de nitrate réductase.

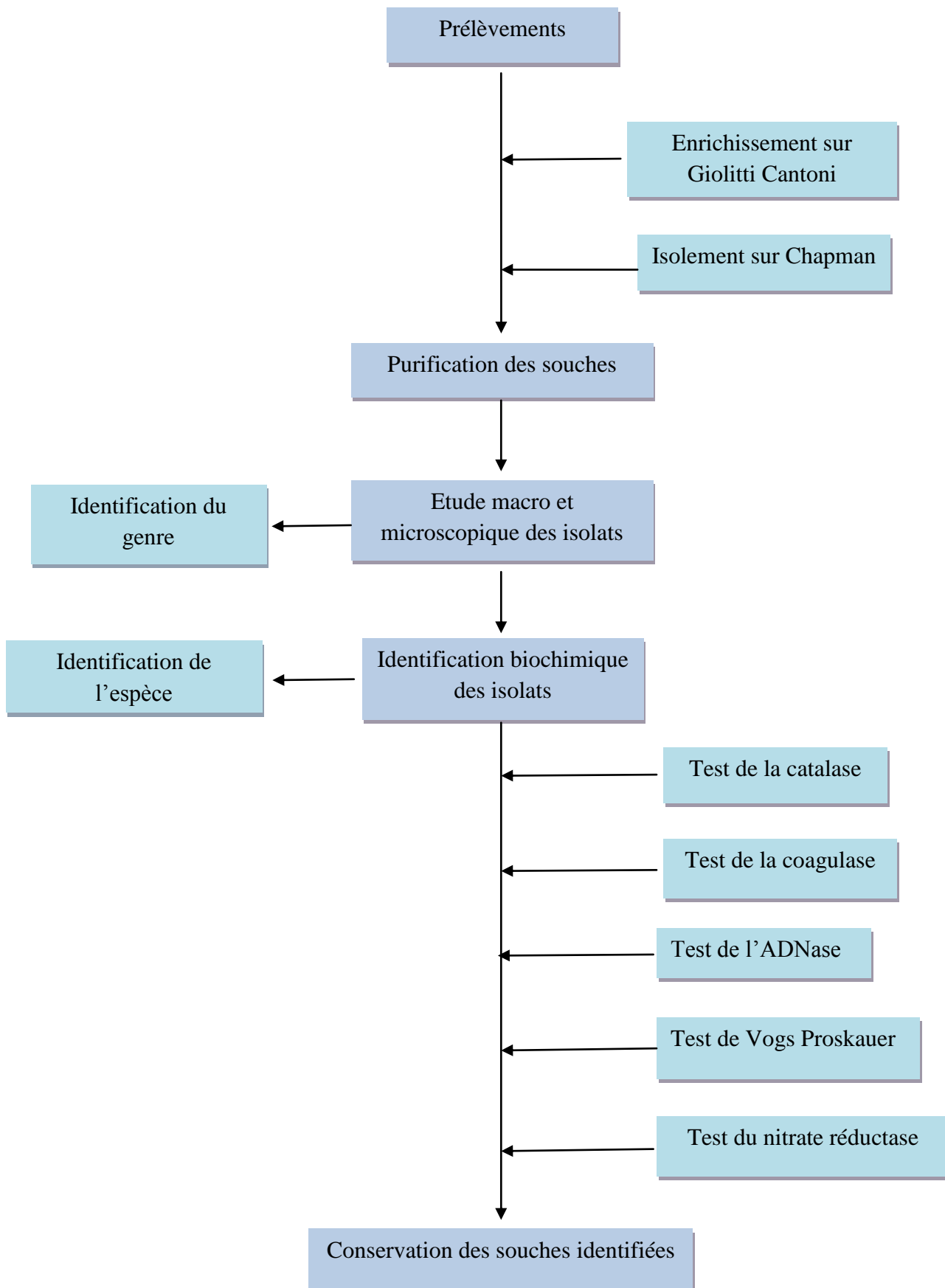


Figure 31 : Protocol de recherche et d'identification de *S.aureus*.

10- Evaluation de l'antibiorésistance

Considérant que la résistance des bactéries aux antibiotiques est très variable et semble en augmentation, l'isolement et l'identification ne suffisent souvent plus pour mettre en œuvre une antibiothérapie efficace (RENNIE et *al*, 2008). Alors faire appel aux laboratoires de bactériologie pour réaliser des tests de sensibilité semble être nécessaire.

11- Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose à partir de disques d'antibiotiques selon les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS, 2007). Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

11-1- Technique de l'antibiogramme

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement (gélose nutritive, Chapman). Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une pipette Pasteur, déchargées dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

La suspension bactérienne est bien homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à une densité optique (DO) de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm. Le milieu Mueller-Hinton (MH), coulé en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm est utilisé, l'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.

L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'une boîte de Pétri est ensemencée.

Trois à quatre disques d'antibiotiques différents sont appliqués par boîte, ils sont espacés de 24 mm, centre à centre. Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince stérile, le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont, ensuite, incubées immédiatement pendant 18 heures à 37°C.

➤ **Lecture des résultats**

L'inhibition de croissance conduit à la formation d'une zone claire (zone d'inhibition) autour des disques d'antibiotiques. La lecture de l'antibiogramme se fait en mesurant à l'aide d'une règle graduée les diamètres d'inhibition autour des disques en mm, et par la suite on va classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire, résistante.

11-2- les antibiotiques testés

La sensibilité des différentes souches de *S.aureus* a été déterminée vis-à-vis de 26 molécules d'antibiotiques connues pour être actifs sur cette bactérie, appartenant à différentes familles :

Pénicilline G (10UI), Oxacilline (1µg), Cefoxitine (30µg), Gentamicine (10µg), Tobramycine (10µg), Kanamycine (30µg), Erythromycine (15µg), Spiramycine (100µg), Lincomycine (15µg), Vancomycine (30µg), Ampicilline (10µg), Clindamycine (2µg), Bacitracine (10UI), Cephalotine (30µg), Amoxicilline acide Clavulanique (20/10µg), Triméthoprime Sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg), Tétracyclines (30µg), Chloromphénicol (30µg), Fosfomycine (50µg), Ac.fusidique (10µg), Acide nalidixique (30µg), Novobiocine (30µg), Amikacine (30µg), Ofloxacine (5µg), Norfloxacin (10µg), Néomycine (30µg).

12- Recherche complémentaire obligatoire de la résistance de *S. aureus* à l'Oxacilline

➤ **Test de diffusion du disque de Cefoxitine**

La résistance des *Staphylocoques* aux pénicillines (Oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de Cefoxitine (30 µg), en plus du disque d'Oxacilline lui-même dans les conditions standard (OMS, 2008). Devant tout problème d'interprétation, un test de confirmation par la technique du screening à l'Oxacilline est réalisé (test MRSA).

➤ **Test de screening à l'Oxacilline pour *S. aureus***

Ce test concerne uniquement les souches de *Staphylococcus aureus* présentant une résistance à l'Oxacilline (NCCLS, 1997 ; OMS, 2005).

Dans 10 ml d'eau distillée stérile, 6 mg d'Oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1g) sont dissous, puis une dilution à un dixième dans de l'eau distillée est réalisée.

La solution obtenue est répartie à raison de 2 ml par tube. Ainsi conditionnées, ces solutions peuvent être conservées à -20°C pendant une semaine, au bout de laquelle elles doivent être renouvelées.

Dans une boîte de Pétri stérile de 90 mm de diamètre, 2 ml de cette dilution sont mis, dans 18 ml de gélose Mueller-Hinton additionnée de 4% de NaCl, puis le contenu est mélangé par des mouvements rotatoires. L'inoculum est réalisé de la même manière que celui de l'antibiogramme.

La boîte de Pétri est divisée en quatre quadrants: un estensemencé par la souche à tester, deux par les souches de références: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (souche sensible à l'Oxacilline) et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (souche résistante à l'Oxacilline), le quatrième cadrant est nonensemencé (NCCLS, 1997 ; OMS, 2005).

La boîte est ensuite incubée pendant 24 heures à 37°C en atmosphère normale. La pousse de plus d'une colonie suffit pour indiquer une résistance à l'Oxacilline, impliquant une résistance à toutes les bêtalactamines (ensemencement en masse).

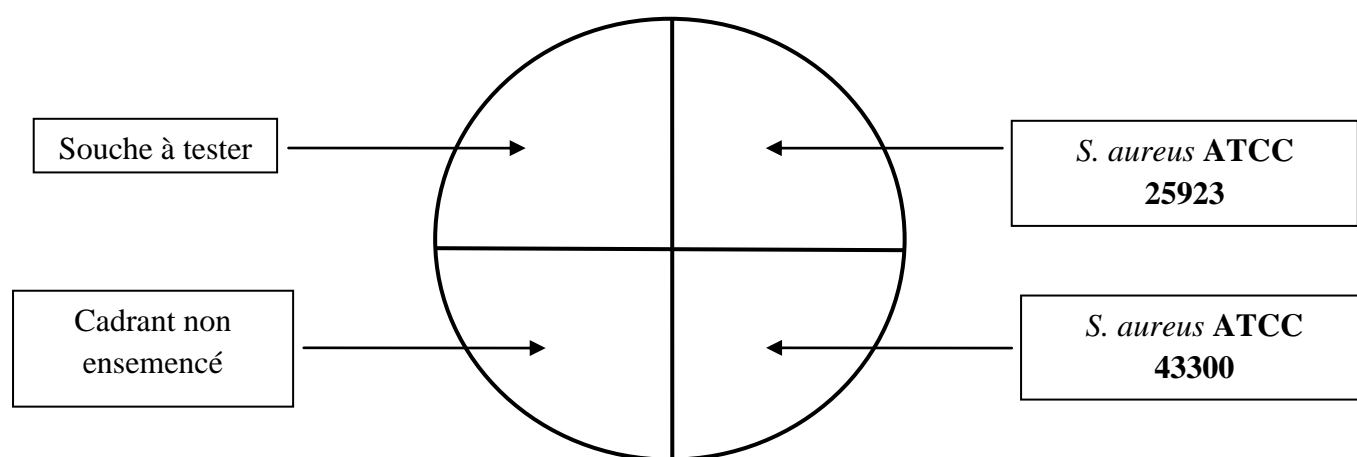


Figure 32: Screening à l'Oxacilline pour *S.aureus*.

13- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide vis-à-vis de l'Oxacilline

Des CMI à l'Oxacilline pour toutes les souches de *S.aureus* présentant une résistance à l'Oxacilline ont été réalisées.

Préparer une solution mère à 1600 µg/ ml (16 mg de poudre de l'antibiotique diluée dans 10 ml d'eau distillée). Commencer par la distribution d'eau distillée dans chaque tube et à partir de la solution mère, procéder à la distribution de l'antibiotique en changeant de pipette à

chaque fois que nécessaire. Prendre 2 ml de chaque dilution d'antibiotique (160 µg/ml, 80 µg/ml à 0.16 µg/ml) en allant de préférence de la plus faible à la forte concentration et la mettre dans les boites de pétri correspondantes (160 µg/ml à 0.16 µg/ml), ajouter dans chaque boite 18 ml de Mueller Hinton + 2% de NaCl. Homogénéisé par mouvements rotatoire et laisser solidifier.

Préparer les suspensions des souches à tester et des souches témoins, de la même manière que pour l'antibiogramme (0.5 Mac Farland) puis appliquer 3µl des différentes suspensions sur la gélose à l'aide d'une micropipette. Incuber les boites de 18 à 24 heures à 37°C (OMS, 2005), et faites la lecture ; là ou il y'a le plus faible développement correspond à la CMI.

14- Conservation des souches

Les souches de *S.aureus* identifiées sont ensemencées par piqure centrale à l'aide d'une anse à fil droit dans des tubes étiquetés et codifiés contenant une gélose de conservation puis conserver à 4°C.

RESULTATS ET DISCUSSION

II- Résultats et discussion

1- Prévalence des souches de *S. aureus* dans les prélèvements analysés

Au cours de la période d'étude s'étalant du mois de mars au mois de juin, 84 échantillons du lait et produits laitiers (petit lait, lait caillé, beurre et fromage) ont été prélevés à travers 4 segments de la chaîne de production du lait (élevages, collecteurs, unité de transformation et points de vente) et ont été soumis à la recherche de *S. aureus* dans le but d'étudier la prévalence de ce germe dans ces denrées alimentaires à large consommation. Sur un total de 84 prélèvements analysés, 26 se sont révélés positifs, soit un taux de 30.95%. Néanmoins, la fréquence d'isolement des souches de *S. aureus* est variable non seulement selon le type du produit analysé, mais aussi selon le point de prélèvement. Le tableau suivant illustre la fréquence de contamination de *S. aureus* dans les produits analysés :

Tableau IX : Fréquence d'isolement des souches de *S. aureus* à travers les différents types de produits analysés.

Types de prélèvements	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Pourcentage de positivité (%)
Lait cru	48	19	39.58
Petit lait	12	4	33.33
Lait caillé	9	3	33.33
Beurre	12	0	0
Fromage	3	0	0
Total	84	26	30.95

La fréquence d'isolement de *S. aureus* dans le lait cru semble plus importante par rapport à ses dérivés analysés. En effet, sur 48 échantillons du lait 19 échantillons sont révélés positifs. Alors que, les échantillons du beurre et du fromage se sont révélés indemnes. Ceci pourrait s'expliquer par la diminution de l'acidité et de la disponibilité de l'eau au niveau de ces produits laitiers. *S. aureus* nécessite des hautes activités de l'eau lui permettant de se développer rapidement. Néanmoins, il peut tolérer des faibles activités de l'eau au dessous de 0.83, mais ces dernières peuvent affecter la production de toxines. Quand au pH, *S. aureus* peut tolérer une gamme de pH allant de 4.2 à 9.3. En revanche, la croissance ainsi que la production de toxines staphylococciques sont affectées avec la diminution du pH (GUSTAFSON et al, 2015).

Tableau X : Fréquence de contamination du lait par *S. aureus* selon le point de prélèvement.

Type de prélèvements	Points de prélèvements	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Positivité (%)
Lait cru	Fermes	15	4	26.66
	Unité de transformation	5	2	40
	Crémèries	13	6	46.15
	Collecteurs	15	7	46.66

RESULTATS ET DISCUSSION

Au regard des résultats obtenus, la fréquence de contamination du lait cru par *S.aureus* est variable d'un segment de production à un autre. Celle-ci augmente en allant de l'amont vers l'aval, en d'autres termes la fréquence est plus importante au niveau des collecteurs et des crémèries qu'aux niveaux des élevages.

La fréquence de contamination des échantillons du lait par *S. aureus* dans les élevages est légèrement importante que celle annoncée par HAKEM et al (2012) dans les fermes de la Mitidja qui ont rapporté un faible taux de contamination, avoisinant de 12%, et de celle annoncée par BELHARRAT et KHORSI (2014) dans les fermes de Tizi-Ouzou qui ont signalé un taux de contamination de 16.66 %. Quant à la fréquence de contamination aux niveaux des collecteurs est très importante que celle annoncée par BELHARRAT et KHORSI qui ont rapporté un taux de 18.33%.

AGGGAD et al (2009), GHAZI et NIAR (2011), BAAZIZ (2006) et CHAALAL (2013) ont annoncé des prévalences importantes, qui sont de l'ordre de 54.28 %, 82%, 80.13% et 70% respectivement.

De nombreuses études réalisées à travers plusieurs pays montrent l'importance de contamination du lait cru par *S. aureus*. En Malaysia, sur un total de 2650 échantillons du lait et produits laitiers, 328 (12.4 %) se sont révélés positifs, incluant 162 (15.7%) échantillons du lait bovin et 86 (9.6%) échantillons du lait ovin (JAMALI et al, 2015). En Pologne, une étude concernant la prévalence et l'antibiorésistance des *S. aureus* dans le lait caprin montre un taux de contamination de l'ordre de 86.1% sur un total de 223 échantillons analysés (ROLA et al, 2015). ANTONIOS et al (2015) ont rapporté un taux de contamination de l'ordre de 23.09% sur un total de 342 échantillons du lait ovin, dans une étude concernant la prévalence, la diversité génétique et la résistance des souches de *S. aureus* isolées dans le lait ovin. En Egypte, KHALIFA et al (2015) ont signalé 29 échantillons du lait caprin se sont révélés contaminés sur un total de 50 échantillons. Dans une autre étude réalisée en Egypte par KAMAL et al (2013), la fréquence de contamination semble plus importante, qui est de l'ordre de 94.3% sur un nombre de 35 échantillons du lait.

Dans de nombreux pays, la fréquence de *S. aureus* dans le lait cru est variable d'une étude à une autre. Elle est de 83.33% au Togo (PISSANG TCHANGAI, 1992), 42.14% en Ethiopie (ABERA et al, 2010), 41% en Chine (CHENG et al, 2010), 61% au Kenya (OMBUI, 1992) et 18% en Albanie (SULAJ et al, 2013).

Ces données concernant la prévalence des *S. aureus* dans le lait cru reflètent l'importance que tient ce germe dans la contamination de cette denrée alimentaire. En effet, selon HEUCHEL (2002), *S. aureus* et les infections mammaires à *Staphylococcus aureus* constituent la principale source de contamination du lait à la production. Cette bactérie est reconnue pour être responsable d'une proportion importante de mammites sub-cliniques et chroniques chez la vache laitière, et d'environ un tiers des mammites cliniques. Plusieurs facteurs de contamination du lait par *S. aureus* à la ferme ont été soulignés, incluant la présence de vaches mamiteuses, les conditions d'hygiène inappropriées durant la traite ainsi que les mauvaises conditions de stockage du lait après sa production (JAMALI et al, 2015).

RESULTATS ET DISCUSSION

En Algérie, la prévalence de cette bactérie dans les mammites sub-cliniques et cliniques semble similaire d'une région à une autre. Elle est de 19.75% (HEZIL et al, 2013) et 40% (SAIDI et al, 2012) dans la région centre, 30.3% dans le nord-est (BOUFAIDA-ASNOUNE et al, 2012) et de 30.76% dans la région ouest (BENHAMED et al, 2011).

Ajoutant à cela, le portage nasal des *Staphylococcus aureus* chez l'humain et les animaux de compagnie constitue le réservoir principal de ce germe, ce qui pourrait contribuer dans cette contamination. En effet, une étude menée en Italie par VISCIANO et al (2014) montre la présence de *S. aureus* aussi bien dans les échantillons du lait que dans la matrice humaine. 16 écouvillons nasaux se sont révélés positifs sur un nombre total de 30, soit une fréquence de 53.33%. Le même constat a été rapporté par Kamal et al (2013), où ils ont montré que 20 ouvriers sont considérés comme étant des porteurs de *S. aureus*. Ces constats n'écartent pas la possibilité de transmissions mutuelles entre l'homme, l'animal et la matrice alimentaire.

La fréquence d'isolement des *S. aureus* dans le lait au niveau des crémeries est moins importante que celle rapportée par KAMAL et al (2013), qui est de l'ordre de 94.3% (sur un total de 35 échantillons). BELHARRAT et KHORSI (2014) ont signalé un taux de contamination de l'ordre de 45.45%. Par contre, au Maroc une prévalence moins importante a été enregistrée, qui est de l'ordre de 11.5% (HADRYA et al, 2012). Quant au petit lait et au le lait caillé, la fréquence de contamination par ce germe est la même et est de l'ordre 33.33%.

CHENOUF (2014) a rapporté une prévalence légèrement élevée, qui est de l'ordre de 38.89% au niveau des crémeries de la ville de Djelfa. Néanmoins, nos résultats sont plus importants que ceux rapportés par HADRYA et al (2012) au Maroc et de ceux signalés par BELHARRAT et KHORSI (2014) à Tizi-Ouzou.

La contamination des produits laitiers provenant des crémeries par *S. aureus* peut s'expliquer d'une part : par la contamination de la matière première (lait cru) nécessaire à l'élaboration de produits à base du lait cru (petit lait, lait caillé, beurre, fromage...), mais aussi à des contaminations introduites (croisées) pendant le processus de fabrication, due aux mauvaises manipulations et à l'ignorance des conditions d'hygiène. En effet, en plus des mammites et des surfaces en contact avec le lait, les manipulateurs eux-mêmes constituent une source non négligeable de contamination importante du lait par *S. aureus*. RAPINI et al (2005) ont isolé des *S. aureus* qui produisent la toxine du syndrome du choc toxique dans les mains des manipulateurs. A Addis Ababa, Ethiopie, dans une étude sur le portage nasal des *S. aureus* par les éleveurs, 13.2% des écouvillons (sur un total de 68) ont été contaminés, ce qui témoigne le risque lié au portage des *S. aureus* par les différents individus impliqués dans la chaîne de production du lait (MAKURIA et al, 2013).

La fréquence de contamination par *S. aureus* dans le petit lait et dans le lait caillé est moindre par rapport à celle du lait cru, ceci est dû essentiellement à l'inhibition du développement des souches par la forte acidité du milieu et l'action inhibitrice des bactéries lactiques sur ces dernières.

L'absence d'une étape réelle de pasteurisation au cours du processus de fabrication, la présence de contaminations croisées et l'absence d'un système de réfrigération continue chez

RESULTATS ET DISCUSSION

la plupart des points de vente, de même que les mauvaises pratiques de conservations tel le stockage à des températures ambiantes relativement élevées (surtout en période estivale) pourraient expliquer les contaminations par *S. aureus* au niveaux des crémeries.

Dans cette étude, nous nous ne sommes pas intéressés au dénombrement de *S. aureus* dans ces matrices alimentaires, chose qui pourrait nous fournir une information importante concernant une éventuelle possibilité de production de toxines. En effet, 10% des souches responsables de mammites sont capables de produire des enterotoxines. Ces dernières peuvent être produites quand la charge de *S. aureus* est supérieure à 10^5 UFC/ml (KIVARIA et al, 2006).

En France, DE BUYSER et al (2003), dans une étude concernant l'implication du lait et produits laitiers dans les maladies infectieuses d'origine alimentaire, ont rapporté que l'agent bactérien le plus fréquemment mis en cause dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) dues aux produits laitiers est *S. aureus*.

2-Test de sensibilité des souches de *S. aureus* aux antibiotiques :

Un autre objectif visé par cette étude est la caractérisation du profil de résistance des souches de *S. aureus* isolées, vis-à-vis de certaines molécules d'antibiotiques utilisées en thérapeutique humaine et vétérinaire. En Algérie, *Staphylococcus aureus* est fréquemment isolé dans les structures hospitalières, avec une résistance de 90% vis-à-vis des pénicillines. Des résistances vis-à-vis l'oxacilline ont été rapportées (RAHAL et al, 2001). Ces souches sont connues pour être fréquemment résistantes aux antimicrobiens à cause de leur capacité à produire une barrière d'exopolysaccharide d'un coté, et de l'autre, leur localisation au sein des micro-abcès, qui limitent l'action des antibiotiques (GUNDOGUM et al, 2006). Cependant peu de données sont disponibles, concernant la résistance des *S. aureus* en milieu vétérinaire. Pour cela, il semble que des investigations sur la résistance des souches servent comme outil épidémiologique pour l'appréciation des conditions sanitaires associées à la consommation de ces denrées alimentaires, le fait que ces dernières sont des facteurs importants de transfert des résistances. En plus *S. aureus* est capable de s'adapter à une large gamme de conditions environnementales et ceci grâce à sa plasticité génomique, lui permettant de résister à une grande variété de molécules d'antibiotiques.

Au total 26 souches de *S. aureus* on été isolées, purifiées et soumises à l'étude de leurs résistances vis-à-vis de 26 molécules d'antibiotiques selon la technique de diffusion sur gélose. L'interprétation des résultats et le classement des souches en : sensibles, résistantes et intermédiaires a été faite selon le CLSI (2007).

L'étude montre bien l'existence des résistances, avec des proportions variables selon les familles d'antibiotiques. En effet, de fortes résistances ont été observées vis-à-vis l'acide nalidixique, la pénicilline et l'ampicilline, avec des résistances de l'ordre de 100%, 88.5% et de 84.61% respectivement. Des résistances remarquables vis-à-vis la tétracycline et l'Amoxicilline-acide Clavulanique, avec des valeurs de 65.38%, et 34.61% respectivement. Des faibles résistances vis-à-vis de la Kanamycine, la Néomycine, l'Oxacilline, la Cefoxitine, l'ofloxacin, la norfloxacin, la fosfomycine, la Bacitracine et l'acide fusidique ont été enregistrées qui sont de l'ordre de 3.85%, 3.85%, 11.54%, 11.54%, 11.54%, 11.54%, 3.85%,

RESULTATS ET DISCUSSION

3.85% et 7.69% respectivement. Aucune résistance n'a été enregistrée vis-à-vis l'érythromycine, la gentamicine, la novobiocine, la clindamycine, le chloramphénicol, la lincomycine, la spiramycine, l'amikacine, la tobramycine et la vancomycine.

Tableau XI : Sensibilité des isolats de *S. aureus* aux antibiotiques.

Familles	Antibiotiques	abréviation	Nombre de souches					
			Résistantes		Intermédiaires		Sensibles	
			N	%	N	%	N	%
Béta-lactamines	Pénicilline	P	23	88.5	0	0	3	11.5
	Oxacilline	OX	3	11.54	1	3.85	22	84.61
	Amoxicilline+ acide clavulanique	AUG	9	34.61	0	0	17	65.4
	Cefoxitine	FOX	3	11.54	0	0	23	88.5
	Ampicilline	AMP	22	84.61	0	0	4	15.4
	Céphalotine	KF	0	0	0	0	26	100
Aminoglycosides	Gentamycine	GEN	0	0	0	0	26	100
	Kanamycine	KAN	1	3.85	0	0	25	96.15
	Amikacine	AK	0	0	0	0	26	100
	Tobramycine	TOB	0	0	0	0	26	100
	Néomycine	N	1	3.85	1	3.85	24	92.30
Macrolides	Erythromycine	E	0	0	0	0	26	100
	Spiromycine	SP	0	0	3	12	23	88
	Lincomycine	MY	0	0	0	0	26	100
Glycopeptides	Vancomycine	VAN	0	0	0	0	26	100
Quinolones	Ofloxacine	OFX	3	11.54	0	0	23	88.46
	Acide nalidixique	NA	26	100	0	0	0	0
	Norfloxacine	NOR	3	11.54	0	0	23	88.46
Tétracyclines	Tétracycline	TCY	17	65.38	0	0	9	34.61
Sulfamides	Triméthoprime Sulfaméthoxazole	SXT	0	0	0	0	26	100
Phénicolés	Chloramphénicol	C	0	0	0	0	26	100
Lincosamides	Clindomycine	CD	0	0	0	0	26	100
Autres molécules	Fosfomycine	FOS	1	3.85	0	0	25	96.15
	Acide fusidique	FC	2	7.69	0	0	24	92.30
	Novobiocine	NO	0	0	0	0	26	100
	Bacitracine	BA	1	3.85	17	65.38

N : nombre de souches, % : pourcentage de souches.

2.1. Souches SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) :

Les infections à SARM sont un problème de santé publique à l'échelle mondiale, en raison de la gravité des maladies qu'ils peuvent causer. Jusqu'à récemment, les infections à SARM sont principalement recrudescents en milieu hospitalier dans le monde entier (NORMANNO et

RESULTATS ET DISCUSSION

al, 2007). Une étude faite en Algérie en 2011, révèle que le taux de SARM à été en constante évolution en milieu hospitalier avec 4,5% en 2002, 33,2% en 2004, 45% en 2006 et 52% en 2011 (REBIAHI et al, 2011 ; BEKKHOUCHA et al, 2009). Ce pourcentage, même s'il est inférieur à ce qui a été rapporté pour le Sénégal et les Etats-Unis, avec respectivement 70% et 72%, il est proche de celui rapporté en Egypte en 2004, tout en restant nettement supérieur à ceux rapportés pour la Côte d'Ivoire, le Maroc et la Tunisie avec respectivement 25%, 19,3%, et 15,3% (MASTOURI et al, 2010). Cependant, quelques cas de SARM chez les animaux producteurs d'aliments et dans les aliments d'origine animale ont été signalés (LEE, 2003 ; KITAI et al, 2005).

La plupart des animaux peuvent être colonisés par *S. aureus*, mais c'est seulement en 1995, que KLUYTMANS et al (1997), ont décrit la première éclosion d'origine alimentaire de SARM qui causa la mort à cinq des vingt- un patients (NORMANNO et al, 2007).

Depuis, peu des souches de SARM ont été isolées à partir de plusieurs aliments d'origine animale, y compris la viande de porcs, de bovins, de poulet et du lait (BOERA et al, 2009). La source de contamination des aliments est encore mal connue. Néanmoins peu de rapports sur la présence et l'origine possible de SARM dans les aliments sont disponibles (NORMANNO et al, 2007).

Dans notre étude, trois souches qualifiées comme étant des SARM ont été isolées. Le dépistage de ces souches a été fait grâce au test à la cefoxitine, qui a montré des zones d'inhibition inférieures à 19mm. En plus de ces résistances à la céfoxitine, des résistances à l'oxacilline ont été enregistrées. Cette résistance à l'oxacilline a été confirmée grâce au screening test.

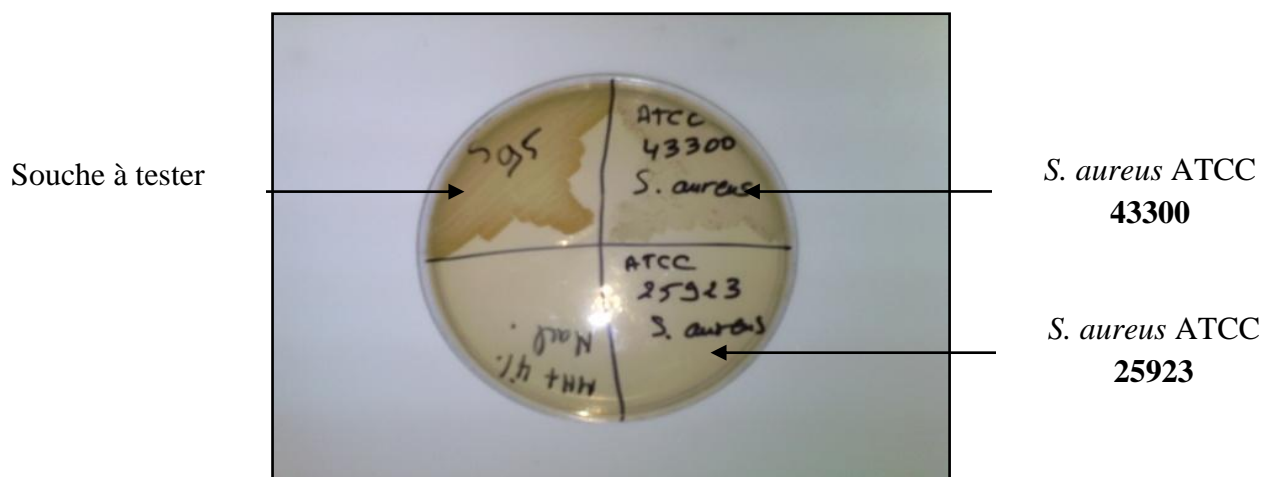


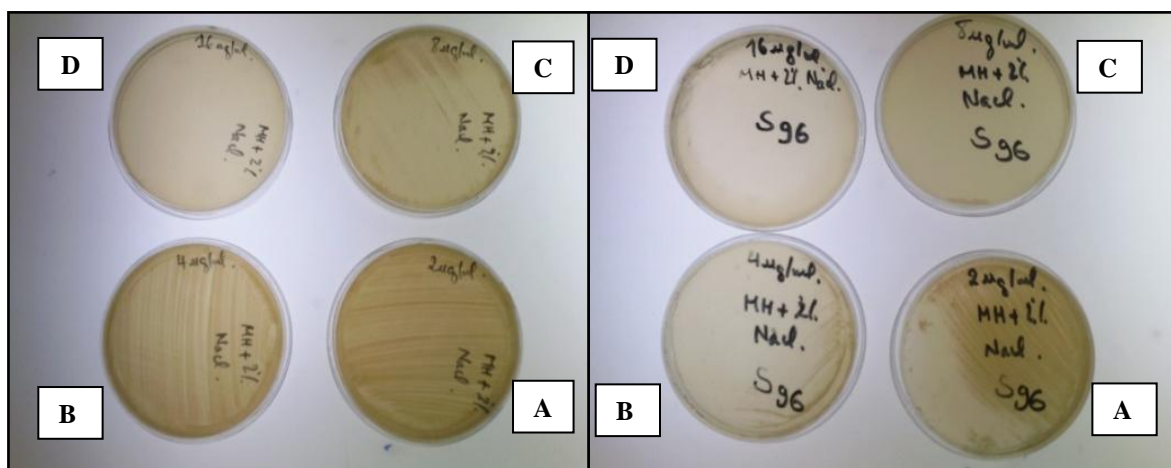
Figure33 : Test de la recherche de la résistance à l'oxacilline chez *S. aureus*.

La culture de plus d'une colonie de la souche à tester dans cette gélose à concentration élevée en oxacilline, suffit pour confirmer une résistance à cette antibiotique, ce qui implique une résistance vis-à-vis toutes les β -lactamines. Les souches de référence *S. aureus* ATCC 25923 (sensible à l'oxacilline) et *S. aureus* ATCC 43300 (résistante à l'oxacilline) ont été testées dans les mêmes conditions.

RESULTATS ET DISCUSSION

Selon le CLSI (2007), il est donc possible de conclure la présence de 3 souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline, soit un taux de 3.57% sur l'ensemble des échantillons analysés.

La résistance à l'oxacilline a été confirmée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par microdilution en milieu solide. Les concentrations minimales inhibitrices de ces trois souches sont respectivement de l'ordre de 16µg/ml, 8µg/ml et 8µg/ml, ce qui nous permet donc de conclure que ces souches sont phénotypiquement résistantes à la méthicilline (MRSA).



Concentrations d'oxacilline dans les boîtes : **A** : 2µg/ml, **B** : 4µg/ml, **C** : 8µg/ml, **D** : 16µg/ml

Figure34 : Résultats de la microdilution en milieu solide vis-à-vis l'oxacilline

Les trois souches SARM ont été isolées à partir du petit lait et du lait cru, ce qui nous a permis d'avoir une prévalence des SARM de l'ordre de 3.57%. Cette fréquence d'isolement de SARM est plus importante par rapport à celle annoncée par JAMALI et al (2015), où 56 (2%) échantillons du lait et produits laitiers étaient contaminés par des SARM, sur un nombre total de 2650 échantillons du lait et produits laitiers traditionnels. En revanche, KAMAL et al (2013) ont rapporté une prévalence de 5.26%, sur un total de 95 échantillons analysés. En Italie, une étude concernant la détection des MRSA dans les élevages laitiers montre une faible prévalence de ces souches, ce qui est lié probablement aux bonnes pratiques d'élevages et d'hygiène. Une prévalence nulle dans le lait caprin, où 207 isolats de *S. aureus* sont révélés sensibles à la méthicilline, mais ceci n'écarte pas le risque de présence de SARM dans ce type du lait (ROLA et al, 2015). En Turkey, dans une investigation concernant la recherche des MRSA isolées à partir des cas de mammites caprines, deux souches sur un nombre de 42 ont été confirmées comme étant des SARM (ARAS et al, 2012).

Les résultats de notre étude concordent avec ceux récemment réalisés, où les fréquences d'isolement des SARM dans les aliments sont faibles, bien que le taux trouvé dans notre étude (3.57%) est considéré un peu élevé par rapport au nombre de prélèvements, comparé au taux enregistré par NORMANNO et al (2007), qui ont isolé 6 souches, soit (0,4%) de SARM à partir de 1634 échantillons de lait de vache et de fromage.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau XII : Répartition des souches SARM en fonction des prélèvements.

Type de prélèvements	Nombre de prélèvements	Nombre de <i>S. aureus</i>	Nombre de SARM
Petit lait	12	4	2
Lait	48	19	1
Lait caillé	9	3	0
Fromage	3	0	0
Beurre	12	0	0
Total	84	26	3

Le même constat a été rapporté pour les autres denrées alimentaires, où le risque de présence de SARM n'est pas à négliger. Dans une enquête Japonaise, KITAI *et al* (2005) ont isolé deux souches de SARM (0,5%) à partir de 444 échantillons de viande de poulet. Bien que, l'étude menée en Corée comprenant 930 abattoirs et des échantillons de viande au détail a montré la présence de SARM dans deux échantillons de viande de poulet (0,2%), à l'exclusion des échantillons de porc ou de bœuf (KWON *et al*, 2006). Cependant, des fréquences presque similaires sont rapportées par VAN LOO *et al* (2007), qui ont trouvé 2 (2,5%) SARM dans 79 échantillons de viande de porc cru et de viande bovine. BOER *et al* (2009) ont isolé 264 souches de SARM (11,9%) à partir de 2217 échantillons de viande dans les pays nordiques. Ceci suggère que les aliments d'origine animale sont des réservoirs de SARM et peuvent transmettre l'agent pathogène à l'être humain (CRAGO *et al*, 2012).

Beaucoup d'études menées à travers le monde montrent l'invasion de souches MRSA dans les denrées alimentaires. Ceci pourrait être lié aux transmissions entre l'animal, l'homme et les matrices alimentaires. Dans la production animale, une nouvelle souche MRSA ST398 émerge récemment. Des voies de transfert des MRSA de l'animal vers l'humain ont été décrites, incluant le contact direct avec les animaux, qui sont des porteurs potentiels de ces souches, la contamination environnementale et la consommation et la manipulation de denrées alimentaires contaminées (PETINAKI *et SPILLIOPOULOU*, 2012).

Il est clair que plusieurs études ont montré le risque lié à la présence des MRSA dans les denrées alimentaires. Tel qu'il est mentionné, le risque majeur est le développement d'intoxications alimentaires, liées à la multiplication de ces souches. Le second, est le développement de maladies invasives suite à la consommation de denrées alimentaires contaminées. Le troisième risque est la possibilité que les personnes impliquées dans les processus technologiques soient colonisées par des MRSA. Tous ces risques dépendent des mesures d'hygiène, de la quantité des MRSA et de la capacité de ces souches de coloniser l'hôte (KLUYTMANS, 2009). Les MRSA restent un problème de santé publique de grande ampleur. L'émergence de ces souches à travers la chaîne alimentaire et les animaux de compagnie n'est pas encore complètement étudiée, pour plusieurs raisons : la non connaissance complète des données concernant le portage nasal des *S. aureus* et la diversité des protocoles et des méthodes appliquées lors de la recherche des MRSA à travers les différents pays (PETINAKI *et SPILLIOPOULOU*, 2012).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les trois souches SARM présentent une résistance associée avec d'autres familles d'antibiotiques. En effet, leurs résistances à la méthicilline sont croisées avec celles de toutes les β -lactamines, à savoir : la pénicilline, l'augmentin, l'ampicilline, l'oxacilline et la céfoxitine.

La présence du gène *mec A* est en relation avec la résistance à l'Oxacilline et à la Cefoxitine. Les souches qui possèdent ce gène, qui code pour les PLP2a, conduisant ainsi à la résistance vis-à-vis de l'Oxacilline (JARDAT et al, 2013). Selon SANDERS et al (2010), les *Staphylocoques* résistants à la Cefoxitine ou exprimant la PLP2a après induction par une β -lactamine doivent être interprétés résistants à toutes les β -lactamines (pénicillines, Céphalosporines...). Ces souches sont susceptibles d'exprimer une résistance à la méticilline.

Pour les autres molécules d'antibiotiques, les trois souches résistent vis-à-vis l'acide nalidixique, l'ofloxacine, la norfloxacinine et la tétracycline. L'une des trois souches résiste vis-à-vis la fosfomycine.

Pour la famille des macrolides, la résistance de nos souche est de type MLS sensible, c'est-à-dire aucune résistance n'a été enregistrée vis-à-vis : l'érythromycine, la lincomycine et la spiramycine.

Aucune résistance n'a été signalée vis-à-vis les autres familles d'antibiotiques (aminosides, glycopeptides, sulfamides et les phénicolés).

Dans une étude menée en Italie sur la sensibilité des SARM aux antibiotiques, NORMANNO et al ont rapporté que les six isolats de SARM sont résistants à l'acide nalidixique et 3 souches seulement sont résistantes aux bétalactamines. Tandis qu'aucune résistance n'est signalée pour la tétracycline (NORMANNO et al, 2007). Concernant la vancomycine, elle garde toujours une bonne activité sur nos souches SARM. Cette sensibilité a été rapportée par PESAVENTO et al (2007), NORMANNO et al (2007) en Italie et VAZQUEZ-SANCHEZ (2012) en Espagne, de ce fait, elle constitue la molécule de choix dans le traitement des infections graves causées par ces bactéries. Cet agent antimicrobien reste le dernier recours pour le traitement des infections causées par une large gamme de bactéries Gram positifs tels que les entérocoques, les streptocoques et les staphylocoques (VISCIANO et al, 2014). Néanmoins, la surveillance de la sensibilité des SARM vis-à-vis des Glycopeptides reste obligatoire, du fait que l'émergence des souches résistantes à la vancomycine a été déjà décrite en milieu hospitalier dans plusieurs pays, particulièrement en Algérie par REBIAHI et al (2011). Cependant cette molécule reste toujours active dans les hôpitaux marocains (ELHAMZAOUI et al, 2009 ; ELAZHARI et al, 2009).

Des souches résistantes à la vancomycine (VRSA) ont été isolées au Nigéria à partir du lait cru et du lait fermenté (UMARU et al, 2014).

Une attention particulière doit être portée sur nos souches SARM, du fait que les souches isolées présentent des multi-résistances, ce qui pose problème de prise en charge efficiente dans le but d'éradiquer toute infection. Deux profils de multi-résistance ont été enregistrés. Deux souches présentent le même profil, à savoir :

RESULTATS ET DISCUSSION

P/AMP/OX/FOX/AUG/NA/TE/OFX/NOR. Par contre la troisième souche présente le phénotype : P/AMP/OX/FOX/AUG/NA/TE/OFX/NOR/FOS. La résistance de nos souches vis-à-vis les macrolides est de type MLS sensible. Néanmoins, en Algérie, des souches SARM présentant un phénotype de type MLS_B de type constitutif ont été isolées à partir de la viande fraîche et du lait cru (CHAALAL *et al*, 2013). En Tunisie, dans une étude concernant le portage nasal de *S. aureus* chez les ovins, des SARM isolées expriment un phénotype MLS_B inducible (GHARSA *et al*, 2012). NORMANO *et al* (2007) ont isolé des souches de *S. aureus* à partir d'aliments d'origine animale qui présentent un phénotype sensible vis-à-vis les macrolides.

Dans le but de prévenir une éventuelle transmission d'agent pathogène de l'aliment à l'homme et vise vers ça (PASAVENTOET *al*, 2007), il est alors nécessaire qu'un control précis et actif de toute nouvelle résistance des SARM aux antibiotiques dans la communauté et dans les aliments soit systématique.

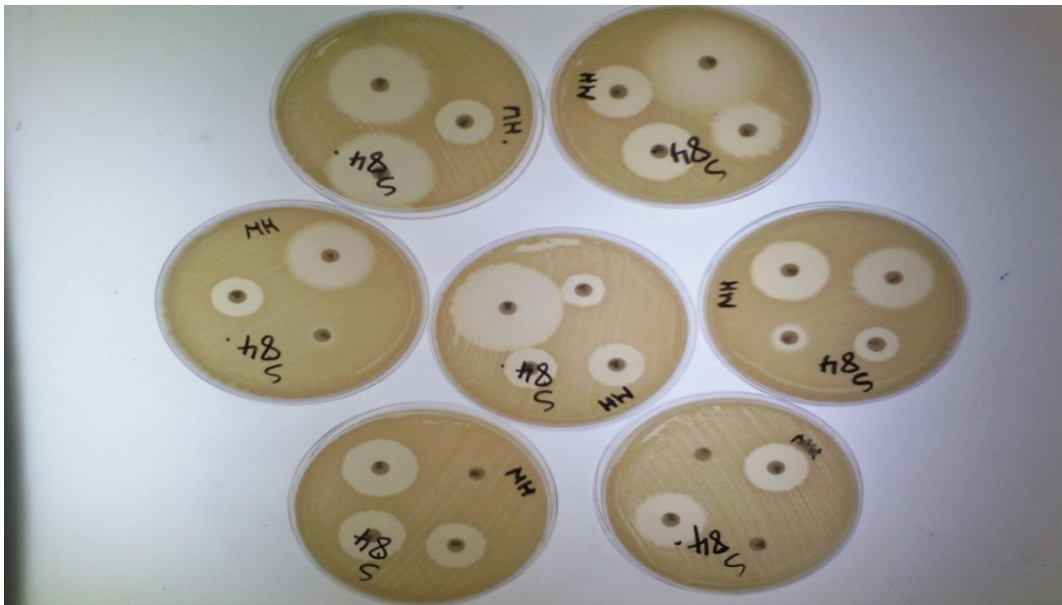


Figure35 : Souche SARM présentant une multi résistance

2.2. Souches SASM (*Staphylococcus aureus* sensible à la métilcilline) :

Sur les 26 souches de *S. aureus* analysées selon la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les normes NCCLS (2007), 23 souches se sont avérées sensibles à l'Oxacilline, soit un taux de 88.46 % (23/26) des souches de *S. aureus* isolées et 27.38 % (23/84) de l'ensemble des échantillons analysés. Ces isolats ont été isolés essentiellement, à partir du lait cru et de petit lait. Le tableau suivant illustre la répartition des SASM selon la denrée alimentaire analysée :

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau XIII : Répartition des SASM en fonction des prélèvements.

Type de prélèvement	Nombre de prélèvement	Nombre de <i>S. aureus</i>	Nombre de SASM
Lait	48	19	18
Petit lait	12	4	2
Lait caillé	9	3	3
Fromage	3	0	0
Beurre	6	0	0
Total	84	26	23

Tableau XIV : Fréquence de résistance des SASM aux antibiotiques.

Familles	Antibiotiques	Abréviation	Nombre de souches	Pourcentage
Béta-lactamines	Pénicilline	P	20	86.95
	Oxacilline	OX	0	0
	Amoxicilline+ acide clavulanique	AUG	6	26.09
	Cefoxitine	FOX	0	0
	Ampicilline	AMP	19	82.60
	Céphalotine	KF	0	0
Aminoglycosides	Gentamycine	GEN	0	0
	Kanamycine	KAN	1	4.35
	Amikacine	AK	0	0
	Tobramycine	TOB	0	0
	Néomycine	N	1	4.35
Macrolides	Erythromycine	E	0	0
	Spiromycine	SP	0	0
	Lincomycine	MY	0	0
Glycopeptides	Vancomycine	VAN	0	0
Quinolones	Ofloxacin	OFX	0	0
	Acide nalidixique	NA	23	100
	Norfloxacin	NOR	0	0
Tétracyclines	Tétracycline	TCY	14	60.87
Sulfamides	Triméthoprime Sulfaméthoxazole	SXT	0	0
Phénicolés	Chloramphénicol	C	0	0
Lincosamides	Clindomycine	CD	0	0
Autres molécules	Fosfomycine	FOS	0	0
	Acide fusidique	FC	2	8.69
	Novobiocine	NO	0	0
	Bacitracine	BA	1	4.35

RESULTATS ET DISCUSSION

D'après les résultats obtenus dans cette étude, les souches SASM présentent des résistances variables selon les familles d'antibiotiques considérées. En effet, les taux de résistances les plus élevés ont été enregistrés vis-à-vis l'acide nalidixique, la pénicilline et l'ampicilline et la tétracycline, avec des fréquences de 100%, 86.95%, 82.60% et 60.87%. Une résistance modérée vis-à-vis l'augmentin a été signalée, avec une valeur de 26.09%. Des faibles résistances vis-à-vis l'acide fusidique, la néomycine et la kanamycine ont été enregistrées.

Des résistances élevées ont été signalées vis-à-vis la pénicilline et l'ampicilline, avec des valeurs de l'ordre de 86.95% et 82.60%. Ces valeurs rejoignent celles annoncées par VISCIANO et *al* (2014), où ils confirment que des hautes résistances ont été attribuées à la pénicilline, l'ampicilline et l'amoxicilline, que ce soit pour les souches isolées du lait mais aussi pour celles isolées au niveau des cavités nasales des éleveurs. JAMALI et *al* (2015) ont rapporté des résistances vis-à-vis de la pénicilline qui sont de l'ordre de 44.4% pour les souches isolées du lait bovin, 51.2% pour les souches isolées du lait ovin et 51% pour les souches isolées du fromage traditionnel. Ces fortes résistances vis-à-vis la pénicilline et l'ampicilline est due probablement à la production de β -lactamases, enzymes inactivant la pénicilline et autres antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines (MORINI et *al*, 2006). WATTS et SALMON (1997) ont testé des souches de *S. aureus* isolées à partir de bovins atteints de mammites, ils ont déterminé que la pénicilline et l'ampicilline étaient les agents antimicrobiens les plus touchés par l'activité des β -lactamases. En plus, les β -lactames est la famille la plus utilisée pour le traitement des mammites bovines. Cette famille comprend une variété large de molécules, incluant : la pénicilline, l'ampicilline, l'Amoxicilline, et autres, qui sont largement utilisées pour le traitement de diverses infections (DE OLIVEIRA et *al*, 2000).

En Algérie, selon une enquête concernant l'utilisation des antibiotiques intra-mammaire dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Freha, Azazga et Yakouren), l'utilisation des seringues d'antibiotiques à usage intra-mammaire est systématique dans les cas d'intervention sur les mammites aiguës. Les produits les plus prescrits sont à base de tétracyclines, pénicillines, ce qui explique la place que tiennent ces molécules dans le traitement des mammites en élevages bovins laitiers (AMEUR et *al*, 2008). L'utilisation irrationnelle de ces préparations mammaires à base de pénicilline et autre β -lactames augmente le risque de l'émergence des résistances vis-à-vis de ces molécules d'antibiotiques (PITKALA et *al*, 2004). La résistance vis-à-vis de la pénicilline G est ainsi utilisée comme marqueur pour évaluer la sensibilité des souches de *S. aureus* contre les autres β -lactames (DAKA et *al*, 2010).

Ces résultats rejoignent de nombreuses études de différents pays, montrant que parmi les souches de *S. aureus* isolées de mammites bovines, la résistance la plus élevée à été observée contre la pénicilline. Cependant la fréquence de résistance à la pénicilline varie entre les pays. Ceci peut être lié à de nombreux facteurs, tels que les différences entre les systèmes de production animale et les politiques nationales pour l'utilisation des médicaments antimicrobiens dans chaque pays (GULER et *al*, 2005).

D'après plusieurs études, la résistance des souches de *S. aureus* vis-à-vis de la pénicilline est variable selon les pays et au sein du même pays, est variable d'une région à une autre et d'une

RESULTATS ET DISCUSSION

matrice alimentaire à une autre. Elle est de 16% au Kenya selon SCHITANDI (2004), 24.67% au Pakistan selon FARZANA et al (2004), 34.8% en Slovénie selon PENGGOV et CERU (2003), 40.3% en Argentine selon GENTILLINI et al (2000), 45.14% en Roumanie selon NICHITA et al (2007), 52.1% en Finlande selon PITKALA et al (2004), 69.1% en Italie selon MORINI (2006), 73.4% en Arabie Saoudite selon AL NAZAOUI (2006), 69.7% à 94.4% en Ethiopie selon DAKA et al (2012) et ABERA et al (2010) et 100% en Nigeria selon UMARU et al (2014). Quant à l'ampicilline des résistances analogues, ont été rapportées par plusieurs auteurs : 98.5% Italie selon MORINI et al (2006), 63.3% en Turquie selon GULER et al (2005) et 46.6% à l'Ouest de l'Uruguay selon GIANECCHINI et al (2001).

En Algérie, des résistances remarquables ont été rapportées vis-à-vis de la pénicilline : 64% (CHAALAL, 2013) et 74% (RABAHALLAH et al, 2010).

L'association Amoxicilline + acide Clavulanique a été active sur nos souches avec 74% de sensibilité, résultat presque similaire à celui trouvé par BODGHI et al (2012), qui ont signalé un taux de sensibilité de l'ordre de 84%. Néanmoins, MORINI et al (2006) ont observé un taux de résistance de 100% pour cet antibiotique.

L'activité des aminosides (Gentamycine et Kanamycine) est remarquable, avec une sensibilité de l'ordre de 100% et 96% respectivement. Nos résultats corroborent avec ceux observés par THAKER et al (2013), avec 90% de sensibilité des souches isolées à partir de lait et des produits laitiers. KAMANZI (2007) a noté que 94.83% des souches isolées à partir du lait de chèvre sont sensibles vis-à-vis de la Gentamycine. Quant à la Kanamycine, PENGGOV et CERU (2003) ont rapporté un taux de sensibilité de l'ordre de 92.1% des souches isolées de glandes mammaires bovines et ovines. Des faibles résistances vis-à-vis la gentamicine ont été rapportées par JAMALI et al (2015), qui sont de l'ordre de 1.9% pour les souches isolées du lait bovin, 1.2% pour les souches isolées du lait ovin et 4.1% pour les souches isolées du fromage traditionnel. Le même constat a été signalé vis-à-vis la kanamycine, où seulement 4% de l'ensemble des *S. aureus* isolés sont résistantes. Aucune résistance vis-à-vis la gentamicine concernant les souches de *S. aureus* isolées du lait cru a été rapportée par VISCIANO et al (2014).

Une faible résistance à l'Erythromycine a été enregistrée dans cette étude, qui est de l'ordre de 3%. Ce résultat est en accord avec celui observé par EL AZHARI et al (2010), qui ont annoncé un taux de résistance de 7.6%. BEN HASSEN et al (2003) et BOUAZIZ (2005) ont signalé un taux de résistance de 100%. Le même constat a été rapporté par MERCIER et PELLET (2003) concernant des souches d'origine bovine en Grèce.

Aucune résistance n'a été notée pour la Vancomycine, toutes les souches étaient sensibles. Cette sensibilité s'explique par le fait que cet antibiotique n'est pas utilisé en médecine vétérinaire dans de nombreux pays, y compris l'Algérie. Notre résultat est similaire à ceux enregistrés par BEN HASSEN (2003), BENOUDA et EL HAMZAOUI, (2009), EL AZHARI et al (2010), SINA et al (2011), DAKA et al (2012). Ces résultats sont encourageants, car la Vancomycine est l'un des antibiotiques de choix contre les infections à SARM (EL AZHARI et al, 2010). En revanche des souches résistantes à la Vancomycine (VRSA) ont été isolées

RESULTATS ET DISCUSSION

au Nigeria à partir du lait cru et du lait fermenté, avec une prévalence de l'ordre de 5.4%. La prévalence de ces souches (VRSA) dans les différents échantillons montre que 15 souches (4%) ont été isolées dans le lait cru, 4 souches ont été isolées dans le lait des crémeries, et uniquement une souche a été isolée dans le lait pasteurisé, ce qui explique que le traitement thermique du lait est le seul moyen pour éliminer les souches VRSA (UMARU *et al*, 2014).

Une sensibilité de 96% a été observée vis-à-vis de l'Ofloxacin, résultats presque similaires avec les études de BEN HASSEN (2003) et GULER *et al* (2011).

Le taux de résistance envers l'acide nalidixique est de 100%, ceci s'explique par la résistance naturelle des *Staphylocoques* envers les quinolones de première génération. Le même taux de résistance a été annoncé par CHAALAL (2013).

Le taux de résistance envers la tétracycline est de 60.87%. Ce taux est plus élevé à ceux annoncés par FARZANA *et al* (2004), NICHITA *et al* (2007) et EL AZHARI *et al* (2009), qui sont de l'ordre de 29.87%, 21.47% et 30% respectivement. Néanmoins, ADWAN (2006) et MORINI *et al* (2006) ont rapporté des taux de résistances presque similaires, qui sont de 45.5% et de 58.5%.

Une étude conduite en Grèce par FTHENAKIS (1998) a révélé un niveau de 44% de résistance à la tétracycline pour des souches de *S. aureus* d'origine ovine.

Au Canada, un taux de 98% a été observé par BEAUDRY-FERLAND (2011) pour des souches d'origine porcine. Ce résultat concorde bien avec la forte utilisation de cet antibiotique en élevage porcin. En Corée, 73% des souches de *S. aureus* isolées à partir de viande étaient résistantes à la tétracycline. D'après l'étude de HEO *et al* (2008), cette résistance est due au fait que cet antibiotique est utilisé comme additif alimentaire dans le ratio alimentaire destiné aux élevages porcins.

Au Brésil, les souches isolées du fromage et du lait cru de vache par ANDRES *et al* (2008) ont montré une résistance de 24.5%. En Malaisie, des résistances remarquables ont été enregistrées vis-à-vis la tétracycline, que ce soit pour les souches de *S. aureus* isolées du lait cru bovin, ovin et pour des souches isolées du fromage traditionnel (JAMALI *et al*, 2015). En revanche, une faible résistance a été observée chez les souches isolées du lait caprin, qui est de l'ordre de 6.3% (ROLA *et al*, 2015).

Selon BEN MAHDI et OUSLIMANI (2009), la tétracycline occupe une place prépondérante dans la thérapeutique en élevage laitiers en Algérie. Elle est largement utilisée dans les préparations intra-mammaires pour le traitement des mammites, ce qui pourrait augmenter la résistance des souches de *S. aureus* vis-à-vis de cette molécule.

Aucune de nos souches n'a été résistante à la combinaison triméthoprim /sulfaméthoxazole. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par KAMANZI (2007), BEN HASSEN *et al* (2003), THAKER *et al* (2013), BODAGHI *et al* (2012), LABRECQUE (2007) et JAMALI *et al* (2015). En revanche, une faible résistance a été détectée chez les souches de *S. aureus* isolées du lait cru en Italie (VISCIANO *et al*, 2014).

RESULTATS ET DISCUSSION

Le même constat a été observé pour le Chloramphénicol. Cette sensibilité est attribuée à leurs non utilisations par les praticiens vétérinaires, qui préfèrent utiliser d'autres molécules.

D'après les résultats de l'étude, 20 souches expriment une multi-résistance vis-à-vis au moins 3 antibiotiques. 8 phénotypes de multi résistance ont été observés. Le profil de résistance le plus fréquent est noté pour l'ampicilline, tétracycline, acide nalidixique et pénicilline (AMP-TE-NA-P), 8 souches présentent ce phénotype, suivi par le phénotype NA-P-AMP (6 souches), alors que les autres phénotypes ont été exprimés chez un nombre de souches moins important.

Tableau XV : Phénotype de résistance des souches de *S. aureus* isolées.

Phénotypes	Nombre de souches SASM (N=20)
AMP-TE-NA-P	8
AMP-NA-P	6
AMP-TE-NA-P-AUG	3
AMP-CF-TE-NA-P	1
AMP-FC-TE-N-K-NA-P-AUG	1
TE-BA-NA	1

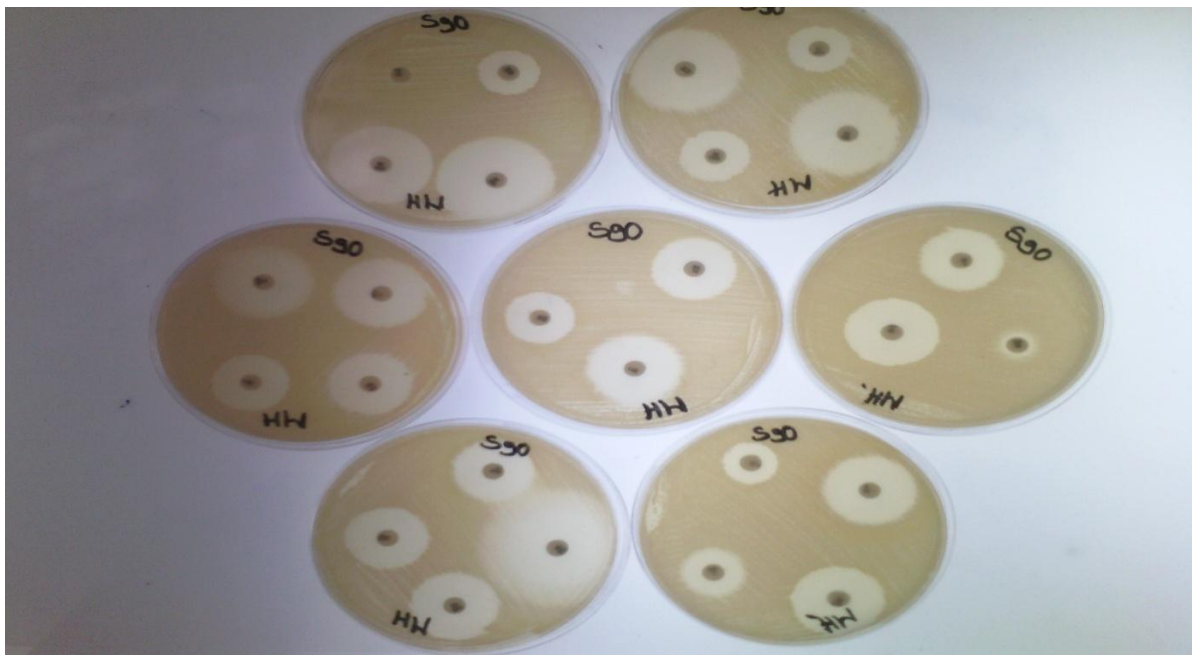


Figure 36 : Souche SASM présentant une multi-résistance

CONCLUSION

S. aureus est bien désigné comme un agent pathogène clinique et épidémiologique. Dans cette étude, il a été démontré que le rôle de *S. aureus* comme un pathogène d'origine alimentaire ne doit pas être négligé. Les résultats indiquent une prévalence de (30.95%) de *S. aureus* dans le lait et les produits laitiers, où les analyses phénotypiques ont mis en évidence 88.46 % de souches sensibles à la méticilline (SASM) et 11.53 % de souches résistantes à la méticilline (SARM).

L'étude de la résistance des isolats aux antibiotiques révèle l'existence de résistance, avec des proportions variables selon les familles d'antibiotiques. En effet, des fortes résistances ont été enregistrées vis-à-vis de l'acide nalidixique, la pénicilline, l'ampicilline et la tétracycline, ce qui explique la place que tiennent ces molécules dans la thérapeutique vétérinaire. Des faibles résistances ont été observées vis-à-vis la Kanamycine, la Néomycine, l'Oxacilline, la Cefoxitine, l'Ofloxacin, la Norfloxacin, la fosfomycine, la Bacitracine et l'acide fusidique. Aucune résistance n'a été enregistrée vis-à-vis l'érythromycine, la gentamicine, la Novobiocine, la clindamycine, le chloramphénicol, la lincomycine, la Spiramycine, l'Amikacine, la Tobramycine et la vancomycine. Des multi-résistances ont été observées. En effet, 23 souches résistent au moins vis-à-vis de 3 antibiotiques et 8 phénotypes de multi-résistances ont été observés.

La résistance des isolats aux antibiotiques pourrait être transmise à l'homme par la consommation de produits alimentaires contenant des bactéries multi-résistantes et que l'utilisation des antibiotiques comme promoteurs de croissance dans l'élevage, en particulier ceux qui sont couramment utilisés pour les soins à la fois humaine et animale, doivent être évités. Alors il est nécessaire d'établir un contrôle actif contre les résistances aux antibiotiques dans les aliments afin de détecter toute augmentation et/ou émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques qui peuvent être transférées à d'autres bactéries.

Les résultats de ce travail mettent en lumière par une approche originale, premièrement le risque élevé pour les consommateurs en absence des mesures d'hygiène strictes et préventives visant à éviter la présence d'isolats de *S. aureus* dans le lait et les produits laitiers traditionnels, soulignant la nécessité d'une application de bonnes pratiques hygiène et de fabrication au cours de la transformation des aliments et aussi lors de la distribution et la consommation des produits alimentaires finis.

Notre étude devrait faciliter l'identification des antibiotiques risquant de favoriser l'émergence des souches plus résistantes et plus virulentes dans les aliments. Elle devrait contribuer à une prise de conscience sur un emploi raisonnable et bien ciblé des antibiotiques en général.

Aujourd'hui plus que jamais, la maîtrise de la dissémination des SARM doit passer par l'éducation du personnel en matière d'hygiène, le respect des procédures de lavage des mains, ainsi qu'une politique cohérente d'hygiène. Une maîtrise de la diffusion des souches multi-résistantes et de la pression générée par des prescriptions d'antibiotiques non justifiées semble urgente. Ainsi, le contrôle régulier et la révision de toutes les prescriptions d'antibiotiques, sont utiles et constituent une véritable politique qui va contribuer à l'amélioration de la qualité de la prise en charge des infections chez l'homme et l'animal.

CONCLUSION

L'actualisation des données locales, sur le profil épidémiologique de ce germe et leur sensibilité jouent un rôle important dans la rationalisation des antibiotiques et dans la détermination d'une stratégie de contrôle du développement de *S. aureus* multi résistantes.

Ainsi, notre travail ouvre de nombreuses perspectives :

- Etudier une population plus importante, en termes de produits alimentaires, pendant une période plus longue ;
- Rechercher les gènes de résistances (PCR) ;
- Rechercher les souches productrices d'enterotoxines.
- Etudier la capacité des souches de *S. aureus* à former des biofilms.

Annexes.

Annexe I : Composition des milieux de culture utilisés.

Giolitti-Cantoni

Tryptone.....	10g
Extrait de viande.....	5g
Extrait de levure.....	5g
Chlorure de lithium.....	5g
Glycine.....	1.2g
Mannitol.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Pyruvate de sodium.....	3g

pH : 6.9

Préparation : Dissoudre les ingrédients et porter à ébullition en agitant. Répartir le milieu par quantités de 10 ml dans des tubes de capacité appropriée, stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 20 minutes.

Gélose Chapman

Tryptone.....	5g
Peptone pesique de viande.....	5g
Extrait de viande.....	1g
Mannitol.....	10g
Chlorure de sodium.....	75g
Rouge de phénol.....	25mg
Agar Agar.....	15mg

pH : 7.4

Préparation : 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20min.

Annexes.

Bouillon cœur-cervelle

Proteose peptone.....	10g
Infusion de cervelle veau.....	12.5g
Infusion de cœur bœuf.....	5g
Glucose.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Hydrogénophosphate de sodium.....	2.5g

pH : 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, pendant 20min.

Clarck et lubs

Peptone.....	5g
Glucose.....	5g
Hydrogentophosphate de potassium.....	5g
Eau distillée.....	100g

pH : 7.5

Préparation : 15g par litre. Stérilisation classique ou par filtration.

Mueller Hinton

Extrait de viande.....	300ml
Hydrolysate acide de caséine.....	17.5g
Amidon.....	1.5g
Chlorure de sodium.....	40g
Agar agar.....	16g

PH : 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C pendant 15 min.

Annexes.

Gélose nutritive

Peptone.....	10.0g
Extrait de viande	4.0g
Chlorure de sodium.....	5.0g
Agar Agar.....	13.g

pH : 7.2

Préparation : 29 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, pendant 20 min.

Gélose à ADN

Peptone de caséine.....	15g
Peptone.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Acide désoxyribonucléique.....	2g
Acide bactériologique.....	15g

Préparation : dissoudre 42g/l. stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 min.

Gélose pour la conservation

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar agar.....	10g

pH : 7.3

Préparation : prêt à l'emploi en petits tubes fins.

Annexes II : Composition des réactifs utilisés

Solution de tellurite de potassium

Tellurite de potassium.....	2g
Eau distillée.....	100ml

Annexes.

Violet de gentiane

Phénol.....	2g
Violet de gentiane.....	1g
Ethanol à 90°.....	10ml
Eau distillée.....	100ml

Lugol

Iodure de potassium.....	2g
Iode métalloïde.....	1g
Eau distillée.....	300ml

Alcool (éthanol)

Fuschine de Ziehl

Fuchsine basique.....	1g
Phénol.....	5g
Ethanol à 90°.....	10ml
Eau distillée.....	100ml

Annexes.

Annexe III :

Tableau I : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* (selon NCCLS, 2007).

Antibiotiques testés	Charge du disque	Diamètres critiques		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
Bétalactamines				
Pénicilline G (P)	10UI	≤ 28	-	≥ 29
Oxacilline (OX)	1µg	≤ 10	11-12	≥ 13
Cefoxitine (FOX)	30µg	≤ 21	-	≥ 22
Ampicilline (AMP)	10 µg	≤ 28	-	≥ 29
Amoxicilline +acide Clavulanique (AUG)	20/10 µg	≤ 19	-	≥ 20
Cephalotine (KF)	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Glycopeptides				
Vancomycine (VA)	30µg	-	-	≥ 15
Aminoglycosides				
Gentamicine (CN)	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Amikacine (AK)	30µg	≤ 14	15-16	≥ 17
Kanamycine (K)	30µg	≤ 13	14-17	≥ 18
Tobramycine (TOB)	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Neomycine (N)	30µg	≤ 13	14-17	≥ 18
Macrolides				
Erythromycine (E)	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23
Spiromycine (SP)	100 µg	≤ 12	12-23	≥ 24
Lincomycine (MY)	15 µg	≤ 14	15-20	≥ 21
Tetracyclines				
Tetracycline (TE)	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19
Fluoroquinolones				
Ofloxacine (OFX)	5 µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Norfloxacine (NOR)	10 µg	≤ 12	13-16	≥ 17
Acide nalidixique (NA)	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Lincosamides				
Clindamycine (CD)	2 µg	≤ 14	15-20	≥ 21

Annexes.

Tableau I : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* (selon NCCLS, 2007) (suite).

Antibiotiques testés	Charge du disque	Diamètres critiques		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
Phénicolés Chloramphénicol (C)	30µg	≤ 12	13-17	≥ 18
Sulfamides Triméthoprim /Sulfaméthoxazole (SXT)	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16
Autres molécules Fosfomycine (FOS)	50 µg	≤ 14	-	≥ 14
Acide fusidique (FC)	10 µg	≤ 15	15-21	≥ 22
Novobiocine (NO)	30 µg	≤ 17	-	≥ 18
Bacitracine (BA)	10UI	≤ 15	-	≥ 22

Tableau II : Répartition des souches selon le type de produit et le point de prélèvement.

N° de la souche	Type de produit	Point de prélèvement	Année d'isolement
73, 74,	Lait	Unité de transformation	2015
53, 57, 65, 66, 68, 69, 72,	Lait	Collecteurs	2015
54, 61, 70, 71,	Lait	Eleveurs	2015
55, 58, 64, 67, 77, 78	Lait	Crémèries	2015
56, 59, 75, 76,	Petit lait		2015
60, 62, 63,	Lait caillé		2015

Annexes

Tableau III : Résultats de l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans le lait cru et ses dérivées.

Code	N°	Zones d'inhibition															
		β-Lactamines						Glycopeptides	Aminosides					Tétracycline	Macrolides		
		P	OX	FOX	AMP	AUG	KF		VA	CN	AK	K	TOB		N	TE	E
S73	53	22	21	31	21	28	33	19	22	21	27	25	22	9	31	26	39
S74	54	18	13	31	20	26	31	19	22	23	25	25	20	6	27	23	36
S75	55	18	19	31	19	25	30	20	20	23	25	24	21	8	30	30	34
S76	56	44	25	30	44	42	41	18	23	19	23	23	22	34	29	26	36
S77	57	21	21	31	20	27	31	18	23	21	23	25	20	31	30	28	33
S78	58	14	17	29	15	20	27	19	22	22	24	24	20	6	26	24	30
S79	59	11	21	31	18	22	28	18	25	21	24	21	21	28	28	29	30
S80	60	43	23	29	39	37	36	17	23	20	23	25	22	28	31	23	31
S81	61	18	18	30	18	23	30	19	25	20	24	25	21	6	28	24	31
S82	62	21	13	28	13	23	24	18	22	19	20	23	23	25	26	21	30
S83	63	25	22	30	39	37	33	18	24	20	24	26	21	27	28	22	33
S84	64	14	14	18	15	19	23	18	23	20	23	25	20	6	28	21	31
S85	65	17	18	31	15	21	29	18	23	20	25	24	21	6	26	22	30
S86	66	18	20	30	19	23	30	17	21	19	22	23	19	28	27	24	30
S87	67	15	17	32	16	20	28	18	23	20	24	26	23	28	28	25	33
S88	68	15	17	28	16	19	28	17	21	20	21	23	20	6	25	23	31
S89	69	13	17	29	8	16	25	18	22	19	22	24	15	6	25	24	28
S90	70	15	17	30	17	20	26	17	22	19	23	25	21	6	25	23	32
S91	71	11	17	29	13	18	25	17	23	19	22	24	21	6	25	29	30
S92	72	18	20	30	19	21	30	18	23	20	24	25	22	6	29	24	31
S93	73	15	19	28	17	19	28	16	20	17	20	22	20	24	25	22	28
S94	74	12	12	30	15	18	25	18	22	18	6	24	11	9	21	23	31
S95	75	14	10	16	13	15	24	17	22	19	21	24	20	6	24	21.	32.
S96	76	13	10	17	14	15	23	17	22	18	21	24	22	6	24	22	30
S97	77	15	17	31	17	18	28	17	23	20	24	24	22	6	25	23	32

Annexes

S98	78	40	23	31	35	35	37	19	29	25	25	30	26	6	30	27	32
Code	N°	Zones d'inhibition															
		Fluoroquinolones			Lincosamides		Phénicolés	Sulfamides	Autres molécules								
		OFX	NOR	NA	CD	C	SXT	FOS	FC	NO	BA						
S73	53	31	32	6	24	31	20	49	31	34	30						
S74	54	28	30	10	25	30	22	47	31	34	27						
S75	55	29	31	11	25	27	30	43	31	30	23						
S76	56	29	34	12	23	29	28	45	31	35	20						
S77	57	31	31	10	25	28	20	44	31	34	29						
S78	58	28	28	11	22	27	24	43	30	34	27						
S79	59	27	33	11	23	28	29	37	31	30	26						
S80	60	27	28	12	21	28	26	40	31	32	25						
S81	61	29	30	11	24	29	25	45	33	35	25						
S82	62	25	26	10	22	27	23	40	29	34	18						
S83	63	27	23	10	22	27	23	40	30	35	25						
S84	64	6	6	6	24	29	26	40	30	37	20						
S85	65	27	30	6	22	28	21	40	31	35	25						
S86	66	28	28	10	23	26	20	40	30	34	26						
S87	67	30	30	10	25	28	27	40	35	35	20						
S88	68	26	28	11	21	27	25	40	31	32	25						
S89	69	24	27	12	21	24	27	40	13	34	23						
S90	70	26	28	9	23	26	25	44	31	33	23						
S91	71	27	30	9	21	21	25	40	30	35	23						
S92	72	26	29	11	22	27	22	40	30	35	26						
S93	73	24	25	12	20	25	20	40	28	32	17						
S94	74	25	21	9	23	26	22	40	11	34	16						
S95	75	6	6	6	20	23	22	40	32	35	16						
S96	76	6	6	6	21	25	27	6	35	34	17						
S97	77	24	24	10	22	26	27	35	34	32	23						
S98	78	27	29	10	27	29	16	40	24	30	14						

Annexes

Tableau IV : Résultats de l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans le lait cru et ses dérivées.

Code	N°	Zone d'inhibition															
		β-Lactamines						Glycopeptides	Aminosides					Tétracycline	Macrolides		
		P	OX	FOX	AMP	AUG	KF	VA	CN	AK	K	TOB	N	TE	E	SP	MY
S73	53	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S74	54	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	I	S
S75	55	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S76	56	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S77	57	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S78	58	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S79	59	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S80	60	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S81	61	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S82	62	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
S83	63	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
S84	64	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S85	65	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S86	66	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S87	67	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S88	68	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S89	69	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S
S90	70	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S91	71	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S92	72	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S93	73	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S94	74	R	I	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S
S95	75	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S96	76	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S97	77	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S98	78	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S

Annexes

Code	N°	Zones d'inhibition									
		Fluoroquinolones			Lincosamides	Phénicolés	Sulfamides	Autres molécules			
		OFX	NOR	NA	CD	C	SXT	FOS	FC	NO	BA
S73	53	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S74	54	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S75	55	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S76	56	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S77	57	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S78	58	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S79	59	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S80	60	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S81	61	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S82	62	S	S	R	S	S	S	S	S	S	I
S83	63	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S84	64	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S85	65	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S86	66	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S87	67	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S88	68	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S89	69	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
S90	70	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S91	71	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S92	72	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S93	73	S	S	R	S	S	S	S	S	S	I
S94	74	S	S	R	S	S	S	S	R	S	I
S95	75	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I
S96	76	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I
S97	77	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S98	78	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R

Annexes

1. **ABERA M., DEMIE B., ARAGAW K., REGASSA F., REGASSA A. (2010).** Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health Vol 2(3), pp 29-34.
2. **ADRIAN J., POUTUS J., FRANGNE R. (2003).** La science alimentaire de A à Z. 3^{ème} édition, Tec & DOC. Lavoisier, Paris. pp 294.
3. **AGGAD H., MAHOUZ F., AHMED AMMER Y., KIHAL M. (2009).** Evaluation de qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. Revue Méd Vét. Vol 160, 590-595.
4. **AOUTI H. (2009).** Isolements des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leurs sensibilités aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire de magister. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Départements de biochimie et de microbiologie. Université Mentouri Constantine.
5. **ALIAS C., LINDEN G., MICLO L. (2008).** Biochimie alimentaire. 6^{em} édition de l'abrégé. DUNOD, Paris. pp 181.
6. **ALOMAR J. (2007).** Etude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de lorraine.
7. **AL NAZAWI M.H. (2006).** Resistance and Residues of Antimicrobial in Dairy Farm and Dairy Production in Al Hassa Region, Saudi Arabia. Journal of Medicine Science, 6 (2):198-202.
8. **AMEUR A., RAHAL K., GUEUDIOURA A., KAIDI. (2008).** Utilisation des antibiotiques intra-mammaires dans la région de Tizi Ouzou. Premiers résultats. Communication au 6^{èmes} journées des sciences vétérinaires, ENV. 19-20 avril 2008.
9. **AMEURE A. (2010).** Source de contamination microbienne du lait cru des cuves de réfrigération. Mémoire de Magister, département des sciences vétérinaire, université de Blida.
10. **ANDRE M C., CAMPOS MR., BORGES LJ., KIPNIS A., PIMENTA FC. (2008).** Comparaison of *staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsedfield gel electrophoresis following small digestion. Food control 19, 200-207.
11. **ANONYME I. (2003).** Bactériologies-service de bactériologie. Faculté de médecine Pierre et Marie Curie. Université paris-VI.
12. **ANONYME II. (2011).** Observation Nationl de L'Epidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA). Rapport d'activité 2009- Annual Report 2009-10. Vivactis Plus Ed. 2011. ISBN 978-2-916641-53-9.
13. **AOUTI H. (2009).** Isolement des souches *Staphylococcus aureus* résistantes a la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotique. Mémoire de magistère. Département de biochimie et de Microbiologie. Université de Mentouri, Constantine.
14. **ARAS Z., AYDIN I., KAV K. (2012).** Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from caprine mastitis cases. Small Ruminant Research 102, 68-73
15. **ARNAL G. (2003).** Source et caractère entérotoxigènes des *Staphylocoques* en élevage ovin laitier. Thèse de doctorat, université Paul-Sabatier de Toulouse.

- 16. AUBIN G. (2013).** Analyse génotypique et phénotypique des souches de *Staphylococcus aureus* responsable d'infection osteo-articulaire sur matériel. Thèse de doctorat. Faculté de pharmacie. Université de Nantes.
- 17. AVRIL JL., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H. (2003).** Bactériologie clinique. 3^{em} édition, Ellipse. Paris. pp 8-28.
- 18. BARROT DEBRIL J., (2008).** Les analyse bactériologiques du lait des infections mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courante et leurs intérêts dans les traitements des mammaires. Thèse de doctorat. Ecole national vétérinaire d'Alfort.
- 19. BEAUDRY-FERLAND M. (2011).** Etude sur les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez le porc à l'abattoir au Québec, Canada. Mémoire de Maitrise de science. Département de pathologie et microbiologie. Université de Montréal.
- 20. BENHAMED N., MOULAY H., AGGAD H., HENNI J.E., KIHAL M. (2011).** Prevalence of Mastitis infection and identification of Causing Bacteria in Cattle in the Oran region west Algeria. Journal of Animal and veterinary Advances 10 (22), 3002-3005.
- 21. BEN HASSEN S., MESSADI I., BEN HASSAN A. (2003).** Identification et caractérisation des espèces de *Staphylocoque* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammites. Ann. Méd. Vét, 147. pp 41-47.
- 22. BEN MAHDI MH. et OUSLIMANI S. (2009).** Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. European Journal of Scientific Research, vol.36N°3.pp, 357-362.
- 23. BENOUDA A., EL HAZAUI S. (2009).** *Staphylococcus aureus* : épidémiologie et prévalence des souches résistantes à la méthicilline (SARM) au Maroc. Rev Tun Infectiol, VOL 3 N°1, 15-20.
- 24. BELHARRAR B., KHORSI B. (2014).** Prévalence et antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans le lait cru et l'ben (Résultats préliminaires). Mémoire de fin d'étude d'ingénieur. Faculté des sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Département de Biochimie et Microbiologie. Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- 25. BERCHE P., GAILLARD JL., SIMONET M. (1988).** Bactériologie : les bactéries des infections. Flammarion médecine- science.
- 26. BHAKDI S., TRANUM J. (1991).** Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. Microbiol Rev 55 :733-51.
- 27. BISMUTH R., LECLERCQ R. (2000).** *Staphylococcus aureus* et antibiotiques. Précis de bactériologie clinique. ESKA, Paris.
- 28. BODAGHI H., MOSFARI S., JALILI T., OSTADI Z., KHAKPOUR M., (2005).** Sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitic to erythromycin in Tanriz dairy herd in 2012, pp.67-73.
- 29. BOUAZIZ O. (2013).** (2005). Contribution à l'étude des infections intra mammaires de la vache laitières dans l'Est Algérien. Thèse de doctorat. Département des sciences vétérinaires. Université de Constantine.
- 30. BOUCHARD D. (2013).** Potentiel probiotique des bactéries lactiques de l'écosystème mammaire bovin contre les mammites à *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat. INRA-AGROCAMPUS OUST, université de Renne 1.

- 31. BOURGEOIS CM., MESCLE JF., ZUCCA J. (1996).** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1, Tec & Doc. Lavoisier. Paris.
- 32. BOUSSEBOUA H. (2002).** Eléments de microbiologie générale. Ed Université Mentouri-Constantine.
- 33. BRONNER S., MONTEIL H., PREVOST G., (2004).** Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus* complexity and application. FEMS. Microbiol Rev. 28:183-200.
- 34. BOUADJAIB SARAH. (2013).** Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du sud algérien « jben » recherche du pouvoir antimicrobiens des bactéries lactiques. Mémoire de magister. Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers. Départements de biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen Algérie.
- 35. BUCKINGHAM SC., MCDUGAL LK., CATHEY LD. (2004).** Emergence of community associated méthicilline-resistant *Staphylococcus aureus* at Memphis, Tennessee Children's Hospital. *Pediatr Infec Dis J*; 23: 619-624.
- 36. BUTEL MJ., OUZROUT R., BOUFAIDA ASNOUNE Z., (2012).** Prévalence des principales bactéries responsable de mammites subcliniques des vaches laitières au nord de l'Algérie ». *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. Ed pathologie infectieuse. 65(1-2) : 5-9.
- 37. CAMBAU E., GAILLARD T., (2012).** Antibactériens agissant sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques ». *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 2012,31(1), 65-76.
- 38. CARLE S. (2012).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel* Vol. 42 Supplément 2 Décembre 2009. Le parrainage des antimicrobiens : vision 2010.
- 39. TROTOT-VOILLIOT. (2012).** aspect clinique des infections cutanées a *Staphylococcus aureus* sécréteurs de Leucocidines de Panton Valentine à propos de 15 cas. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de Nancy. Université de lorraine.
- 40. CHAALAL W. (2013).** Occurrence et profil d'antibiorésistante des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de magistère. faculté des sciences. Université d'Oran.
- 41. CHALLAL W., AGGAD H., SAIDI N and KIHAL M. (2014).** Prevalence and antimicrobial resistance of méthicilline-resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw Meat and Bovine Milk in Algeria. *Advance in Environmental biology*, 8(1), pp1-5.
- 42. CHAHED A. (1984).** Etude de l'intervention de staphylocoque dans un accident de fabrication de fromages de chèvre. Thèse doctorat. Université de Tizi-Ouzou.
- 43. CHENG D., ZHU SY., YIN Z., SU Z., SUN H. (2010).** Prevalence of bacterial infection responsible for bovine mastitic. *African Journal of Microbiology Research* Vol 4(11) pp1110-1116.
- 44. CAYOT P., LORIENT D. (1998).** Structure et technologies des protéines du lait. Tec & Doc. Lavoisier, Paris.
- 45. CHENOUF N. (2014).** Qualité hygiénique et sanitaire du lait cru le long de la filière du lait dans la wilaya de Djelfa. Mémoire de Magister en biologie. Université Ziane Achour, Djelfa.

- 46. COLLEN D., LIJNEN HR., VANDERSCHUEREN S., (1995).** Staphylokinase: fibrinolytic properties current experience in patients with occlusive arterial thrombosis. *Verh K Acad Geneseend Belg*, 57 (3): 183-89.
- 47. COLLOMB A. (2011).** Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* de deux lignées de souris. Thèse de doctorat. Université Paul-Batier de Toulouse. France.
- 48. CONTE S. (2008).** Evolution des caractéristiques organoleptiques, physicochimiques et microbiologiques du lait caillé traditionnel. Mémoire de DEA. Faculté des sciences et technique. Université de Dakar.
- 49. COSITO C., DI GAMBATTISTA M. (1990).** Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéiques. *Médecine/science*, N°1 Vol 6/ 46-54.
- 50. COURTET LEYMARIOS F. (2010).** Qualité nutritionnelle du lait de vache et d'acides gras, voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse doctorat. Faculté de médecine de Créteil, Ecole national vétérinaire d'Alfort.
- 51. DAKA D., SILASSIE SG., and YIHDEGO D. (2012).** Antibiotic resistance *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk in Hawassa area. *Academic journals. AJMR*, Vol 6 (27), pp 5618-5624.
- 52. DAUREL C., LECLERCQ R. (2008).** L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires* N°407, Elsevier Masson SAS.
- 53. DOBENJAMIN DAVIDO. (2010).** Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanée communautaires à staphylocoque dorés. Thèse de doctorat. Faculté de médecine Paris 7. Université DENIS DIDEROT (Paris VII).
- 54. DE BUYSER M-L., BRISABOIS A., ESPIE E., DELMAS G., DUFOUR B. (2003).** Implication du lait et des produits laitiers dans les maladies infectieuses d'origine alimentaire en France de 1988 à 2003. *Bulletin épidémiologique* n°16.
- 55. DELARRAS C., (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc. Lavoisier, Paris.
- 56. DE OLVEIRA A P., WATTS J I., SALMON S A., AARESTRUP F M. (2000).** Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from Bovine Mastitis in Europe and the United states. *Journal of Dairy Science* 83:855-862.
- 57. DIOP M.B., DUBOIS-DAUPHIN R., TINE E., NGOM A., DESTAIN J., THONART P. (2007).** Bacteriocin producers from traditional food products. *Biotechnol. Agron. Sec. Environ*, 11 (4), 275-281.
- 58. EL AZHARI M., ZEROUALI K., EL HABACHI D., COHEN., EL MALKI A., DERSI N., HASSAR M., SAILE R. (2010).** Sensibilité aux antibiotiques des souches *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca (MAROC). *Revue tunisienne de l'infectiologie*, Vol 4, N°4 : 134-140.
- 59. EL KOURI D , POTTIER M.A, TREWICK D, LE GALLOCE F, BARON D, POTEI G, (1998).** Infections à Staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl.Med.Chir.Elsevier*, Paris.
- 60. EVEILLARD M. (2007).** Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline à l'admission. Thèse de doctorat. Ecole doctorale d'Angers.

- 61. FARZANA K., SHAH SNH., JABEEN F. (2004).** Antibiotic resistance pattern against various isolated of *Staphylococcus aureus* from raw milk samples. Journal of research Science, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan, Vol 15, N°2.
- 62. FEDERIGHI M. (2005).** Bactériologies alimentaire, compendium d'hygiène des aliments. 2^{em} édition, ECONOMICA, Paris. pp 25-50.
- 63. FERRON A. (1984).** Bactériologie à l'usage des étudiants en médecine. 12^{èmes} édition, Crouan et Roques, Paris.
- 64. FIGARELLA J, LEYRAL G, TERRET M. (2001).** Microbiologie générale et appliquée. Amazon. France.
- 65. FIGARELLA J, CALAS A. (2004).** Cours de microbiologie générale. 2^{em} édition, Doin, Paris.
- 66. FIQUET A. (2009).** Le Staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) : un état des lieux. Cours international francophone de vaccinologie ; Université Victor Segalon Bordeaux 2.
- 67. FOSTER T.J. (2005).** Immune evasion by Staphylococci. Nat. Rev. Microbiol. 3, 948-958.
- 68. FOSTER T.J., HOOK M. (1998).** Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. Trends Microbiol. 6 (12) : 484-488.
- 69. FOURNIER V. (2003).** La résistance bactérienne aux antibiotiques. PISTER, Université Laval. Québec.
- 70. FRANCIE JS, DOHERTY MC, LOPATIN U. (2005).** Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicilline-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the Panton-Valentine leukocidin gene. Clin infect Dis 40: 100-107.
- 71. FREDOT E. (2005).** Connaissance des aliments, bases alimentaire et nutritionnelles de la diététique. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, New York, London. pp 13-20.
- 72. FTHENAKIS GC., (1998).** Susceptibility to antibiotics of Staphylococcal isolates from cases of ovine or bovine mastitis in Greece. Small Rumin. Res, 28: 9-13.
- 73. GABLI A. (2005).** Etude cinétique des cellules somatiques dans le lait des vaches atteintes des mammites et de vache saines. Thèse de doctorat. Université de Mentouri-Constantine.
- 74. GARRITY GM., LILBURN TG., COLE JR., HARRISON SH., EUZEBY J., TINDALL BJ. (2007).** Taxonomic outline of the bacteria and archea. Michigan State University Board of trustees.
- 75. GENTILINI E., DENAMIEL G., LIORENTE P., GODLAY S., REBUELTO M., DEGREGORIO O. (2000).** Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. J Dairy Sci 83: 1224-1227.
- 76. GHAZI K et NIARA A. (2011).** Qualité hygiénique du lait cru de vaches dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret. TROPICULTURA, 29, 4, 193-196.
- 77. GUIRAID J.P. (1998).** La microbiologie alimentaire. DUNOD. Paris.
- 78. GUIRAID J.P. (2003).** La microbiologie alimentaire. DUNOD. Paris.
- 79. GUIRAID J.P, ROSEC J.P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. P 161-177.
- 80. GULER L., OK U., GULCU Y., HADIMLI HH. (2005).** Antimicrobial susceptibility and coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine

clinical mastitis cases in Turkey. American dairy science association. J.Dairy Sci. 88:3149-3154.

81. GUSTAFSON JE., MUTHAIYAN A., DUPRE JM., RICKE S. (2015). *Staphylococcus aureus* and understanding the factors that impact enterotoxin production in foods: a review. Food Control, 1-14

82. HADRYA F., EL OUARDI A., HAMI H., SOULAYMANI A., SENOUCI S. (2012). Evaluation de la qualité microbiologique des produits laitiers commercialisés dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer au Maroc. Cahier de nutrition et de Diététique, 47, 303-307.

83. HAKEM (ex. AKAM), B. YABRIR., D. KHELEF., A LAOUN., F MOUFFOK., N. EL-GALLAS., Y. TITOUCHE and R. BEN AISSA (2012). Evaluation of Microbial Quality of Raw Milk into two Dairies Mitidja's Farms (Algeria). Bull. USAMV-CN-VM, 69 (1-2).

84. HAMA H. (2006). Recherché des bactéries associées aux mammites subcliniques dans le lait de chèvre en Mauritanie et au Togo et détermination de leur antibiorésistante. Thèse de doctorat. Faculté des sciences et technique. Université de Dakar.

85. HAVERI S., ROSLOF A., RANTALA L., PYORALA S. (2007). Virulence genes of bovines *Staphylococcus aureus* and nonpersistent intramammary infection with different clinical characteristics. Jof Applied Microbiol. 103.933-1000.

86. HENNEKINE J.A. (2009). Nouvelle approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires à Staphylocoque à coagulase positif. Thèse de doctorat. Agro Paris Tech.

87. HEO HJ., KU BK., BAE DH., PARK CK., LEE YJ. (2008). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from domestic and imported raw meat in Korean J Vet Res 48(1): 75-81.

88. HEUCHEL V. (2002). Contamination du lait de vache par les bactéries pathogènes : principaux facteur de risque à la production – dangers lies à la traite. Institut de l'élevage. Paris.

89. HEZIL N., BAAZIZE-AMI D., KEBBAL S., SAADAOUI R., BRAHIM ERRAHMANI M and GUETARNI D. (2013). Principal germs causing clinical mastitis in dairy cattle farms in Governorate of Blida (Algeria). J Anim Sci Adv, 3(1), 19-26.

90. HIRSH DC., BIBERSTEIN EL. (2004). *Staphylococcus* in veterinary microbiology. 2^{ème} édition Oxford, Blackwell publishing; 153-158.

91. JAMALI H., PAYDAR M., RADMEHR B., ISMAIL S., DADRASNIA A. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. Food Control 54, 383-388.

92. JARDAT ZW., TARAZI YH., ABABNEH QC. (2013). Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and their antibiotic resistance profiles. Pak Vet J, 0253-8318.

93. JEANTET R, CROGUENNEC T, BRULE G. (2008). Fondements physicochimique de la technologie laitière. Tec& Doc. Lavoisier, Paris.

94. JEANTET R, CROGUENNEC T, MAHAUT M., SCHUCK P., BRULE G. (2008). Les produits laitiers. 2^{ème} édition. Tec& Doc. Lavoisier, Paris. pp1-9.

95. JOFFIN JN, LEYRAL G. (2001). Microbiologie technique : dictionnaire des techniques. 3^{ème} édition. CRDP d'Aquitaine, Bordeaux. pp 320.

96. JOFFIN C, JOFFIN J.N. (2010). Microbiologie alimentaire. 6^{ème} édition, centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine.

97. JOLY-GUILLOU M.L. (2004). Le point sur les Staphylocoques dorés de moindre sensibilité aux glycopeptides en réanimation. Société de réanimation de langue française. Elsevier, Réanimation, 13 ; 185-189.

98. JEAN-NOEL JOFFIN., GUY LEYRAL. (2009). Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques. 4^{ème} édition, ISBN : 978-7-2-86617-515-8.

99. KAMAL R.M., BAYOUMI M and ABD EL AAL S.F.A. (2013). MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. Food control 33, 49-53.

100.KAMANZI EU. (2007). Recherche de bactéries associées aux mammites subcliniques dans le lait de chèvre dans la région de Ségou (MALI) et détermination de leur antibiosensibilité. Thèse de doctorat. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar. Université CHEIKH ANTA DIOP de DAKAR.

101.KAMMER M., GANIERE J P. (1998). Qualité de l'eau d'abreuvement des ruminants. Le point vétérinaire, 75-82.

102.KEBCHAOUI J. (2012). Cours : Connaissance du lait. ENIL Mamirolle, Franche-Comté, France.

103. KIVARIA FM., NOORDHUIZEN JPTM and KAPAGA. (2006). Evaluation of the hygienic quality and associated public health hazards of raw milk maereted by smallholder dairy producers in the Dar es Salaam region, Tanzania. Trop Anim Health Prod, 38, 185-194.

104. KLUYTMANS JAJ. (2009). Methcillin resistant *Staphylococcus aureus* in food products : cause for concern or case for complacency. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

105. LABRECQUE O. (2007). Sensibilité d'isolats de *Staphylococcus aureus* d'origine bovine aux antimicrobiens et présence de gènes de résistance. Mémoire de Maitrise és science, département de pathologie et microbiologie. Université de Montréal.

106. LARPENT JP., (2000). Introduction a la nouvelle classification bactérienne et les principaux groupes bactériens. Tec & Doc. Lavoisier. Paris, New Yorc, London.

107. LARREY D. (2003). Hépatite bactérienne. Masson, Paris.

108. LAVIGNE JP. (2007). Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. Bactériologie, faculté de médecine Montpellier, Nîmes.

109. LECLERE H, GAILLARD J.L, SIMONET M. (1995). Microbiologie général: la bactérie et le mode bactérien. Doin, Paris.

110. LECLERCQ R, COURVALIN P. (2012). Antibiogramme. 3^{em} édition, ESKA. Paris.

111. LE LOIR Y., BARON F., GAUTIR M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. FUNPEC-RP, Genet.Mol.Res. (2) 1: 63-67.

112. LE LOIR Y, GAUTIER M. (2010). *Staphylococcus aureus*. Tec & Doc, EMinter, Lavoisier. France.

- 113. LE MINOR L, VERON M. (1990).** Bactériologie médical : *Staphylococcus* et *Micrococcus*. 2^{em} édition. Flammarion médecine-science. Paris.
- 114. LIONEL N. (2009).** Etude des prescriptions d'antibiotiques. Thèse de doctorat. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie. Université de Bamako, Mali.
- 115. LOWY FD., (1998).** *Staphylococcus aureus* infection. N Engl J.Med, 339(8) :520-532.
- 116. LOZNIOWSKI A., RABAUD C. (2010).** Resistance bactérienne aux antibiotiques. CCLIN Sud-est, Nancy.
- 117. LUQUET F M, CORRIEU G. (2005).** Bactéries lactique et probiotique. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. pp 307.
- 118. MATHIEU J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 13-26.
- 119. MARCHAL N. (1992).** Initiation à la Microbiologie. Ed DUNOD. pp 95.
- 120. 113. MERCIER P., et PELLET MP. (2003).** Evolution de l'antibiorésistance de souche *Staphylococcus aureus* d'origine caprine en France. Revue Méd. Vét., 2003, 4, 277-280.
- 121. MEKURIA A., ASRAT1 D., WOLDEAMANUEL1 Y and TEFERA G. (2013).** Identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from milk samples of dairy cows and nasal swabs of farm workers in selected dairy farms around Addis Ababa, Ethiopia. African journal of Microbiology Research. Vol 7 (27), pp 3501-3510.
- 122. MICHEL-BRIAND Y. (2009).** Une histoire de la résistance aux antibiotiques: à propos de six bactéries. Hamrmattan, Paris.
- 123. MORONI P., PISONI G., ANTONINI M., VILLA R., BOETTCHER P., CARLI S. (2006).** Short communication: Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. J. Dairy Sci. 89:2973-2976
- 124. MUYLEAERT A., MAINIL J.G. (2013).** Resistances aux fluoroquinolones : la situation actuelle. Ann. Vét., 2013, 157, 15-26. Liège.
- 125. NADJIA BENHAMAD. (2014).** Evaluation de la qualité microbiologique et sanitaire du lait cru dans la région d'Oran, Algérie : étude de profil moléculaire virulent des *Staphylococcus aureus* impliquée dans les mammites bovine. Thèse de doctorats troisième cycle (LMD). Faculté des sciences de la nature et de la vie. Département de biologie. Laboratoire de microbiologie appliquée. Université d'Oran.
- 126. NAUCIEL C., VILDE JL., (2005).** Bactériologie médicale. 2^{em}e édition Masson, paris. pp 257.
- 127. NEHAL M., ZUEL-FAKKAR MD., MONA H., EL-SHOKRY MD. (2010).** Study of erythroderma and psoriasis exacerbation by Staphylococcal superantigens. Egypt Women Dermatol. Soc. 7, 113-117.
- 128. NICHITA I., DAVID C., TRIF R., TIRZIU E., GROS RV. (2007).** Researches regarding the antibiotic resistance of *Staphylococci* strains isolated from raw milk. Lucrari Stintifice Medicina Veterinara Vol XL.
- 129. NOBLET B. (2012).** Le lait : produits, composition et consommation en France. Cahier de nutrition et de diététique, Vol 47, issue 5. pp : 242-249.
- 130. O'NEILL E., POZZI C., HOUSTON P., SMYTH D., HUMPHREY H., ROBINSON DA., O'GARA P. (2007).** Association between méthicilline susceptibility

and biofilm regulation in *Staphylococcus aureus* isolated from device-related infections. J. Clin. Microbiol. 45, 1379-1388.

131. OUDDGHIRI MOUNA. (2009). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine. Thèse de Doctorats. Faculté des sciences. Université Mohammad v – Agdal.

132. OMBUI JN., ARIMI SN., KAYIHURA M. (1992). Raw milk as source of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and enterotoxins in consumer milk. East Afri Med J V 69, 123-125.

133. O'RIORDAN K., LEE JC. (2004). *Staphylococcus aureus* capsular Polysaccharides. Clin Microbiol. Rev 17(1) : 218-234.

134. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). (1998). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : alimentation et nutrition, n°28, ISBN 92-5-20534-6.

135. PASTAN A., LAPOUGE A. (2011). Les antibiotiques : structure, mode d'action, mécanismes de résistance. Bactériologie, WWW.roneos2010.totalh.com.

136. PEGHOUE S. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse de doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse. France.

137. PENGOV A., CERU S. (2003). Antimicrobiol Drug Susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. J. Dairy Sci. 86 :3157-3163.

138. PISSANG TCHANGAI D. (1992). Contribution à l'étude de qualité microbiologique des laits et produits laitiers commercialisés au Togo. Thèse de doctorat. Université Dakar.

139. PETINAKI E and SPILIOPOULOU I. (2012). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food chain animals: impact of humans contacts. Clinical Microbiology and infection.

140. PITKALA A., HAVERI M., PYORALA S., MYLLYS V., HONKANEN BUZALSKI. (2004). Bovine mastitis in Finland 2001-Prevalence, Distribution of Bacteria, and Antimicrobial Resistance. Journal of Dairy science 87: 2433-2441.

141. PRERNA N., BHATI T., SHARMA SK., MOHAMMED N., KATARIA AK. (2013). Prevalence of *Staphylococcus aureus* in lactating goats with clinical mastitis and their antibiogram studies. ABAH Bioflux, Volume 5 issue 1.

142. POOLE K. (2004). Resistance to beta-lactam antibiotics. Cell Mol Life Sci, 61 (17): 2200-2223.

143. KAMAL RM., BAYOUMI MA., ABD EL AAL SFA. (2013). MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. Food Control 33, 49-53

144. RABAHALLAH S., OUAHIOUNE D., SAHNOUN S. (2011). Résistance des *Staphylococcus aureus* isolés à partir de la volaille et des bovins. Mémoire d'ingénieur. Département de biologie, Université de Tizi-Ouzou.

145. RAHAL M K., GUETARNI D., BEROUAL K., KEBBAL S., TALI MAAMAR H., RAHAL K. (2001). Résistance de Staphylocoque isolés de mammites bovines dans la Mitidja. Quels risques pour la santé publique ? Et quelles conséquences pour

la thérapeutique vétérinaire. IV^{èmes} séminaire International de médecine vétérinaire. Constantine.

146. REBIAHI S.A. (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau de Centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. LAMMB, Université de Tlemcen.

147. RENAUD F., BORREL T., MARMONIER A. (2007). Identification conventionnelle in Précis de bactériologie clinique. Ed. ESKA. 2^{èmes} édition, Paris.

148. ROLA JC., SOSNOWSKI M., OSTROWSKA M., OSEK J. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of coagulase positive staphylococci isolated from raw goat milk. Small Ruminant Research 123, 124-128.

149. SAIDI R., KHELEF D et KAIDI R. (2012). Prévalence, dans le lait mammitieux des bactéries pathogènes et de leur résistance aux antibiotiques. Pratique vétérinaire, 14,20-26.

150. SCHORDERET M. 1992. Pharmacologie : Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutique. 2^{èmes} édition, Genève: Slatkine, 671-757.

151. SHARMA D., SHARMA PK and MALIK A. (2001). Prevalence and antimicrobial Susceptibility of drug resistant *Staphylococcus aureus* in raw milk of dairy cattle. International Research journal of Microbiology. Vol, 2(11), pp 466-470.

152. SHITANDI A., STERNESJO A. (2004). Prevalence of multidrug resistant *Staphylococcus aureus* in milk from large and Small Scale producers in Kenya. Journal of Dairy science 87: 4145- 4149.

153. SINA H., BABA-MOUSSA F., KAYODE AP., NOUMAVO PA., SEZAN A., HOUNHOUGAN JD., KOTCHONI SO., PREVOST G., BABA-MOUSSA L. (2011). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from street Food. Journal of Applied biosciences 46:31331-3134.

154. SINGLETON P. (2005). Bactériologie pour la médecine, biologie et biotechnologies. DUNOD, Paris.

155. SMITH T.L, PEARSON M.L, WILCOX KR, CRUZ C, LANCASTER MV. (1999). Emergence of vancomycine Resistance in *Staphylococcus aureus*. For glycopeptides-Intermediate *Staphylococcus aureus*. Volume 340 N°7, New Engl. J. Med. 1999; 340 (7): 493-501.

156. SULAJ K., TERPOLLARI J., KONGOLI R., KORRO K., DURO S., SELAMI F., KUMBE I., BIZHGA B. (2013). Incidence of Coagulase Positive *Staphylococcus aureus* in Raw Co Milk Produced by Cattle Farms in Fieri in Albania. Journal of Life Science, ISSN 1934-7391.

157. TABET S. (1996). Contribution à l'étude de l'effet de pasteurisation sur la flore microbienne et sur quelques caractères physicochimique du lait. Mémoire d'ingénieur. Département de biologie, Université de Tizi-Ouzou.

158. TADASHI B., TAEOK B., OLAF S., FUNIHIKO T., KEIICHI H. (2007). Genome sequence of *Staphylococcus aureus* strain Newman and comparative analysis of *Staphylococcal* genomes polymorphism and evolution of two major pathogenicity islands. Journal of bacteriology, Vol 190 N°1. pp: 300-310.

- 159. TANKOVIC J., AUBRY-DAMON H., LECLERCQ R. (1997).** Résistance aux antibiotiques autres que les bêtalactamines chez *Staphylococcus aureus*. Med Mal infect, special: 207-16.
- 160. THAKER HC., BRAHMBHATI MN., NAYAK JB. (2013).** Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from milk products and their drug résistance patterns in Anand, Gujarat. Vet World 6(1): 10-13.
- 161. TAHA AHMAD BENABBOU. (2012).** Antibiorésistance des bactéries Lactiques isolées de produits artisanaux algériens. Diplôme de magister en biotechnologies. Département de biotechnologies. Faculté des sciences. Université d'Oran.
- 162. UMARU G.A., KABIR J., UMOH V. J., BELLO M., and KWAGA J. K. P. (2014).** Occurrence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) in fresh and fermented milk in Nigeria: A preliminary report. International journal of Public Health and Epidemiology ISSN: 2326-7291 Vol. 3(8), pp. 052-058.
- 163. VAN BAMBEKE F., PAUL T. (2010).** Antibiotique, antifongiques. Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire. Université catholique de Louvain.
- 164. VEH A.K., (2014).** Validation des marqueurs de virulence de *Staphylococcus aureus* comme outils de pronostic de persistance intra mammaire. Mémoire de maitrise des science. Départements de biologie. Université de Sherbrooke. Québec.
- 165. VIGNOLA CL. (2002).** Science et technologie du lait : transformation du lait. Ecole polytechnique de Montréal. pp 1-30.
- 166. VISCIANO P., POMILIO F., TOFALO R., SACCHINI L., SALETTI MA., TIERI E., SCHIRONE M., SUZZI G. (2014).** Detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cow farms. Food Control 46, 532-538.
- 167. WATTS JL., SALMON SA. (1997).** Activity of selected antimicrobial agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce beta-lactamase. J. Dairy Sci. 80, 788-791.
- 168. WOOTON S.H., ARNOLD K, HILL H.A. (2004).** Intervention to reduce the incidence of méthicilline-resistant *Staphylococcus aureus* skin infection in a correctional facility in Georgia. Infect control hosp Epidemiol. 25: 402-407.
- 169. ZAROOUR K. (2010).** Contribution a l'étude microbiologique et technologique des espèces de *leuconostoc mesenteroides* isolées de différents écosystèmes. Mémoire de magister. Université d'Oran.
- 170. ZELIRLI R. (1992).** La fréquence du portage sain de *Staphylococcus aureus* chez le personnel soignant du centre hospitalier universitaire d'Alger centre. Mémoire de licence. Université d'Alger.
- 171. ZAMAHOUN C. (2005).** Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie d centre national hospitalier universitaire Huber Koutoukou Maga de Cotonou. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de pharmacie et d'Odonto-Stomatologie Université du Mali.

De nombreuses études portant sur les *S.aureus* justifient par l'immense rôle qu'ils jouent en pathologie infectieuse humaine et vétérinaire. La recrudescence de la multi-résistance aux agents antimicrobiens constitue un problème majeur de santé publique dans le monde, en raison des fréquences qui ne cessent d'augmenter et provoquent des impasses thérapeutiques dans le prochain avenir.

L'objectif de cette étude est l'isolement des souches de *S. aureus* à partir du lait cru et produits laitiers traditionnels et l'étude de la résistance des isolats vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques.

Pour cela, 84 échantillons du lait et produits laitiers (beurre, fromage, lait caillé et petit lait) ont été soumis à la recherche des *S. aureus*. L'isolement a été effectué sur gélose Chapman et ceci après enrichissement sur Giolitti et Cantoni, l'identification des souches a été réalisée par certains tests biochimiques.

Le profil de résistance des isolats a été étudié vis-à-vis une vingtaine de molécules d'antibiotique, par la technique standard de diffusion des disques sur gélose. L'évaluation des CMI a été effectuée par la technique de dilution en milieu solide pour l'Oxacilline.

Sur les 84 échantillons analysés, 26 (30.95%) étaient contaminés par *S.aureus*, avec une incidence élevée dans le lait cru de vache (39.58%).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré l'existence de résistances, avec des proportions variables selon les familles d'antibiotiques. En effet, cette résistance a été détectée chez 26 (100%), 23 (88.46%), 22 (84.61%), 17 (65.38%), 9 (34.61%), 3 (11.54%), 3 (11.54%), 3 (11.54%), 2 (7.69%), 1 (3.85%), 1 (3.85%), 1 (3.85%), 1 (3.85%) des souches de *S. aureus* vis-à-vis respectivement l'acide nalidixique, la pénicilline G, l'ampicilline, la tétracycline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la cefoxitine, l'oxacilline, l'ofloxacin, la norfloxacin, l'acide fusidique, la bacitracine, la fosfomycine, la néomycine et la kanamycine. Aucune résistance n'a été décelée vis-à-vis des autres molécules : la vancomycine, la gentamicine, l'amikacine, la cephalothine, la tobramycine, la novobiocine, le triméthoprimesulfaméthoxazole, la lincomycine, l'érythromycine, la spiramycine, la clindamycine et le chloramphénicol. 23 souches résistent au moins vis-à-vis 3 antibiotiques et 8 phénotypes de multi-résistances ont été observés. Quand aux souches SARM, trois souches ont été isolées, présentant un phénotype de type sensible vis-à-vis les macrolides et les aminosides.

Face à la prévalence élevée des *S.aureus* dans les denrées alimentaires et à l'apparition des multi-résistances, la mise en œuvre d'une stratégie active, efficace où la sécurité microbiologique des aliments doit être garantie afin d'éviter la propagation de résistance aux antimicrobiens par ces microorganismes, s'avère très importante.

Mots clés : *S.aureus*, résistance aux antibiotiques, SARM, lait, produits laitiers.