



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

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

Mémoire :

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

Isolement de *Staphylococcus aureus* chez les caprins et résistance des isolats aux antibiotiques

Présenté par :

- *DJAOUI Yasmina*
- *ZMIHI Siham*

Soutenu le 24/12/2020 devant le jury :

- Président : *Mr HOUALI. K.*, Professeur à l'UMMTO
- Encadreur : *Mr TITOUCHE. Y.*, MCB à l'UMMTO
- Examinatrice : *M^{elle} OUSSAID. S.*, MCB à l'UMMTO

Promotion : 2019/2020

Remerciements

Au terme de ce travail nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre encadreur, Mr Titouche pour nous avoir épaulées et diriger tout au long de ce travail, et qui grâce à sa volonté et son dévouement à la recherche scientifique nous avons pu réaliser notre partie expérimentale en dépit de conditions exceptionnelles de cette année.

Nos remerciements s'adressent également aux Membres du Jury qui nous font l'honneur de juger ce mémoire.

Nous exprimons toute notre gratitude au Dr Fritih, qui a contribué activement dans la réalisation de toutes les étapes de ce mémoire, de nous avoir conseillé et soutenu dans toutes les circonstances.

Dédicaces

Je dédie ce travail pour mes parents, source intarissable de bonheur et d'encouragement pour toujours aller de l'avant et ne jamais céder devant les obstacles.

Pour mon mari, qui s'est voué à la réalisation de ce travail et a donné de son temps sans compter.

A ma sœur qui est toujours présente pour moi dans les moments de quiétude et dans les moments difficiles.

A mon binôme, avec laquelle j'ai ressenti le plaisir de travailler tout au long de ce parcours.

A mon amie Yasmine, qui me soutiens dans toutes les étapes de ma vie.

Yasmina

Je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents et grands-parents, les mots ne suffissent pour vous remercier

A ma chère tante Hakima que j'aime tant

A mes frères Massi et Mehdi

A mon oncle et sa femme

A mes chères amies Chahinez et Nadjet

A mes chers cousins Dyhia, Ouiza, Cylia, Ouahcene et notre ange Nanou

A mon cher binôme Yasmina

Au Docteur Fritih Mhend, qui nous a vraiment aidées tout au long de ce travail.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

SIHAM

Résumé

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

Pour cela, 53 prélèvements à travers deux élevages de la région de Béni Yenni et Ain EL hammam (Tizi-Ouzou) ont été réalisés. Ces prélèvements incluent 49 prélèvements de la cavité nasale chez des caprins sains, deux prélèvements nasaux chez des éleveurs et deux prélèvements du lait de mélange issu de la traite des chèvres.

L'isolement des souches a été réalisé sur la gélose sélective, Baird Parker, suivi d'une identification biochimique des isolats. La résistance aux antibiotiques a été testée selon la méthode de diffusion des disques sur la gélose Mueller-Hinton, en suivant les recommandations du CLSI (2018) et de CASFM (2019).

Au total, 16 souches de *S. aureus* ont été isolées. Toutes ces souches étaient des SASM et aucun SARM n'a été isolé. De fortes résistances à la pénicilline G ont été observées pour l'ensemble des souches isolées. Aucune résistance vis-à-vis les autres molécules d'antibiotiques n'a été observé.

Bien que dans notre étude la prévalence d'isolement de *S.aureus* est assez faible, la présence de *S.aureus* au niveau des élevages d'animaux de rente constitue un problème de santé publique. Pour cela, l'application de règles de biosécurité et les bonnes pratiques d'hygiène aident à prévenir la diffusion de cette bactérie au niveau des élevages et tout le long de la chaîne de production.

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

Liste des abréviations

16S : Svedberg (vitesse de sédimentation)

ADH : Argininedéhydrolase

ARN : Acide ribonucléique

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

ATB: Antibiotique

ATCC: American Type Culture Collection

BHI: Brain Heart Infusion

BHIB: Brain Heart Infusion Broth

BP: Baird Parker

CBA: Columbia Blood Agar

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

Clf: Clumping factor

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMH II: Complexe Majeur d'histocompatibilité

Cna : Protéine de fixation au collagène

CRF: Coagulase Reacting Factor

DHFR: Dihydrofolate-réductase

DHPS: Dihydroptéroate-synthétase

Eap: Extracellularadherenceprotein

Efb: Extracellularfibrinogen binding protein

Emp : Extracellular matrix binding protein

Erm : Erythromycin résistance méthylase.

ET : Exfoliatines

FAME: Fatty Acid ModifyingEnzym

Fbnp: Fibrinectine binding protein

Hl: Hémolysine

Ig: Immunoglobulines

IN: Infection urinaire

LTA: Lipoteichoic Acid

LukF-PV: FastelutedPanton Valentine

LukS-PV: Slow elutedPanton Valentine

MH: Muller Hinton

MSA: Mannitol Salt Agar

MLS : Macrolides, Lincosamides et synergystines

MSCRAMM : Microbial Surface Components RecognizingAdhesive Matrix Molecules

pH : Potentiel hydrogène

PLP : Protéines liant les pénicillines

PLP2a : Protéine liant les pénicillines 2a

PM : Poids moléculaire

PVL : Leucocidine de Panton-Valentine

SAK : Staphylokinase

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SASM : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline

SCC : Staphylococcal chromosomal cassette

SCN : Staphylocoques à coagulase négative

SCP : Staphylocoques à coagulase positive

SE : Entérotoxines staphylococciques

SERAM : SecretableExpandedRepertoireAdhesiveMolecules

Spa : Protéine A de surface

SSSS: Staphylococcal Scalled Skin Syndrom

TCR: T. cell receptor

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective

THG : Transfert horizontal de gènes

TNF α : Tumor Necrosis Factors α

TSS : Syndrome du choc toxique

TSST : Toxine du syndrome de choc toxique

TSST1: Toxic shock syndrome toxine 1

TSYEA: TryptoneSoja Yeast Extract Agar

VP: Voges Proskauer

WTA: Wall Teichoic Acid

Liste des figures

Figure 01 : Principaux réservoirs de staphylocoques.

Figure 02: Syndrome du choc toxique.

Figure 03 : Mammmites bovines.

Figure 04: Facteurs de virulence de *S. aureus*.

Figure 05: Représentation de la structure de l' α -hémolysine et de son mode d'incorporation dans une bicouche lipidique.

Figure 06 : Chronologie de la découverte des différents antibiotiques

Figure 07 : Stratégies bactérienne de la résistance aux antibiotiques.

Figure 08 : Résistance de *S.aureus* aux β -lactamines.

Figure 09: Mécanisme d'action et de résistance des MLS.

Figure 10 : Prélèvement nasal chez un caprin.

Figure 11 : Profil de résistance d'un SASM

Liste des Tableaux

Tableau I : caractères différentiels des principales espèces staphylocoques avant un rôle potentiellement pathogène

Tableau II : information concernant les élevages visités et les prélèvements effectués.

Tableau III: Liste des molécules d'antibiotiques testés sur les souches isolées.

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

Tableau V : Résistance des souches de *S. aureus* (n=16) vis-à-vis des antibiotiques testés.

Introduction

Les microorganismes représentent la première forme de vie apparue sur terre. Bien qu'ils soient invisibles à l'œil nu, ils sont omniprésents et colonisent toutes les surfaces vivantes et inertes. *Staphylococcus aureus* est une bactérie de portage chez l'homme et l'animal, il est présent sous forme commensale dans la plupart des cas et ne nuit pas à son hôte. Mais sous certaines conditions, il peut basculer vers la pathogénicité et causer différentes formes d'infections qui peuvent être assez banales et facilement traitées par les antibiotiques comme le panaris ou le furoncle comme il peut engendrer des atteintes plus graves comme les infections nosocomiales ou iatrogènes en milieu hospitalier.

Dans les élevages caprins à vocation laitière, les éleveurs sont constamment confrontés aux problèmes sanitaires engendrés par les staphylocoques notamment les mammites récurrentes qui engendrent des pertes économiques et présentent un réel problème dans l'élevage en raison de sa forte contagion et sa propagation au sein du cheptel.

Staphylococcus aureus, incluant *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM), est le pathogène commun causant une large gamme de maladies dans les communautés et dans les hôpitaux (Chen et Huang, 2018). L'augmentation du nombre d'infections au SARM communautaire (CA-SARM) chez des individus en bonne santé avait conduit à des recherches sur l'origine des souches et sur leurs facteurs de virulence (Ross Fitzgerald, 2012). *S. aureus* peut coloniser une gamme d'animaux, incluant les animaux domestiques (porc, vaches, volaille, ...), les animaux de compagnie (chien, chat,...) et les animaux sauvages. L'émergence des souches SARM associées aux élevages (LA-SARM) parmi les espèces circulant dans les élevages est une question pertinente du point de vue de la santé humaine et de la santé animale (Locatelli et al, 2017). Des transmissions zoonotiques des souches d'élevages (LA-SARM) aux humains, avec des infections graves, ont été rapportées. Néanmoins, il a été démontré que les personnes vivantes et travaillant en contact étroit avec des animaux de la ferme sont particulièrement les plus exposées à la colonisation par des SARM, ce qui pourrait contribuer à la diffusion des souches SARM dans la chaîne alimentaire.

Les questions qui sont amenées à être posées, d'où peut provenir ces contaminations de *Staphylococcus aureus* ? l'éleveur peut-il être source de contamination pour son élevage ?, et qu'elle est la répercussion de la contamination de l'animal sur la qualité microbiologique du lait ? .

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'isolement de *Staphylococcus aureus* de la cavité nasale de caprins, des éleveurs et de lait. Les souches ainsi isolées ont été soumises à l'étude de leurs résistances vis-à-vis quelques molécules d'antibiotiques utilisées en médecine vétérinaire et en médecine humaine, et ceci dans le but de prévoir l'existence de souches multi-résistantes (SARM)

1.1. Table des matières

1. GENERALITES SUR LE STAPHYLOCOCCUS AUREUS	5.
1.1 HISTORIQUE	5
1.2 NICHES ECOLOGIQUES DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	6
1.3 CARACTERISTIQUES MICROBIOLOGIQUES DE <i>S. AUREUS</i>	6
1.4 TAXONOMIE DE <i>S. AUREUS</i>	7
1.5 CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES DE <i>S. AUREUS</i>	7
1.6 CARACTERES CULTURAUX DU <i>S. AUREUS</i>	8
1.7 GENOMIQUE :	8
2. LES PATHOLOGIES STAPHYLOCOCCIQUES.....	9
2.1 ÉPIDEMIOLOGIE DE <i>S. AUREUS</i>	9
2.1.1 Réservoir de <i>S. aureus</i>	9
2.1.2 Voies de transmission de <i>S. aureus</i>	10
2.2 PATHOLOGIES STAPHYLOCOCCIQUES	11
2.2.1 Maladies humaines	11
2.2.2 Infections à staphylocoque chez les animaux.....	15
3. FACTEURS DE VIRULENCE STAPHYLOCOCCIQUES	18
3.1 CONSTITUANTS DE L'ENVELOPPE	18
3.1.1 Le peptidoglycane	18.
3.1.2 L'acide téichoïque.....	19
3.1.3 La capsule.....	19
3.2 COMPOSANTS DE SURFACE.....	19
3.2.1 La protéine A	19
3.2.2 Les adhésines	20
3.2.3 Les MSCRAMMs	20
3.2.4 Les SERAMs	20
3.3 LES COMPOSANTS SECRETES	21
3.3.1 Les exoenzymes et les protéines.....	21.
3.3.2 Les toxines.....	22
3.4 REGULATION DES FACTEURS DE VIRULENCE	26
4. RESISTANCE DE <i>S. AUREUS</i> AUX ANTIBIOTIQUES	27
4.1 HISTORIQUE	27
4.2 DEFINITION D'UN ANTIBIOTIQUE	27
4.3 CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES.....	28
4.4 RESISTANCE DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> AUX ANTIBIOTIQUES	29
4.5 DEFINITION DE LA RESISTANCE	29

4.6	PRINCIPAUX MECANISMES DE RESISTANCE	31
4.7	RESISTANCE DE <i>S. AUREUS</i> AUX ANTIBIOTIQUES	32
4.7.1	<i>Résistance aux β-lactamines</i>	32
4.7.2	<i>Résistance aux glycopeptides</i>	33
4.7.3	<i>Résistance aux aminoglycosides</i>	33
4.7.4	<i>Résistance aux fluoroquinolones</i> :.....	34
4.7.5	<i>Résistance aux quinolones</i>	34.
4.7.6	<i>Résistance aux tétracyclines et glycilcyclines</i>	35.
4.7.7	<i>Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)</i>	35
4.7.8	<i>Résistance aux sulfamides</i>	36.
1.	MATERIELS ET METHODES	37
1.1	OBJECTIFS DE L'ETUDE	37.
1.2	MATERIEL DE PRELEVEMENT.....	37.
1.2.1	<i>Matériel biologique</i>	37
1.2.2	<i>Matériel de laboratoire</i>	37
1.3	DUREE ET LIEU DE L'ETUDE.....	38
1.4	NATURE ET NOMBRE D'ECHANTILLONS	39
1.4.1	<i>Prélèvement nasal chez les caprins</i> :.....	39
1.4.2	<i>Prélèvement nasal chez les éleveurs</i>	40
1.4.3	<i>Prélèvement du lait de caprins</i>	40
1.5	TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS	40.
1.6	ANALYSE DES ECHANTILLONS	41
1.6.1	<i>Enrichissement</i>	41.
1.6.2	<i>Isolement</i>	41
1.6.3	<i>Purification</i>	41.
1.6.4	<i>Identification biochimique de <i>S. aureus</i></i>	41
1.7	ANTIBIORESISTANCE DES SOUCHES ISOLEES	43
1.8	TECHNIQUE DE L'ANTIBIOGRAMME	43
1.9	CONSERVATION DES SOUCHES IDENTIFIEES	44.
2.	RESULTATS ET DISCUSSION	45
2.1	RESULTATS	45
2.1.1	<i>Prévalence de <i>S.aureus</i></i>	45
2.1.2	<i>Antibiorésistance des souches <i>S. aureus</i> isolées</i>	45
2.1.3	<i>Profils de multi résistances des souches de <i>S. aureus</i> isolées</i> :.....	46
2.1.4	<i>Taux d'isolement des souches SARM</i> :.....	48.
2.2	DISCUSSION :.....	48
3.	CONCLUSION :.....	51

CHAPITRE 1 : Généralités sur le *Staphylococcus aureus*

2. Historique

Étant un germe ubiquitaire et pouvant coloniser la peau et les muqueuses, les Staphylocoques ont toujours été source d'infections pour l'homme et les animaux.

Ce germe fut observé pour la première fois par Robert Koch en 1878 au microscope sous forme d'amas de grains dans le pus de furoncles. Cependant, ce n'est que deux ans plus tard qu'il fut reconnu par Louis Pasteur. En 1881, Alexander Ogston a reproduit l'infection chez un animal après avoir isolé la bactérie dans un abcès postopératoire et il donna à ces amas le nom de staphyle en analogie à la grappe de raisin (Le Loir et Gautier 2010)

En 1884, Anton Rosenbach cultiva le staphylocoque *in vitro* et en décrivit la première espèce connue : *Staphylococcus aureus*, ou Staphylocoque doré, ainsi nommé en raison de la couleur des colonies obtenues en culture.

Avant l'ère des antibiotiques et de leur usage intensif, les infections cutanées ou cutanéomuqueuses liées au staphylocoque telles que les panaris, furoncles, impétigo, étaient fréquentes et banales et n'étaient pas redoutées en raison de diverses possibilités d'approche thérapeutique, liées au miracle des antibiotiques. Cependant, le pouvoir adaptatif de *S. aureus* aux antibiotiques a conduit à l'émergence de souches résistantes à la méticilline : SARM. Les premières souches sont apparues au niveau des hôpitaux en 1960 et se sont rapidement propagées aux hôpitaux du monde entier créant ainsi une pandémie de clones nosocomiaux qui ont pu être caractérisé par différents outils moléculaires (Deuenberg et al, 2007).

Dans les années 80, les clones épidémiques de SARM ont acquis des caractères multi résistants. Ainsi ils sont devenus les agents causaux les plus importants des infections nosocomiales (George et al, 2015).

A la fin des années 1990, la fréquence des SARM voit une baisse importante dans les hôpitaux de plusieurs pays grâce aux mesures d'hygiène et l'utilisation d'antibiotiques, mais des souches SARM ont commencé à apparaître dans la population (Lencastre et al, 2007)

2. Niches écologiques de *Staphylococcus aureus*

S. aureus est un germe ubiquitaire pouvant se développer sur toutes les surfaces et chez les animaux mais son habitat préférentiel reste l'homme (Durand, 2009). 30 à 50 % de la population est porteur sain de staphylocoques, autrement dit cette bactérie est retrouvée au niveau de la peau ou des muqueuses externes sans qu'un symptôme ne soit développé. Ce genre de portage est normal et le staphylocoque est considéré comme un membre de la flore commensale (Neulier, 2010).

Les régions de prédilection des *S. aureus* sont les zones humides et péri orificielles. Il présente, toutefois un tropisme élevé pour la peau lésée et adhère difficilement à la surface des cornéocytes de la peau saine. De plus, des sites de fixation deviennent accessibles sur une peau lésée, et facilitent l'adhérence puis la colonisation de *S. aureus* qui devient l'un des principaux agents causals des dermatites (Neulier, 2010).

3. Caractéristiques microbiologiques de *S. aureus*

S. aureus est un coque à coloration de Gram positive. Il mesure 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase. *S. aureus*, espèce type du genre *Staphylococcus*, parfois appelée staphylocoque doré (Névine, 2020).

4. Taxonomie de *S. aureus*

Le genre *Staphylococcus* comprend actuellement 41 espèces et 21 sous espèces isolées chez l'homme et l'animal *Staphylococcus aureus*, autrement appelé Staphylocoque à coagulase positive, est une bactérie à gram positif. C'est un coccus, de forme arrondie, qui se présente sous la forme de diplocoques (des cocci associés par deux) ou sous la forme d'amas ayant la forme de grappes de raisin (Flandrois. 1997).

Domaine : Bacteria
Embranchement : Eubacteria
Phylum : Firmicutes
Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales
Famille : *Staphylococcaceae*
Genre : *Staphylococcus*
Espèce : *aureus*

5. Caractéristiques biochimiques de *S. aureus*

De nombreuses études ont permis de dresser des profils métaboliques pour la plupart des espèces de staphylocoques qui ont pour principaux caractères biochimiques la production de catalase et d'arginine dihydrolase (ADH). *S. aureus* possède également une activité coagulase, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase (Behme *et al.*, 1996; Nandy *et al.*, 2013). Il est hémolytique et a la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose et le mannitol (Behme *et al.*, 1996).

Les espèces de Staphylocoques sont généralement classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre : les staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme pathogènes et les staphylocoques à coagulase négatives (SCN), réputés moins dangereux (Le Loir et Gautier, 2010).

S. aureus a longtemps été considéré comme le seul représentant des SCP, mais de nouvelles espèces de staphylocoque à coagulase positive ont été récemment isolées: *S. intermedius* et *S. hyicus* (Brisabois *et al.*, 1997; Leyral et Vierling, 2007). Le diagnostic permettant de distinguer *S. aureus* des autres espèces est basé sur des tests réalisés sur des colonies tels que l'identification du facteur agglomérant, de la coagulase, des hémolysines et de la désoxyribonucléase thermostable ou thermonucléase (Brown, 2005).

Tableau I : Caractères différentiels des principales espèces staphylocoques ayant un rôle potentiellement pathogène (<http://medical-actu.com>).

Caractère	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Coagulase	+	-	-
DNase thermostable	+		
Résistance à la novobiocine (disques 5 µg)			+^a
Nitrate-réductase	+	+	
Phosphatase	+	+	
D-mannitol (acidification)	+		±

(a) Diamètre de la zone d'inhibition < 16 mm

6. Caractères cultureux du *S. aureus*

In vitro, *S. aureus* est une bactérie non-exigeante. En effet, en plus d'être aéroanaérobie facultative, elle est facilement cultivable en milieu gélosé classique tel que CBA (Columbia Blood Agar), TSA (Tryptic Soy Agar) ou BHI (Brain Heart infusion), ainsi que dans les milieux liquides correspondants (Foster, 1996). La gélose Chapman (ou MSA pour Mannitol-Salt-Agar) peut être utilisée comme milieu sélectif différentiel pour l'identification de *S. aureus* qui présente un caractère halophile ainsi que la capacité à fermenter le mannitol.

S. aureus se développe entre 10 et 42°C avec une température optimale de 37°C et un pH compris entre 7,4 et 7,6 (Nandy, 2013). Les colonies peuvent être observées après 24h d'incubation. Elles sont opaques (pigmentation jaune-doré), ont un aspect circulaire de 2 à 3 millimètres de diamètre ainsi qu'une surface convexe lisse et brillante.

7. Génomique :

Le génome de *S. aureus* est constitué d'un chromosome circulaire unique d'environ 2,8Mb à faible teneur en guanidine et cytosine (30 à 39%) (Holden et al, 2004 ; Kim et al., 2014), classant *S. aureus* parmi les bactéries Gram positives à faible GC%.

En plus du chromosome, le génome de *S. aureus* peut présenter divers éléments génétiques mobiles comme des plasmides, des prophages issus de phages tempérés ou encore des éléments transposables tels que transposons, intégrons, séquences d'insertion, îlots de pathogénicité ou cassettes chromosomiques (Malachowa et DeLeo, 2010). Ces éléments sont

souvent porteurs d'un ou plusieurs gènes conférant un avantage sélectif à la bactérie tels que la résistance à un antibiotique ou l'expression d'un facteur de virulence. Ainsi, l'élément génétique mobile le plus connu chez *S. aureus* est sans doute la SCC (pour staphylococcal chromosomal cassette) qui porte le gène *mecA* de résistance à la méticilline (Katayama et al, 2000).

En plus de leur transmission à la descendance par transfert vertical lors de la division bactérienne, ces éléments peuvent aussi se propager à d'autres bactéries « sœurs » par transfert horizontal de gènes (THG), qui est un mécanisme crucial pour la plasticité des génomes bactériens et l'adaptation des bactéries à leur environnement (Guinane et al, 2011; Lindsay, 2014). Il est d'ailleurs considéré comme le principal responsable de la propagation de gènes de résistance aux antibiotiques au sein d'une population bactérienne (Savage et al, 2013). Il peut avoir lieu au sein d'une même espèce mais aussi entre espèces, voire genres différents (Winstel et al, 2013). Il existe trois grands mécanismes de THG :

- la conjugaison : le plasmide F passe d'une souche donneuse à une receveuse;
- la transduction : un bactériophage tempéré encapside par erreur des portions de chromosome bactérien lors de la reprise de son cycle lytique et les « injecte » dans une autre cellule lors de l'infection;
- la transformation, basée sur la capacité que possèdent certaines bactéries à capturer de l'ADN exogène présent dans leur milieu environnant, à l'internaliser et à l'intégrer dans leur chromosome suivant un processus de recombinaison homologue.

CHAPITRE 2 : LES PATHOLOGIES STAPHYLOCOCCIQUES

1. Épidémiologie de *S. aureus*

1.1. Réservoir de *S. aureus*

Le *S. aureus* est une bactérie qui est répandue sur la planète bleue de façon ubiquitaire. Grace à ses capacités d'adaptation et de résistance au stress, il est capable de survivre dans un large éventail d'habitats environnementaux. Ces capacités expliquent en partie la difficulté à éradiquer le *S. aureus*.

Cette bactérie peut être isolée de façon sporadique dans le sol, l'eau douce, le sable de la plage, l'eau de mer, la surface des plantes. Concrètement, elle est largement présente dans les poussières dispersées dans l'air et les surfaces (Dworkin et al, 2006).

Ce microorganisme opportuniste est aussi commensale de la peau et des muqueuses (fosses nasales, périnée, tractus gastro-intestinal et pharynx) de l'homme et de nombreuses espèces animales (Kluytmans et al, 1997 ; Wertheim et al, 2005 ; van Belkum et al, 2006). Comme, il peut coloniser le périnée et les muqueuses vaginales (Guinan et al, 1982) et les aisselles (Dancer S G et Noble, 1991).

La fréquence du portage sain chez les humains est approximativement de 30 %. Cette fréquence diffère selon plusieurs paramètres incluant le site de la colonisation (23 à 46 % au niveau du nez, 24 à 36 % au niveau de la bouche) ou l'âge (jusqu'à 64 % chez les enfants). Von Eiff et al (2001) ont décomposés la population en 3 groupes : 20 % de la population sont porteurs permanents, 60 % sont porteurs intermittents et 20 % ne seront jamais porteurs.

Les fréquences de portage de *S.aureus* apparaissent plus faibles chez les animaux que chez les humains (Robinson et al, 1994 ; Nagase et al, 2001). Parmi les animaux, elles semblent plus élevées chez les animaux d'élevage, comme les poulets (50%) (Kawano et al, 1996), les porcs (42%) (Nagase et al, 2001), les brebis (29%) (Vautor et al, 2005), les vaches (de 14 à 23%) (Robinson et al, 1994; Nagase et al, 2001).

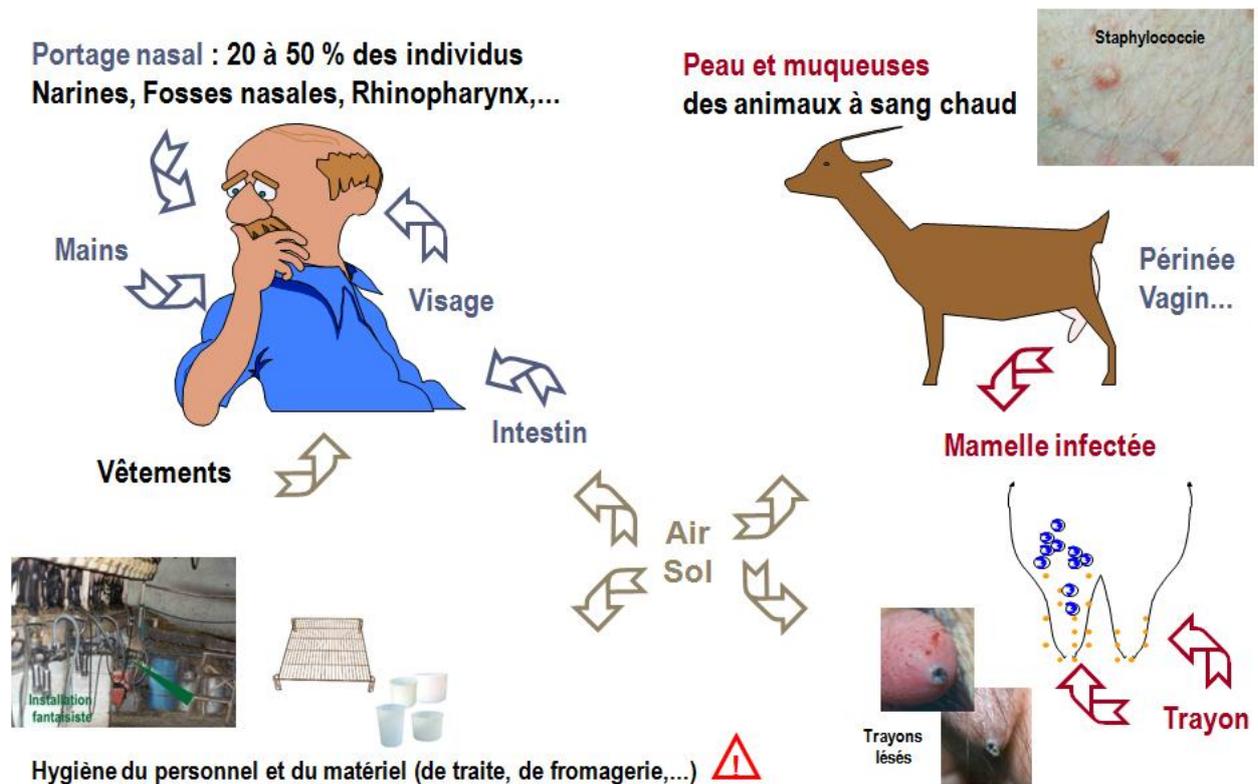


Figure 01: Principaux réservoirs de staphylocoques (Renée de Crémoux, 2012)

1.2. Voies de transmission de *S. aureus*

En raison de sa localisation, c'est principalement le mode de transmission manportée qui est à l'origine des infections. Cette transmission peut être due soit à un portage direct par l'individu lui-même, soit par une contamination transitoire par un autre réservoir. Bien que *S. aureus* soit capable de survivre plusieurs mois dans l'environnement en état de dormance (Pascoe *et al*, 2014 ; Mulyukin *et al*, 2014), la contamination par une source environnementale reste relativement rare, sauf en milieu hospitalier où elle est prévalente (Kampf *et al*, 2003).

Une autre voie de contamination est l'ingestion d'aliments colonisés par des souches de *S. aureus* libérant des entérotoxines, responsables d'intoxinations alimentaires (Soares *et al*, 1997).

2. Pathologies staphylococciques

Staphylococcus aureus est une bactérie commensale et pathogène de l'homme et de certains animaux. *S. aureus* est responsable d'un spectre d'infections très variées, en termes de diversité et 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, qui est majoritairement responsable des symptômes cliniques (Le Loir et Gautier, 2010).

2.1. Maladies humaines

2.1.1 Les infections cutanées

- **Les impétigos** : il s'agit d'infections superficielles de la couche cornée de l'épiderme dues principalement à *S. aureus* (parfois à *S. pyogenes*, ou *S. aureus* associé à *S. pyogenes*). Ils sont auto-inoculables et non immunisants, atteignant surtout l'enfant. Chez l'adulte, ils interviennent presque toujours sur des lésions cutanées préexistantes. Il existe 2 formes cliniques classiques d'impétigo : l'impétigo vrai et l'impétigo bulleux :
- **L'impétigo vrai** : Il est synonyme d'impétigo non bulleux ou impétigo croûteux. C'est la forme la plus fréquente, qui est observée dans 70% des cas environ. La lésion initiale est une vésiculobulle parfois entourée d'une auréole inflammatoire. Elle est inconstamment précédée d'une tache érythémateuse. Rapidement, cette vésicule va se troubler et se rompre. Apparaît alors un suintement puis une croûte jaunâtre dite mélicérique, recouvrant une érosion de couleur rouge (Loffeld et al 2003 ; Loffeld et al 2008).
- **L'impétigo bulleux** : La lésion élémentaire est une bulle mesurant environ 1 à 2 cm, parfois plus. Il n'y a généralement pas d'auréole inflammatoire. Ces bulles persistent 2 à 3 jours puis vont laisser place à de vastes érosions d'extension rapide. Cette forme est observée plus fréquemment chez le nouveau-né et le nourrisson, et

sévit par petites épidémies sporadiques dans les maternités et les crèches où la transmission du germe s'effectue par les mains du personnel soignant (Helsing et Gaustad, 1992).

- **Les folliculites :** Elles sont caractérisées par l'apparition brusque de papulo pustules inflammatoires centrées autour d'un orifice pileux. Les principaux facteurs favorisants sont le diabète, l'immunosuppression et l'utilisation de corticothérapie locale. Ils existent également plusieurs types de folliculites (Bessis et *al*, 2008 ; Habif et *al*, 2008) :

L'ostio-folliculite : elle touche surtout le visage, en particulier au niveau de la barbe mais aussi les cuisses et la face postérieure des bras. Les folliculites du dos sont favorisées par la transpiration et les frottements. Leur fréquence est plus élevée en période estivale (Dr olivier ROGEAUX, 2020)

Le furoncle : il s'agit d'une infection aiguë du follicule pilo-sébacé due à *S.aureus* et ayant une évolution spontanée nécrosante. Elle touche la partie moyenne du follicule pilosébacé qui s'élimine avec des zones dermiques voisines nécrosées sous forme de bourbillons. Le début est une simple folliculite puis rapidement apparaît une zone indurée, rouge, chaude, douloureuse avec, au centre, une pustule jaunâtre. La douleur est souvent intense et s'accompagne d'une adénopathie et fièvre. En quelques jours, il y'a élimination du bourbillon laissant place à une cicatrice en creux. Le furoncle peut siéger n'importe où mais il est favorisé par les frottements sur le dos, les fesses, le périnée. La présence de plusieurs lésions est associée à des souches productrices de Leucocidine de Panton Valentine (LPV) (Yamasaki et *al*, 2005).

La furunculose : il s'agit de la répétition de nombreux furoncles. La chronicité est la règle et le traitement difficile. L'origine de la furunculose, mal connue, est probablement multifactorielle combinant des susceptibilités liées à l'hôte et des facteurs de virulence bactériens tels que la LPV (Yamasaki et *al*, 2005).

L'anthrax : L'anthrax est le stade où plusieurs furoncles se fusionnent pour donner une tuméfaction profonde et inflammatoire, cratériforme. Il peut s'accompagner de poussées purulentes et de signes généraux tels que la fièvre ou un syndrome inflammatoire. Les

traitements sont les mêmes que les furoncles. Le caractère nécrotique de l'anthrax est expliqué par la sécrétion de toxines comme la LPV (Bessis et al, 2008).

2.1.2 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 en milieu hospitalier, de l'entrée de *S. aureus* dans la circulation sanguine suite à l'implantation d'un cathéter veineux et d'une sonde ou d'une prothèse. Elles s'accompagnent très souvent d'infections viscérales (endocardite, pneumopathie, etc.) ou osseuses (ostéomyélite) (Federighi, 2005).

2.1.3 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 et Gautier, 2010).

2.1.4 Les pathologies toxiques

- **Le syndrome du choc toxique (TSS) :**

Le syndrome de choc toxique staphylococcique dû aux souches libérant la toxine TSST1 est associé à une hypotension, à de la fièvre et à une érythrodermie desquamante généralisée. Cette infection est rare mais souvent mortelle. Elle peut être favorisée par l'utilisation de tampons vaginaux lors de la menstruation (Melish et al, 1989).

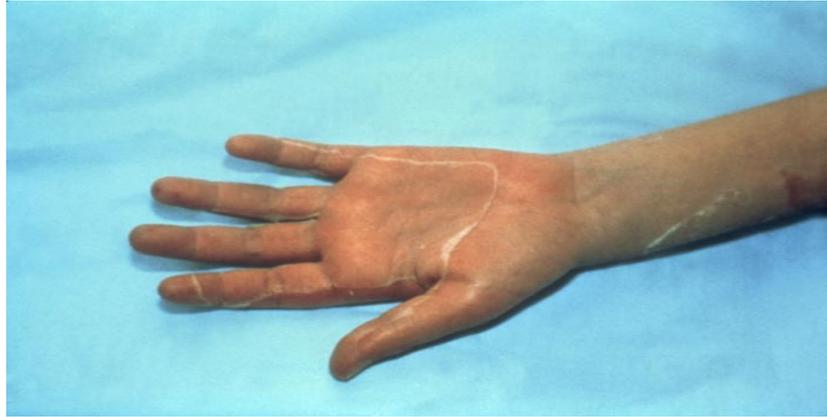


Figure 2: Syndrome du choc toxique (Larry M. Bush, 2019)

2.1.5 L'épidermolyse staphylococcique aiguë

L'épidermolyse staphylococcique aiguë ou staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) est une infection rare mais très sévère, touchant principalement les enfants de moins de 5 ans. Les manifestations surviennent brutalement dans les jours qui suivent l'infection cutanée. L'érythème est de type scarlatiniforme avec un renforcement au niveau des plis et autour des orifices et s'étend à tout le corps sauf au niveau des muqueuses. Par la suite, une nécrose épidermique apparaît avec de vastes bulles tendues superficielles qui se rompent facilement et laissent apercevoir des fragments de peau rouge vif suintants (aspect de peau « ébouillantée ») (Bessis et *al*, 2008).

2.1.6 La pneumonie nécrosante

S. aureus est un agent pathogène isolé dans 2 à 5 % des pneumopathies communautaires, plus fréquemment rencontré chez les sujets âgés avec des comorbidités, dans un contexte grippal. Toutefois, *S. aureus* peut être parfois sécréteur d'une leucotoxine particulière, la PVL+, responsable de pneumopathies nécrosantes graves, grevées d'une mortalité élevée entre 30 et 75 %. Les pneumopathies nécrosantes à *S. aureus* PVL+ constituent des tableaux cliniques touchant majoritairement les enfants et les adultes jeunes, le plus souvent indemnes de comorbidité et dans un contexte de syndrome grippal. À la phase d'état, la présentation clinique, décrite par Gillet et al, est caractérisée par l'association d'une fièvre élevée (> 39 °C), des infiltrations alvéolaires multi-lobaires, d'hémoptysies et d'une leucopénie (Gillet et al, 2007).

2.1.7 Les toxi-infections alimentaires

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est définie par l'incidence de deux cas ou plus, d'une maladie similaire, à symptomatologie gastro-intestinale le plus souvent, dont la cause peut être similaire à une même origine alimentaire (Delmas et al, 2006).

Les TIAC à staphylocoques sont dues à l'ingestion d'entérotoxines staphylococciques, protéines préformées dans les aliments par des souches entérotoxigènes de staphylocoques à coagulase positive. Il s'agit en réalité d'une intoxication (ou intoxication alimentaire à Staphylocoques). L'espèce incriminée est principalement *S.aureus* (Le loir et Gautier, 2010).

2.1.8 Les infections nosocomiales

Le site de l'infection est variable selon l'unité de soins, le recrutement du service, les thérapeutiques ou les mesures préventives.

2.1.9 Bactériémies

Ces bactériémies surviennent principalement chez les patients ayant des facteurs prédisposant tels qu'une colonisation à *S.aureus*, la toxicomanie, le diabète insulino-dépendant, l'hémodialyse. La présence d'un cathéter central, de traitements immunosuppresseurs, de pathologies hépatiques et l'utilisation de corticoïdes représentent d'autres facteurs favorisant leur survenue (Mitchell et Howden, 2005). Les bactériémies sont dues à des infections locales tant extravasculaires (infection cutanée, ulcère, ostéomyélite, pneumopathie) qu'intravasculaires (Lowy, 1998).

2.1.10 Infections urinaires

Lorsqu'elle concerne *S.aureus*, l'infection urinaire se développe le plus souvent sur une sonde urinaire contaminée par une souche résistante à la méticilline. Les Infections urinaires sont prédominantes, cela s'explique par l'utilisation courante des bandelettes urinaires (Dia et al, 2008). 80% de ces infections sont associées à la mise en place d'une sonde vésicale. Étant donné que 15% des patients hospitalisés seront sondés au cours de leur hospitalisation, 1 à 4,5 % des infections urinaires vont se compliquer d'une bactériémie dite secondaire (Butrau-Lemaire et Botto, 1997)

2.1.11 Endocardites

Le plus souvent, l'endocardite à *S.aureus* est plutôt aiguë et se caractérise par une fièvre associée à une destruction valvulaire majeure. Dans le cas des endocardites survenant chez

les toxicomanes, du fait de l'inoculation veineuse, c'est la vulve pulmonaire localisée dans le cœurdroit qui est atteinte. Si l'endocardite n'intervient pas dans le contexte de toxicomanie, elle siège alors le plus souvent au niveau du cœur gauche, sur les valves mitrales et /ou aortiques. La maladie survient sur des valves souvent probablement altérées. Les patients sont souvent âgés et le taux de mortalité est plus élevé (entre 20 à 40%) (Lowy, 1998). En plus de l'âge, les facteurs classiques sont également retrouvés : syndrome métabolique, hospitalisation, chirurgie cardiaque préexistante, antécédents d'endocardite infectieuse, présence de dispositifs intravasculaires, sexe masculin (Murray, 2005).

2.2 Infections à staphylocoque chez les animaux

S. aureus est un pathogène important pour l'Homme mais pose également de réels problèmes en médecine vétérinaire et en production animale. En effet, cette bactérie est responsable d'infections chez une grande variété d'animaux comme le chat, le chien, le cheval, le cochon, le lapin, la volaille et les bovins (Weese, 2015). Comme chez l'Homme, les infections chez les animaux sont principalement des infections de la peau et des tissus mous et peuvent parfois être létales.

Dans les élevages bovins, *S. aureus* est responsable d'infections de la glande mammaire, ou mammites, pouvant être fatales. A ce titre, il est responsable de 5 à 30% des formes cliniques et de 5 à 10% des formes sub-cliniques de mammites (Peton et Le Loir, 2014). Chez les ovins, son rôle dans le développement des formes cliniques est plus élevé encore, puisqu'il est probablement le germe dominant, voire exclusif (Bergonier et al, 2003).

➤ Mammites à *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie fréquemment isolée de laits de mammites. Elle est particulièrement fréquente chez les ruminants laitiers, mais elle pose aussi des problèmes dans les élevages de lapins (Nussenblatt et al, 2005).

Les infections mammaires les plus fréquentes chez les ruminants laitiers sont provoquées par des staphylocoques coagulase-négatifs, mais les mammites dues à *S.aureus* s'en distinguent par une réaction inflammatoire plus forte ainsi que par un plus faible taux de guérison après traitement antibiotique. Ces caractéristiques font de *S.aureus* un des trois pathogènes majeurs actuellement en élevage laitier, avec *Escherichia coli* et *Streptococcus uberis* à la différence des deux derniers pathogènes, dont les habitats sont hors mamelle, on

considère que le principal réservoir de *S. aureus* est intra mammaire (Le Loir et Gautier, 2010).

➤ **Clinique**

Chez les petits ruminants, les infections sont en général plus sévères que chez les vaches. Les mammites gangreneuses sont assez fréquentes chez les brebis. La chèvre résiste assez bien à *S.aureus*, mais les concentrations cellulaires sont plus fortes que chez la vache dans les formes chroniques, et les formes gangreneuses sont moins rares chez la vache (Mercier et Pellet, 2003).

L'infection prolongée produit une induration du tissu mammaire, qui implique probablement une fibrose du parenchyme mammaire. La formation du micro-abcès est détectable à l'examen histologique, mais des abcès de taille plus importante peuvent être décelés à la palpation, en particulier chez les brebis. L'envahissement progressif de la glande n'est plus observé de nos jours, en raison des mesures (traitement ou réforme) qui sont prises pour réduire le risque de contagion dans le troupeau et la perte économique entraînée par une infection persistante (Le Loir et Gautier, 2010).



Figure3 : Mammites bovines (Fritih, 2020)

➤ **Transmission de *S. aureus***

Il a été démontré que ces infections peuvent être transmises directement de l'animal à l'Homme via la consommation de lait contaminé par exemple (Le Loir et *al*, 2003) ou de l'homme à l'animal, notamment lors de la traite des bovins (Juhasz-Kaszanyitzky et *al*,

2007 ; Morgan, 2008). Cette boucle Animal(Environnement)-Homme -Animal, associée à l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques, souligne l'importance de contrôles sanitaires stricts afin de contrôler ces infections dans les élevages et ainsi diminuer les chances de transmission de souche multi-résistantes à l'Homme.

CHAPITRE III : FACTEURS DE VIRULENCE STAPHYLOCOCCIQUES

1. Facteurs de virulence staphylococciques

S. aureus exprime pléthore de facteurs de virulence participant à l'ensemble des étapes de virulence. Chaque type d'infection nécessite une combinaison particulière de facteurs de virulence. De l'adhésion à la pénétration dans les tissus, la bactérie est capable de mettre en place les acteurs de la virulence au moment opportun. Ainsi, les protéines de surface sont synthétisées en début de croissance puis réprimées laissant alors la place à la synthèse de toxines (Dunman et *al*, 2001).

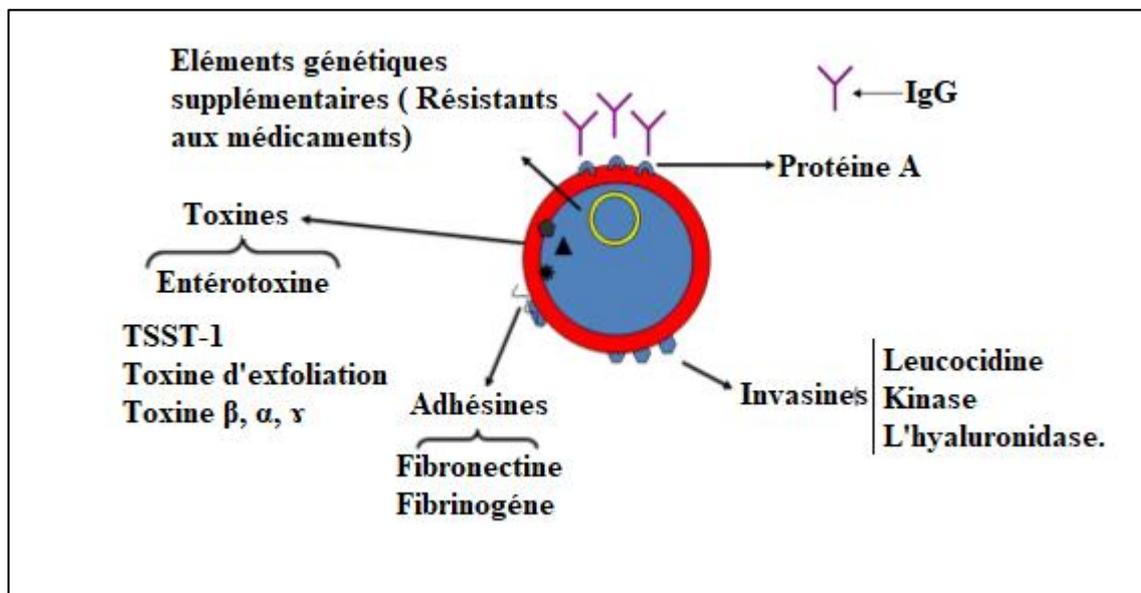


Figure 4 : Facteurs de virulence de *S. aureus* (Li, 2010)

1.1 Constituants de l'enveloppe

1.1.1 Le peptidoglycane

Le peptidoglycane est immunogène et mitogène, Il a une activité chimiotactique sur les neutrophiles en stimulant l'activation de la cascade du complément (Riber et al, 1990), la

sécrétion des cytokines par les macrophages ainsi que l'agrégation des plaquettes (Lowy, 1998). Bien que le peptidoglycane seul entraîne une faible induction de l'expression de cytokines, il a un effet synergique avec les acides téichoïques (Fournier et Philpott, 2005 ; Volz et al, 2010).

1.1.2 L'acide téichoïque

Il est lié au peptidoglycane (Wall Teichoic Acid WTA) ou bien à la membrane cytoplasmique (lipoteichoic acid LTA). Selon Xia et al (2010), l'acide téichoïque assure trois rôles :

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

1.1.3 La capsule

La capsule bactérienne est une structure externe, non constante qui tapisse la membrane externe. Elle est considérée comme un facteur de virulence à part entière. Cette capsule est composée de polysaccharides synthétisés à partir d'UDP-N-acetyl glucosamine (O'Riordan et Lee, 2004). La capsule produite par *S. aureus* est divisée en 11 sérotypes (Sompolinsky et al, 1985). Les sérotypes 5 et 8 sont les principaux rencontrés en pathologie humaine (Lowy, 1998 ; Durand et al, 2006) et sont associés à l'augmentation de la virulence chez l'animal (Thakker et al, 1998).

1.2 Composants de surface

1.2.1 La protéine A

La protéine A codée par le gène *spa* est considérée comme un facteur de virulence majeur et pléiotropique chez *S. aureus*. Cette protéine de surface possède de multiples rôles dans l'interaction avec les cellules hôtes durant le cycle infectieux (Foster, 2005).

Cette exoprotéine de 42 kda, peut exister à la fois sous forme sécrétée ou associée à la paroi. Elle possède 5 domaines extracellulaires (notés A, B, C, D et E), et ancrée dans la paroi par son extrémité C-terminale et possède le motif LPXTG d'adressage à la membrane (Uhlen et al, 1984). Elle se fixe sur le fragment *Fc* des immunoglobulines de classe G et M, ce qui perturbe l'opsonisation et donc la phagocytose de la bactérie (Flugi et al, 2013). Elle a un rôle dans le phénomène d'agrégation bactérienne et favorise le développement de biofilms,

renforçant ainsi l'adhésion et la protection de la bactérie face à l'action des agents antimicrobiens produits par les cellules immunitaires (Merino et al, 2009).

1.2.2 Les adhésines

Ce sont des molécules impliquées dans l'adhésion, classées en deux groupes "Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules" ou (MSCRAMMs) et "Secretable Expanded Repertoire Adhesive molecules" ou (SERAMs) (Chavakis et al, 2002).

Les MSCRAMMs

Les MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) sont des protéines associées au peptidoglycane (PDG) de la bactérie par des liaisons covalentes. Ces adhésines sont responsables de l'attachement de la bactérie à différentes matrices extracellulaires comme le collagène, le fibrinogène ou la fibronectine et initient la colonisation (Le Loir et Gautier, 2010). Il existe une vingtaine de MSCRAMMs chez *S. aureus* (Patti et al, 1994; Clarke et Foster, 2006) dont les principales sont : les protéines de liaison à la fibronectine, FnbpA et B (Fibronectin binding protein A et B) (Jonsson et al, 1991), la protéine de liaison au collagène, Cna (collagen binding protein) (Switalski et al, 1989) ainsi que les protéines de liaison au fibrinogène ClfA et ClfB (clumping factor A et B) (McDevitt et al, 1994 ; Ni Eidhin et al, 1998).

Les SERAMs

Une deuxième classe d'adhésines a été décrite plus récemment, les SERAMs pour secretable expanded repertoire adhesive molecules. Elle regroupe les protéines Eap (Extracellular adherence protein), Emp (Extracellular matrix binding protein), Efb (Extracellular fibrinogen binding protein) ainsi que la coagulase. Ces protéines sont sécrétées et se fixent par des liaisons non covalentes à plusieurs protéines du plasma et de la matrice extracellulaire. Les liaisons mises en place seraient de type hydrophobe ou électrostatique. En plus de leurs propriétés d'adhésion, ces molécules sont connues pour avoir une activité immunomodulatrice. Elles sont impliquées dans les pathologies endo- et extra- vasculaires aiguës ou chroniques (Chavakis et al, 2005).

1.3 Les composants sécrétés

1.3.1 Les exoenzymes et les protéines

- **La coagulase libre :**

Appelée aussi staphylocoagulase, c'est une protéine extracellulaire thermostable caractéristique de *S. aureus* (Langlet et al, 1999). En l'absence de Ca^{2+} , elle provoque la coagulation du plasma humain ou du lapin (prélevé sur citrate, oxalate, héparine ou EDTA) (Avril et al, 1992). La coagulase forme avec la prothrombine (coagulase-reacting factor : CRF) du plasma, un complexe appelé Staphylothrombine qui converti le fibrinogène en fibrine (Peacock, 2006). C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et les protégeant de la phagocytose (les leucocytes ayant une mauvaise pénétration à l'intérieur des caillots de fibrine) (Tally, 1999); elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées (Avril, 1992).

- **La fibrinolysine (staphylokinase)**

La staphylokinase (Sak) est une enzyme sécrétée de 15,5 kDa codée par un bactériophage (Sako et Tsuchida, 1983 ; van Wamel et al, 2006). Cette enzyme permet la conversion du plasminogène humain en plasmine. Cette activation conduit à la lyse des thrombus riches en bactéries et induit la formation de foyers septiques secondaires. Cette staphylokinase présente des propriétés anti-opsonisation. La plasmine activée par la staphylokinase est une puissante sérine protéase capable de cliver et d'inactiver l'immunoglobuline G et la fraction C3b humain, inhibant de ce fait, la phagocytose (Rooijackers et al, 2005). La staphylokinase est également capable de cliver la fibrine, l'élastine et le collagène présents autour du site infectieux pour faciliter l'entrée de *S. aureus* (Bokarewa et al, 2006).

- **Les lipases**

Les lipases sont un ensemble de protéines regroupant les lipases elles-mêmes, les phosphatases et les estérases (hu et al, 2012). Les lipases ont démontré un chimiotactisme envers les granulocytes et permettent une diminution de la phagocytose (Rollof et al, 1988). L'association des lipases et d'une enzyme appelée FAME pour Fatty Acid Modifying Enzyme, capable d'estérifier les acides gras en cholestérol, permet de favoriser l'entrée de la bactérie au niveau cutanée. En effet, les acides gras retrouvés dans les abcès ont montré des

propriétés toxiques pour *S. aureus*. Leur estérification abolit cet effet et permet à la bactérie de coloniser plus aisément les lésions cutanées (Chamberlain et Brueggemann, 1997 ; Lu et al, 2012).

- **Hyaluronidase**

La hyaluronidase est une enzyme extracellulaire thermolabile qui digère l'acide hyaluronique. Cette dépolymérisation de l'acide hyaluronique, substance fondamentale de la matrice du tissu conjonctif de l'hôte, contribue au processus infectieux en favorisant la dissémination via la dégradation des tissus (Farell et al, 1995). Au sein du genre *Staphylococcus*, seule *S. aureus* possède cette enzyme (Hart, Roop, 2009).

- **La nucléase**

S. aureus est la seule espèce du genre *Staphylococcus* à produire une nucléase thermostable. Elle permet ainsi une identification rapide de *S. aureus* dans des cultures de sang (Madison, Baselski, 1983). Elle a une activité exo- et endo-nucléasique qui lui permet de dégrader l'ADN mais aussi l'ARN des cellules de l'hôte. Elle est active à pH alcalin en présence de calcium (Hu, 2013).

- **Les protéases**

Ces enzymes sont réparties en 3 familles, sérine-, cystéine- et métalloprotéases (Shaw et al, 2004 ; Fischetti et Tedesco, 2006). Les protéases sont secrétées sous forme de proenzymes n'ayant pas ou peu d'activité protéolytique, leur mutation se traduit par un clivage qui est réalisé par les protéases elles-mêmes (Boisset et Vandenesch, 2010). Quant à leur rôle, des études ont montré que les protéases pouvaient dégrader des protéines de l'hôte comme les chaînes lourdes des immunoglobulines, des inhibiteurs de protéases ou encore l'élastine (Prokesova et al, 1992).

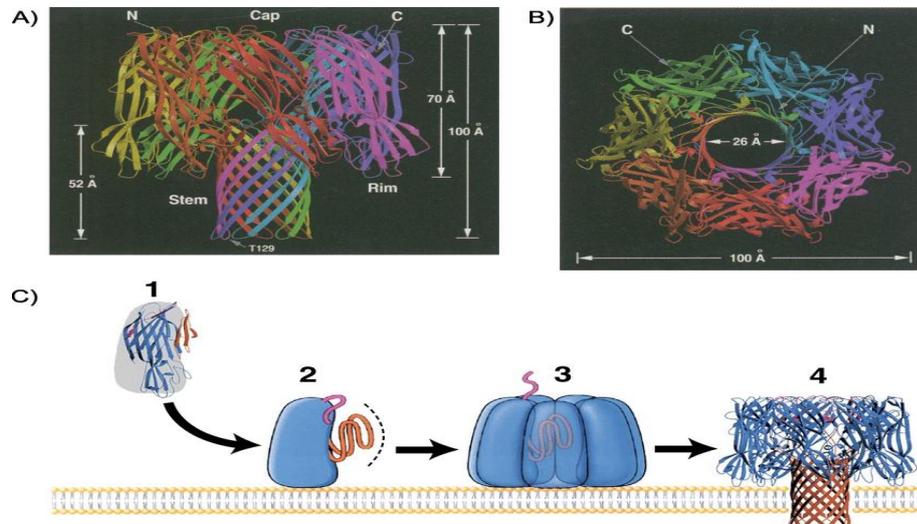
1.3.2 Les toxines

- **Les hémolysines**

- ✓ **L'hémolysine α**

La toxine α ou hémolysine α , codée par le gène *hla*, représente l'archétype de ces toxines. Elle est secrétée sous forme monomères qui se regroupent en un heptamère lytique dans la membrane plasmique des cellules cibles, telles que les érythrocytes, les lymphocytes, les

plaquettes, les kératinocytes et les fibroblastes humains. Les érythrocytes de lapin sont particulièrement sensibles à l'hémolysine α (Song et *al*, 1996).



✓ L'hémolysine β

L'hémolysine β est codée par le gène *hlb*. Cette toxine est une phospholipase C possédant une activité sphingomyélinase permettant la dégradation de la sphingomyéline présente sur la membrane des érythrocytes. Selon l'espèce, la teneur en sphingomyéline des érythrocytes est plus ou moins importante. Cette différence s'explique par le fait que les hématies murines, pauvres en sphingomyéline ne soient pas lysées par l'*hlb*, contrairement aux hématies de mouton, riches en sphingomyéline qui sont fortement lysées (Dinges et *al*, 2000).

✓ L'hémolysine delta (δ)

L'hémolysine δ est une toxine singulière par sa taille de 26 acides aminés, sa stabilité à la chaleur et sa capacité à agir comme un surfactant au niveau des membranes. Cette toxine, codée par le gène *hld*, se présente sous la forme d'une hélice alpha possédant des domaines hydrophobes (Janzon et *al*, 1989). Sa structure lui permet de former des cylindres hydrophobes pour perméabiliser la membrane des cellules cibles.

✓ L'hémolysine gamma

L'hémolysine γ est responsable de la lyse des érythrocytes et des leucocytes. Il existe deux combinaisons possibles pour former l'hémolysine γ : HlgA/HlgB ou HlgB/HlgC, la première étant particulièrement active sur les hématies murines, alors que la deuxième est active sur les hématies humaines et de lapin (Vandenesch et *al*, 2012). Selon la combinaison, la spécificité de l'hémolyse est plus ou moins importante (Dinges et *al*, 2000).

✓ **La leucocidine de Panton-Valentine(LPV)**

La leucocidine de Panton Valentine ou LPV entraîne la lyse des polynucléaires et des monocytes/macrophages et est responsable entre autre des pneumonies nécrosantes (Labandeira-Rey et *al*, 2007). La PVL est composée de 2 sous-unités protéiques, LukS-PV et LukF-PV. Ces deux composés sont sécrétés séparément et s'associent en octamère à la surface des cellules cibles par assemblage à partir de la fixation initiale du composé LukS-PV. Le récepteur de LukS-PV à la surface des cellules myéloïdes a été récemment identifié ; il s'agit de C5aR, le récepteur d'un composé du complément (C5a) (Spaan et *al*, 2012). La fixation à C5aR permet l'oligomérisation, laquelle induit la formation d'un pore à travers la membrane de la cellule et induit sa lyse. Il a été démontré que les deux sous-unités étaient nécessaires pour induire la formation du pore (Prevost et *al*, 1995).

✓ **Exfoliatine**

Il existe à ce jour quatre exfoliatines (ET), elles provoquent le syndrome d'exfoliation généralisé (ou syndrome de la peau ébouillantée) ainsi que l'impétigo bulleux staphylococcique. De ces quatre exfoliatines, on rencontre généralement ETA (gène *eta*) et ETB (gène *etb*) et plus rarement ETD (gène *etd*) lors d'une infection à *S. aureus*. Les données scientifiques sur les exfoliatines sont encore limitées mais il a été rapporté qu'elles agiraient en intra-épidermique en coupant la desmogléine entre la couche épineuse (stratum spinosum) et la couche granuleuse (stratum granulosum) de la peau ce qui entrainerait des lésions bulbeuses (Amagei et *al*, 2000).

✓ **Les super-antigènes**

La famille des toxines superantigéniques regroupe 20 toxines : les entérotoxines staphylococciques (SEA à SEE, SEG à SER, SEU et SEV) et la TSST-1 (toxic shock syndrom toxin 1) (Fraser et Proft, 2008). Ces superantigènes possèdent des propriétés

émétisantes et sont impliqués dans les toxi-infections alimentaires. Grâce à leur capacité de liaison au complexe majeur d'histocompatibilité de type II (CMHII) des cellules présentatrices d'antigènes et aux récepteur $V\beta$ des lymphocytes T, ces toxines entraînent une activation polyclonale des lymphocytes T qui vont libérer des cytokines pro-inflammatoires en grande quantité. Cette libération de cytokines va provoquer le syndrome du choc toxique staphylococcique (Fraser et Proft, 2008). Ce dernier est provoqué par une toxine TSST1 ; une protéine extracellulaire qui agit comme un superantigène et une fois dans le sang, elle va induire une forte réponse inflammatoire conduisant notamment à la libération de grande quantité de $TNF\alpha$, conduisant au syndrome de choc toxique (Jupin et *al*, 1988).

✓ Les entérotoxines staphylococciques

Les entérotoxines sont responsables d'intoxications alimentaires dues à la consommation d'aliments contaminés par *S. aureus*. Ce sont des protéines thermostables sécrétées par *S. aureus* dans l'aliment et résistantes aux enzymes protéolytiques. Il existe plusieurs variantes antigéniques d'entérotoxines, néanmoins, ce sont toutes de puissants superantigènes capables de stimuler la prolifération non spécifique des lymphocytes T (Balaban et Rasooly, 2000).

A ce jour plus de 19 ES différentes ont été identifiées. SEA, SEB, SEC, SED et SEE représentent les entérotoxines staphylococciques classiques, elles sont bien caractérisées et leur implication dans les cas d'intoxication alimentaires a été démontrée (Bayles et Iandolo, 1989). Le type C est subdivisé en groupe SEC1, SEC2, SEC3, SEC bovine et SEC ovine classé sur la base de différences d'activité superantigéniques et en fonction de l'hôte auquel elles sont associées (Marr et *al*, 1993).

Elles sont riches en lysine, acide aspartique, acide glutamique et tyrosine. La plupart possèdent un pont disulfure nécessaire à leur conformation et probablement impliqué dans l'activité émétique. 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, la rénine et papaine (Balaban, 2000).

Les ES sont également très thermorésistantes. Elles sont réputées plus thermorésistantes dans les aliments qu'en milieu de culture, en condition de laboratoire mais elles peuvent être inactivées par les traitements thermiques utilisés en appertisation lorsqu'elles sont présentes en faible concentration (WHO, 2004).

1.4 Régulation des facteurs de virulence

Le système de régulation le plus connu est le système *agr* mais on en dénombre seize en 2004 (Cheung et al, 2004).

Le système *agr* est habituellement décrit pour son action duale : il réprime la transcription d'un grand nombre de protéines de paroi (protéine A, coagulase, protéine liant la fibronectine) et active la transcription de nombreuses exoprotéines (toxine alpha, hemolysine beta, TSST, leucotoxines) durant la phase exponentielle de croissance. L'analyse du transcriptome réalisé par Dunman et al en 2004 a identifié 104 gènes activés et 34 réprimés par le système *arg*. L'effecteur de ce système est une molécule d'ARN, l'ARNIII qui module l'expression des facteurs de virulence à la fois au niveau transcriptionnel et au niveau post transcriptionnel (Morfeldt et al, 1995 ; Novick et al, 1993).

CHAPITRE IV: Résistance de *S.aureus* aux antibiotiques

1. Historique

La découverte des antibiotiques comme un ensemble de travaux scientifiques visant à lutter contre les maladies infectieuses du début du 20^{ème} siècle comme, notamment la syphilis ou la tuberculose.

Les différents travaux ont commencé tout d'abord par la thèse du Dr Duchesne (médecin militaire) en 1887 qui ont mis en évidence une concurrence biologique entre des moisissures et des bactéries. Puis, en 1928 le Dr Fleming (bactériologiste) redécouvre par hasard la pénicilline au retour de ses vacances en observant sur des boîtes de Pétri à l'abandon une moisissure qui détruit des staphylocoques et constate que ces dernières ne se développent pas à proximité du champignon. Pour lui, il semble que le champignon synthétise une substance qui bloque le développement de la bactérie et l'appelle alors la « pénicilline » (Brezinski, 2006).

En 1944, Selman Waksman, Albert Schatz et E. Bugie ont découvert la streptomycine, le premier antibiotique ayant un effet sur le bacille de Koch, rendant ainsi possible le traitement de la tuberculose. Cependant, lors de ses recherches, Waksman a réussi à produire d'autres antibiotiques comme la clavacine, la streptothricine (1942), la griséine (1946), la néomycine (1948), la fradicine, la candidine, et bien d'autres.

Dès 1947, le rythme des recherches s'accélère et plusieurs antibiotiques vont voir le jour : l'auréomycine par Duggar en 1948, terramycine de Finlay et ses collaborateurs en 1950, toutes sont deux dérivées de la recherche sur la streptomycine. (Abastado, 2006).

2. Définition d'un antibiotique

Le terme antibiotique a été inventé à partir du mot «antibiose», ce qui signifie littéralement «contre la vie». Dans le passé, les antibiotiques étaient considérés comme des composés organiques produits par un micro-organisme toxique pour un autre microorganisme (Russell, 2004). À la suite de cela, un antibiotique était à l'origine, largement défini comme une substance, produite par un microorganisme (Denyer et al, 2004), ou d'origine biologique (Schlegel, 2003) qui à de faibles concentrations peuvent inhiber la croissance ou sont mortelles à d'autres micro-organismes (Russell, 2004).

Cependant, cette définition a été modifiée dans les temps modernes, pour inclure des antimicrobiens qui sont également produits en partie ou en totalité par des moyens synthétiques. Alors que certains antibiotiques sont capables de tuer complètement d'autres bactéries, certaines ne peuvent que freiner leur croissance. Ceux qui tuent les bactéries sont appelées bactéricides tandis que ceux qui inhibent la croissance bactérienne sont appelés bactériostatiques (Walsh, 2003). Bien que l'antibiotique se réfère généralement à antibactérien, les composés antibiotiques sont différenciés comme antibactériens, antifongiques et antiviraux pour refléter le groupe de micro-organismes qu'ils antagonisent (Brooks et *al*, 2004; Russell et *al*, 2004)

3. Classification et mode d'action des antibiotiques

Il existe plusieurs façons de classer les antibiotiques, mais les schémas de classification les plus courants sont basés sur leurs structures moléculaires, leur mode d'action et leur spectre d'activité (Calderon et Sabunday, 2007). D'autres incluent la voie d'administration (injectable, orale et topique). Les antibiotiques appartenant à la même classe structurelle présenteront généralement un schéma similaire d'efficacité, de toxicité et d'effets secondaires allergiques potentiels.

Certaines classes courantes d'antibiotiques basées sur des structures chimiques ou moléculaires comprennent les bêta-lactames, les macrolides, les tétracyclines, les quinolones, les aminosides, les sulfamides, les glycopeptides et les oxazolidinones (Van Hoek et *al*, 2011; Frank et Tacconelli, 2012; Adzitey, 2015).

✓ Classification par familles d'antibiotiques

Il existe plusieurs familles d'antibiotiques, les principales sont :

- BETA-LACTAMINES

pénicillines (G, M, A) ex : amoxicilline

- céphalosporines (1ère, 2ème, 3ème génération)
- inhibiteurs de bêta lactamases ex : acide clavulanique
- monobactames

- AMINOSIDES

- PHENICOLES

- CYCLINES

- MACROLIDES ET APPARENTES

- QUINOLONES

- quinolones de 1ère génération
- fluoroquinolones

- POLYPEPTIDES

- NITROFURANES

- RIFAMYCINES

- GLYCOPEPTIDES

- SULFAMIDES ET ASSOCIATIONS

- NITRO-IMIDAZOLES

- ANTI-TUBERCULEUX

- DIVERS

- acide fudidique
- fosfomycine
- oxazolidinomes

- ✓ **Différents mécanismes d'actions des antibiotiques**

La puissance antimicrobienne de la plupart des classes d'antibiotiques est dirigée vers une caractéristique unique de la structure bactérienne ou de leurs processus métaboliques. Les mécanismes d'actions des antibiotiques sont les suivants:

- Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire ;
- Décomposition de la structure ou de la fonction de la membrane cellulaire ;
- Inhibition de la structure et de la fonction des acides nucléiques ;
- Inhibition de la synthèse des protéines Blocage des voies métaboliques clés (Talaro et Chess, 2008;Wright, 2010).

4. Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est évoquée par le Dr Fleming dès 1945 lors de la remise de son prix Nobel: " Le jour viendra où n'importe qui pourra acheter de la pénicilline en magasin. Alors il existera un danger pour qu'un homme mal renseigné s'administre un traitement sous dosé et rende ses microbes résistants" (Andremont, 2014).

Ce problème mineur au départ est désormais devenu un enjeu majeur de santé publique mondiale (OMS, 2014).

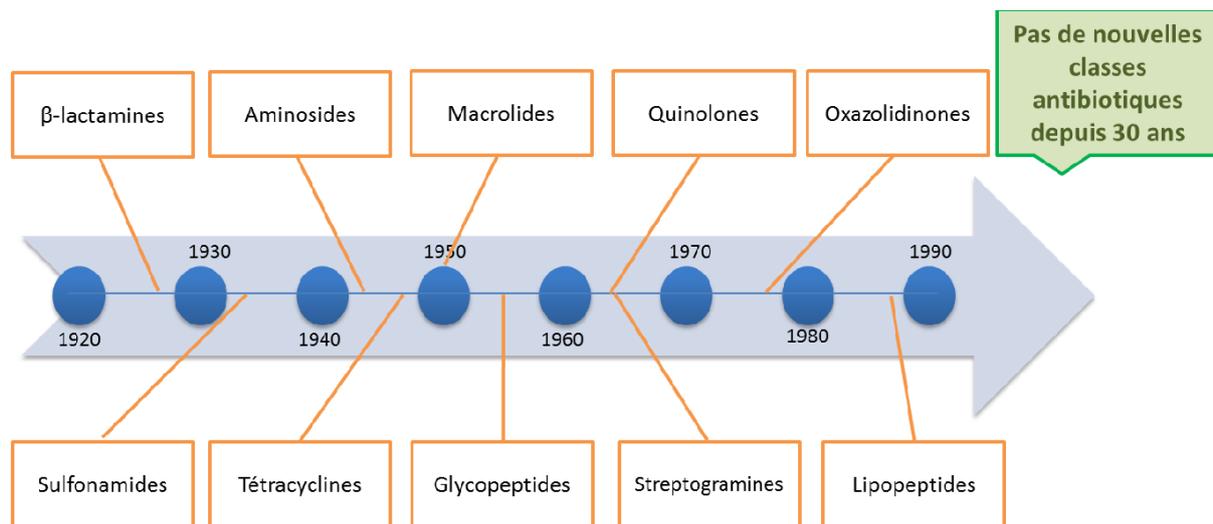


Figure 6 : Chronologie de la découverte des différents antibiotiques (Muller, 2017)

La résistance aux antibiotiques ou antibiorésistance est la capacité d'un micro-organisme à résister aux effets des antibiotiques. C'est la capacité de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce (Le Loire et Gautier, 2010)

Selon Courvalin (2008), deux types de résistance sont décrits ; la résistance naturelle et la résistance acquise.

- **Résistance naturelle ou intrinsèque** : se définit par la présence d'une résistance existante chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre. Cette résistance naturelle est liée à un patrimoine génétique et y est inscrite dans la génétique de ces bactéries, on trouve ainsi des gènes de résistance sur leur chromosome. Elle est toujours transmissible à la descendance.
- **Résistance acquise** : la résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique, soit par acquisition des gènes transférés d'un autre microorganisme. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien.

4.1 Principaux mécanismes de résistance

Selon Jacquier (2011), un antibiotique pour agir, devra dans un premier temps pénétrer dans la bactérie, il devra ensuite arriver à sa cible (via un transporteur ou par diffusion passive) puis se fixer à sa cible pour produire son effet bactéricide ou bactériostatique. Chacune de ces étapes est un point faible pour l'antibiotique, les mécanismes de résistance sont au nombre de quatre (**Figure 7**) et agissent au niveau de ces étapes :

- Diminution de la pénétration de l'antibiotique
- Inactivation ou excrétion de l'antibiotique par les systèmes enzymatiques bactériens - Défaut d'affinité cible
- Antibiotique via une modification de la cible
- Protection de la cible par une protéine.

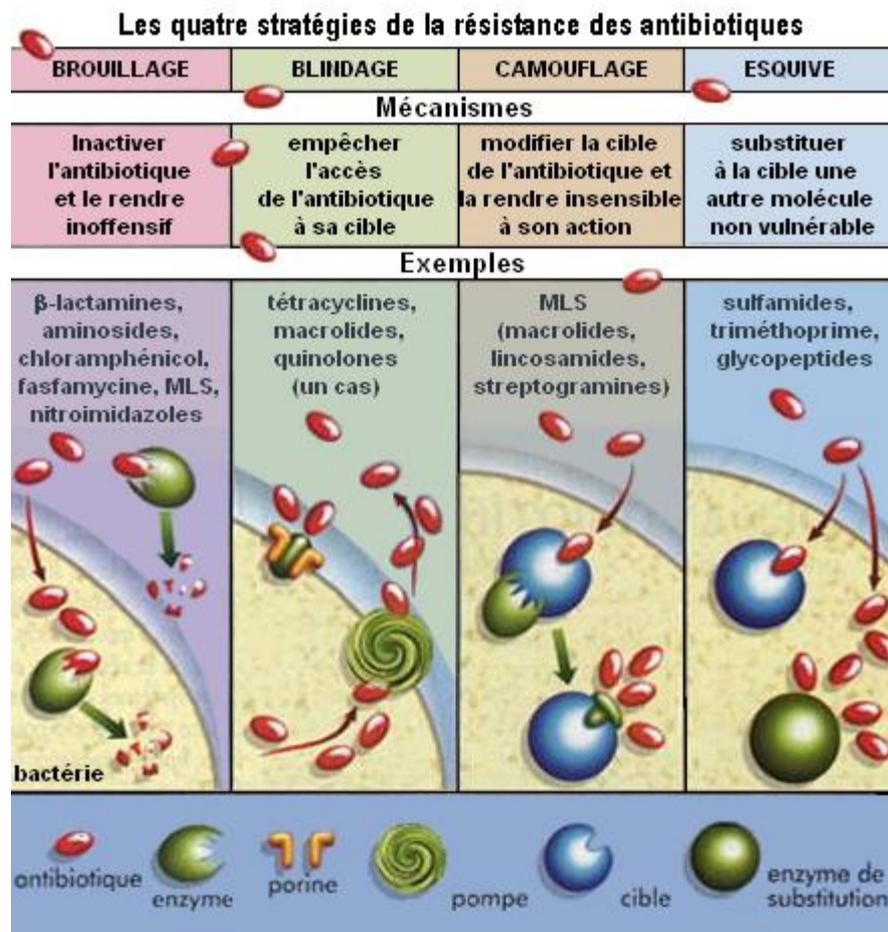


Figure 07: Stratégies bactérienne de la résistance aux antibiotiques (Fournier, 2003)

4.2 Résistance de *S.aureus* aux antibiotiques

4.2.1 Résistance aux β -lactamines

❖ Production de β -lactamases

Ces enzymes catalysent l'hydrolyse de la liaison β -lactame de l'antibiotique produisant des molécules sans activité sur la bactérie. Il s'agit du principal mécanisme de résistance des Gram négatifs. Chez les Gram positifs, il concerne principalement *Staphylococcus aureus*.

Ces enzymes peuvent être présentes de façon constitutive, c'est-à-dire que l'enzyme est fabriquée par la bactérie via sa génétique, elles sont alors exprimées de façon continue par l'espèce. Elles peuvent être également inductibles, c'est-à-dire que ces enzymes ne sont secrétées que si l'antibiotique est présent.

Ce type de résistance est très souvent porté par un plasmide, c'est le cas du plasmide TEM-1 portant le gène blaTEM-1 codant pour une β -lactamase qu'on retrouve dans beaucoup d'espèce (Cooksey et al, 1992).

❖ Modification de la cible PLP

Il s'agit d'une résistance acquise par modification de la cible principale de nombreuses β -lactamines, la protéine liant la pénicilline (PLP2). La nouvelle PLP2a produite a une faible affinité vis-à-vis des β -lactamines. Cette résistance est à considérer comme croisée pour l'ensemble des β -lactamines mais son expression peut être hétérogène au sein d'une même souche. Ils existent quatre classes d'expression (classes I, II, III et IV) (Tomasz et al, 1991). La PLP2a possède la capacité de catalyser seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont inactivées par les β -lactamines.

D'un point de vue génétique, la PLP2a est codée par le gène *mecA* se trouvant sur un fragment d'ADN additionnel présent chez les *S. aureus* résistants à la métiline (SARM) et absent chez les *S. aureus* sensibles à la métiline (SASM). Le gène appartient à la famille des cassettes chromosomiques staphylococciques *mec* (*SCCmec*) (Katayama et al, 2000). L'origine de *SCCmec* se trouverait chez le *Staphylococcus sciuri* (Wu et al, 1996).

Résistance aux bêta-lactamines

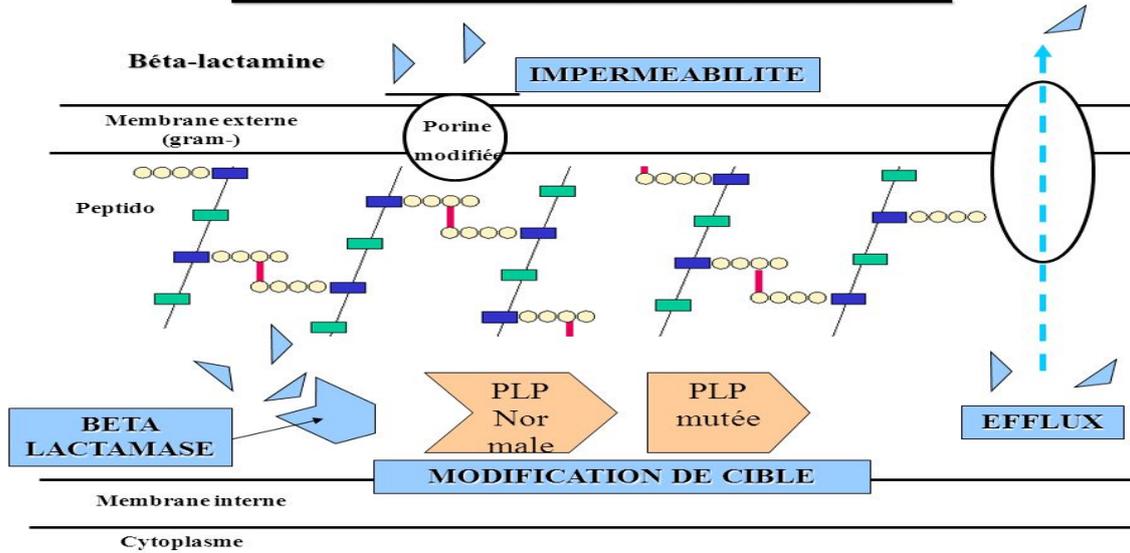


Figure8 : Résistance de *S.aureus* aux β -lactamines (Mainardi, 2015).

4.2.2 Résistance aux glycopeptides

La résistance des *S. aureus* est liée à une diminution de la pénétration des glycopeptides dans la bactérie. Le D-alanyl-D-alanine se retrouve en abondance dans la paroi du staphylocoque et est capable de piéger et d'immobiliser les molécules d'antibiotiques lors de la phase de pénétration.

Cette résistance est due à une anomalie de la biosynthèse du peptidoglycane et est connue chez les souches glycopeptide-intermediate *S. aureus* (GISA) ou vancomycine-intermediate *S. aureus* (VISA).

Une autre résistance plus rare est connue chez les souches vacomycin-resistant *S. aureus* (VRSA). La chaîne pentapeptidique du peptidoglycane change dans sa partie terminale. On retrouve un dimère D-alanyl-D-lactate et l'antibiotique présente une très faible affinité avec ce nouveau dimère terminal (Lowry, 2003).

4.2.3 Résistance aux aminoglycosides

Les aminoglycosides sont des antibiotiques à très large spectre (STRAHILEVITZ et HOOPER, 2009). Les aminosides sont surtout utilisés en association avec les β -lactamines ou les glycopeptides avec lesquels, ils synergisent en bactéricidie (Bismuth et Leclercq, 2000).

Deux mécanismes sont impliqués dans la résistance chez les staphylocoques :

Altération de la cible ribosomale : celle-ci concerne principalement la Streptomycine, qui par sa fixation sur une protéine ribosomale, permet la sélection de mutants résistants. Ce mécanisme est en revanche exceptionnellement en cause pour les autres aminosides étant donné que ceux-ci ont plusieurs sites de fixation ribosomaux qui ne se chevauchent pas (Then, 1989).

Modification enzymatique des aminosides : c'est le mécanisme de résistance le plus répandu. La synthèse de ces enzymes est codée par des gènes plasmidiques ou transposables (Shaw et al, 1993). Ces enzymes sont divisées en trois classes en fonction de la réaction biochimique qu'elles catalysent :

- Acétylation d'un groupement aminé : aminoside acétyltransférases (AAC)
- Phosphorylation : aminoside phosphotransférases (APH),
- Adénylation : aminoside nucleotidyltransférases (ANT)

Chaque enzyme est dénommée en fonction de la molécule qu'elle modifie et reconnaît un certain nombre d'aminosides qu'elle modifie, ce qui se traduit par un phénotype de résistance (Bismuth et Caillon, 1990) .

4.2.4 Résistance aux fluoroquinolones :

Il existe deux mécanismes de résistance de type chromosomique exclusivement. La première étant liée à une surexpression des protéines, codées par le gène *NorA5* (Crozes et al, 2005), permettant l'éjection des fluoroquinolones (efflux) hors du cytoplasme de la bactérie. En d'autres termes, il y a une mutation des pompes Multi Drug Resistance (MDR) qui se retrouvent en plus grande quantité ou qui voient leur affinité augmentée avec l'antibiotique (De Marco et al, 2007).

La seconde est une mutation du gène *parC* codant une partie de la topoisomérase IV (sous-unité C), l'antibiotique ne pourra plus se fixer sur le complexe ADN/ topoisomérase et il n'aura plus d'effet. Ce dernier mécanisme de résistance est de haut niveau (Lowry, 2003).

4.2.5 Résistance aux quinolones

Le mécanisme le plus fréquent de résistance pour les quinolones est la résistance par modification de la cible autrement dit par modification des topoisomérases. Des mutations au niveau des gènes codant pour l'ADN gyrase (gènes *gyrA* et *gyrB*) ou pour la topoisomérase IV (gène *parC* et *parE*) entraînent la synthèse d'enzymes modifiées de faible affinité pour les quinolones. Il peut y'avoir ensuite une résistance par défaut de pénétration au niveau de la

bactérie, c'est le cas lorsqu'il y a une diminution du nombre de porines. On trouve également une autre résistance par efflux qui est décrite, les quinolones sont alors repoussées et en concentration insuffisante pour réaliser leur action. Un autre phénomène décrit plus récemment concerne la résistance par protection de la topoisomérase. Cette résistance est conférée par un plasmide portant un gène dont l'expression aboutit à la protéine Qnr. Cette protéine va se fixer sur l'ADN gyrase et la protéger de l'action des quinolones. Ce type de résistance est néanmoins assez rare (Griffiths *et al*, 2000 ; Mérens et Servonnet, 2010).

4.2.6 Résistance aux tétracyclines et glycylcyclines

Il existe deux types de résistance aux tétracyclines. La première est liée à un plasmide (le plus connu est pT181), elle entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines Tet situées dans la membrane interne.

La seconde résistance entraîne une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines Tet. La protéine Tet(K) est l'une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines et les protéines Tet(O) ou Tet(M) vont protéger les sites actifs ribosomiaux 5(Taylor *et al*, 1995)

4.2.7 Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

Les MLS représentent trois classes d'antibiotiques complètement différentes au niveau de leur structure. Cependant, elles ont un mode d'action similaire. Les MLS se fixent sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien, inhibant ainsi l'étape de translocation lors de la traduction. Elles peuvent donc être sujettes aux mêmes mécanismes de résistance (Donnio, 2010).

La résistance aux MLS est due à trois mécanismes : La modification de la cible des antibiotiques, la modification des antibiotiques et l'efflux actif de ceux-ci.

- ❖ **La modification de la cible** est de loin le mécanisme le plus répandu et confère un spectre de résistance croisée entre macrolides, lincosamides et streptogramines B. En effet, les souches résistantes produisent une méthylase responsable de la diméthylation d'une adénine de l'ARN23S de la sous-unité ribosomale 50S (Weisblum, 1995).

- ❖ **La modification des antibiotiques** est due à diverses enzymes spécifiques chacune d'une classe d'antibiotique et qui confèrent donc un spectre étroit de résistance. Une inactivation enzymatique des macrolides à noyau à 14 atomes (érythromycine,

oléandomycine, clarithromycine) et à 16 atomes (spiramycine, josamycine, rosaramycine) mais non de l'azithromycine, apparemment due à une estérase a été rapportée chez une souche clinique de *S. aureus*, par ailleurs résistante à l'érythromycine par efflux actif (Wondrack, 1996).

- ❖ **Le mécanisme d'efflux actif** : consiste à l'expulsion des molécules d'antibiotiques à l'extérieur de la cellule. Ce mécanisme est décrit pour les macrolides et les streptogramines (Tankovic et *al*, 1997).

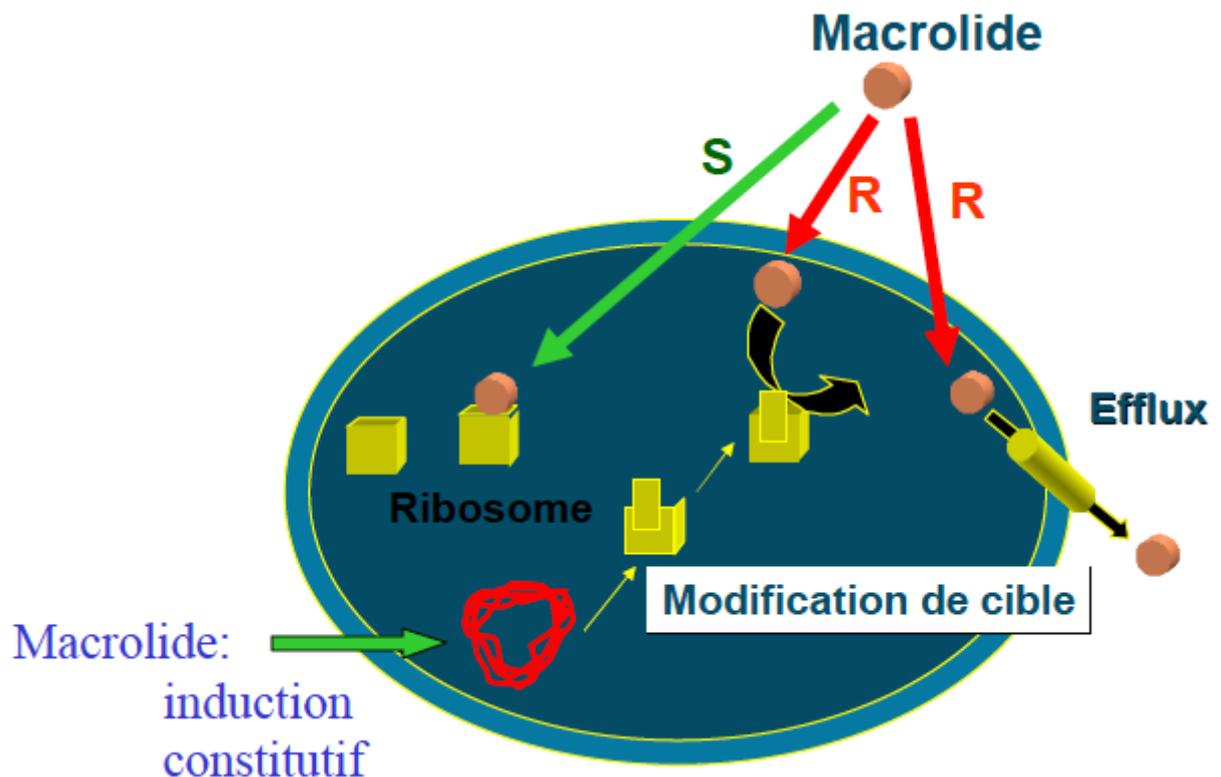


Figure9: Mécanisme d'action et de résistance des MLS (Boutiba-Ben Boubaker I, 2009).

4.2.8 Résistance aux sulfamides

La résistance à cette classe d'antibiotique peut trouver sa cause dans divers mécanismes. Une imperméabilité aux antibiotiques d'origine chromosomique ou plasmidique, une augmentation significative de DHPS (Dihydropteroate Synthase) ou de DHFR (Dihydrofolate

Réductase) par hyperproduction, enfin la présence de DHPS ou de DHFR distincts (acquis par un gène plasmidique ou par suite de mutation génique) ne subissant pas l'action des antibiotiques (Ait Mouhoub, 2015).

1. Matériels et méthodes

1.1 Objectifs de l'étude

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

1.2 Matériel de prélèvement

- Écouvillons stériles.
- Bouillon Muller-Hinton (CondaPronadisa, Espagne).
- Flacons en plastiques térides.

1.2.1 Matériel biologique

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

1.2.2 Matériel de laboratoire

➤ Équipements

- Étuve microbiologique (Mettler, Germany)
- Bec Bunsen
- Balance électronique (Denver instrument, USA)
- Spectrophotomètre (Medline, United Kingdom)
- Réfrigérateur (Essalem Electronics, Algérie)
- Vortex (Heidolph, Germany)
- Bain-Marie (Mettler, Germany)

- Autoclave (pbi international, Milano)
- Gants
- Glacière
- **Verrerie et outils** : boîtes de Pétri, tubes à essai, pipettes Pasteur, écouvillons, tubes à hémolyse, anse à boucle, micropipette, spatules, cuves de spectrophotomètre, flacons en verre, pince bactériologique, Portoirs, Lame en verre.
- **Milieux de culture et réactifs** :
 - Bouillon Clark et Lubs (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
 - Gélose Baird Parker (Conda Pronadisa, Espagne)
 - Téllurite de potassium (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
 - Émulsion de jaune d'œuf
 - Gélose Muller-Hinton (Conda Pronadisa, Spain)
 - Gélose à ADN (Conda Pronadisa, Espagne)
 - Milieu TSYEA (Conda Pronadisa, Spain)
 - Bouillon cœur-cerveille (Biokar, France)
 - Plasma de lapin (Biorad, France)
 - Voges Proskauer I (VPI : NaOH 16%) et II (VP II : α Naphtol 6%) (Institut Pasteur d'Alger, Algérie)
 - HCl 2N (MERCK, Germany)
 - Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Cosmania, Algérie)
 - Eau physiologique stérile
 - Eau distillée stérile
 - Agar bactériologique (Biokar diagnostics, France)
 - Disques d'antibiotiques (Liofilchem, Italy)

1.3 Durée et lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée en une durée de 6 semaines au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

1.4 Nature et nombre d'échantillons

Au cours de notre étude, nous avons effectué 55 prélèvements, qui sont soumis à la recherche et l'identification de *S. aureus*. Ces prélèvements ont été réalisés à travers deux élevages différents, l'un est situé à Béni Yenni et l'autre élevage au niveau de Ain El Hammam (Ex Michelet). Ils comprennent 49 prélèvements de la cavité nasale chez des caprins sains, 02 prélèvements chez des éleveurs en contact avec ces animaux et 02 échantillons du lait de mélange. L'écouvillonnage est effectué chez des sujets sains, que ça soit chez les caprins et chez les éleveurs.

Tableau II : Informations concernant les élevages visités et les prélèvements effectués

Elevages	Localisation	Nombre de caprins	Race	Nombre de caprins écouvillonnés	Nombre d'échantillons de lait	Nombre d'éleveurs
Elevage1	Béni Yenni	76	Sannen	36	01	01
Elevage2	Ain El Hammam	25		15	01	01

1.4.1 Prélèvement nasal chez les caprins :

Les prélèvements nasaux chez les caprins ont été réalisés comme suit :

- Laver les mains et porter des gants ;
- Contention de l'animal ;
- Nettoyer les narines à l'aide de l'eau et une serviette propre ;
- Préparer les écouvillons (moyen de prélèvement) et le bouillon Mueller-Hinton (moyen de transport) ;
- Introduire délicatement l'écouvillon dans la narine et l'insérer à une distance de 10 cm pour atteindre les meatus ventral et effectuer un mouvement de rotation dans la cavité nasal, avant le retrait de l'écouvillon.
- Mettre l'écouvillon dans le bouillon Mueller-Hinton et additionner du NaCl ;
- Identifier chaque tube.



Figure 10 : Prélèvement nasal chez un caprin (photo prise dans une ferme à ath Yenni 2020)

1.4.2 Prélèvement nasal chez les éleveurs

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

1.4.3 Prélèvement du lait de caprins

Le prélèvement du lait des chèvres a été réalisé comme suit :

- Préparer les flacons stériles en plastique comme moyen de transport ;
- Prélever directement dans la citerne de stockage du lait issu de la traite des chèvres ;
- Placer les flacons dans une glacière Et les transporter au laboratoire.

1.5 Transport et conservation des échantillons

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

1.6 Analyse des échantillons

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

1.6.1 Enrichissement

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

Pour le lait, 01ml a été prélevé et ensemencé dans le bouillon Mueller-Hinton, puis incubé à 37°C pendant 24h. Après l'incubation, les tubes présumés comme étant positifs présentent un trouble.

1.6.2 Isolement

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

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

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

1.6.3 Purification

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

1.6.4 Identification biochimique de *S. aureus*

Quatre tests biochimiques ont été réalisés pour identifier *S. aureus* parmi les souches suspectées, il s'agit de la mise en évidence de la catalase, la coagulase, l'ADNase et la production d'acétoïne. La souche *S. aureus* ATCC 25923 est utilisée comme témoin positif pour ces tests biochimiques.

1.6.4.1 Mise en évidence 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 en H_2O et en O_2 grâce aux enzymes qu'elles synthétisent, notamment la catalase.



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

1.6.4.2 Mise en évidence de la coagulase

La coagulase est une protéine extracellulaire, permettant la différenciation des staphylocoques à coagulase positive (SCP) des staphylocoques à coagulase négative (SCN). Cette enzyme joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de *S. aureus*. Le test est réalisé par le mélange de 0.5 ml d'une culture de *S. aureus* sur le bouillon cœur cervelle (BHIB) avec 0.5 ml du plasma de lapin. Un témoin positif est réalisé en utilisant la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923. L'incubation est faite à 37°C de 1h à 4h.

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

1.6.4.3 Mise en évidence de l'ADNase

Certaines bactéries ont la capacité d'hydrolyser l'ADN grâce à une enzyme, l'ADNase. Cette enzyme est recherchée par la culture des souches à tester sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose à ADN. Une colonie issue du milieu BHI, est ensemencée en strie centrale sur cette gélose à ADN, puis incubée à 37°C pendant 24h. La mise en évidence de l'ADNase est révélée par l'ajout d'acide chlorhydrique (HCL) à 2N. L'apparition d'une zone claire autour des stries révèle la libération des polynucléotides résultant de l'hydrolyse de l'ADN du milieu. Ainsi, la souche est considérée comme étant positive.

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

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

Une colonie issue du milieu BHI est ensemencée sur le milieu Clark et Lubs, incubé à 37°C pendant 24-48h. La révélation de l'acétoïne sur le milieu Clark et Lubs est réalisée en

ajoutant 15 gouttes de réactif VPI (α naphтол à 6%) et 15 gouttes de VPII (NaOH à 4N). La souche est considérée VP+, si c'est une coloration rouge apparaît à la surface du milieu puis diffuse dans tous le milieu.

1.7 Antibiorésistance des souches isolées

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

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

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (μ g)
β-lactamines	Pénicilline	P	10UI
	Céfotixime	FOX	30
Aminoglycosides	Gentamycine	CN	10
	Néomycine	N	30
Macrolides	Erythromycine	ERY	15
Tétracyclines	Tétracycline	TET	30
Quinolones	Ofloxacine	OFX	5
Phénicols	Chloramphénicol	CHL	30
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	SXT	25

1.8 Technique de l'antibiogramme

Les souches à étudier sont repiquées sur le milieu BHI afin d'avoir des cultures jeunes. Une suspension bactérienne d'une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 est préparée à partir de cette culture jeune. L'antibiogramme est réalisé par la technique d'écouvillonnage, en appliquant des stries serrées sur toute la surface de la gélose. Ensuite, des disques d'antibiotiques sont appliqués à l'aide d'une pince stérile. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures. Après la lecture des zones d'inhibition, les souches sont classées en : souches sensibles, souches intermédiaires et souches résistantes, selon les recommandations du CLSI (2018) et de CASFM (2019).

1.9 Conservation des souches identifiées

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

2. Résultats et discussion

2.1. Résultats

2.1.1 Prévalence de *S.aureus*

Au cours de notre étude, 53 prélèvements ont été réalisés à travers deux élevages de taille moyenne. Sur ce nombre total de prélèvements, 36 colonies caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été isolées de la gélose sélective Baird-Parker. Les tests biochimiques ont pu confirmer 16 souches de *S. aureus* répartis comme suit : 15 souches isolées de la cavité nasale des caprins et 01 souche isolée à partir du lait de mélange produit au sein de l'un des deux élevages.

La fréquence d'isolement de *S. aureus* est variable selon le type de prélèvement. En effet, sur un total de 51 prélèvements nasaux, seulement 05 chèvres se sont révélées porteuses de *S. aureus*. Tandis que, le taux d'isolement de *S. aureus* est de 0% chez les éleveurs et de 50% dans le lait de mélange. En revanche, ces taux d'isolement doivent être interprétés avec précaution, étant donné de la taille réduite des prélèvements effectués.

Le tableau suivant illustre la fréquence d'isolement de *S. aureus* dans les différents prélèvements.

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

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Fréquence d'isolement(%)	Nombre de souches de <i>S.aureus</i> Isolées
Écouvillonnage nasal(caprins)	49	5	10.20%	15
Écouvillonnage nasal(éleveurs)	2	0	0%	0
Lait de mélange	2	1	50%	1
Total	53	6	11.32%	16

2.1.2 Antibiorésistance des souches *S. aureus* isolées

Les résultats obtenus montrent bien l'existence de résistance vis-à-vis d'un antibiotique de la famille des β -lactamines. En effet une forte résistance a été enregistrée vis-à-vis de la

pénicilline G avec un pourcentage de 56,25%. En revanche, aucune résistance n'a été signalée vis-à-vis des autres antibiotiques.

Tableau V : Résistance des souches de *S. aureus* (n=16) vis-à-vis des antibiotiques testés

Type de prélèvements Antibiotiques	Caprins		Éleveurs		Lait		Total	
	S	R	S	R	S	R	S	R
Pénicilline	7 46,66%	8 53,33%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	7 43,75%	9 56,25%
Céfoxitine	15 100%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	0 0%	16 100%	0 0%
Chloramphénicol	15 100%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	0 0%	16 100%	0 0%
Érythromycine	15 100%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	0 0%	16 100%	0 0%
Tétracycline	15 100%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	0 0%	16 100%	0 0%
Gentamycine	15 100%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	0 0%	16 100%	0 0%
Néomycine	15 100%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	0 0%	16 100%	0 0%
Ofloxacine	15 100%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	0 0%	16 100%	0 0%
Triméthoprim/ Sulfamethoxazole	15 100%	0 0%	0 0%	0 0%	1 100%	0 0%	16 100%	0 0%

S : Sensible ; **R** : Résistante

2.1.3 Profils de multi résistances des souches de *S. aureus* isolés :

Pour établir un profil de multi résistances d'une souche, cette dernière doit manifester des résistances vis-à-vis au moins de trois familles différentes d'antibiotiques, or dans le cas de

notre étude aucune de nos souches n'a manifesté de telles résistances ; donc y'a pas eu de souches multi-résistantes.

2.1.4 Taux d'isolement des souches SARM :

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

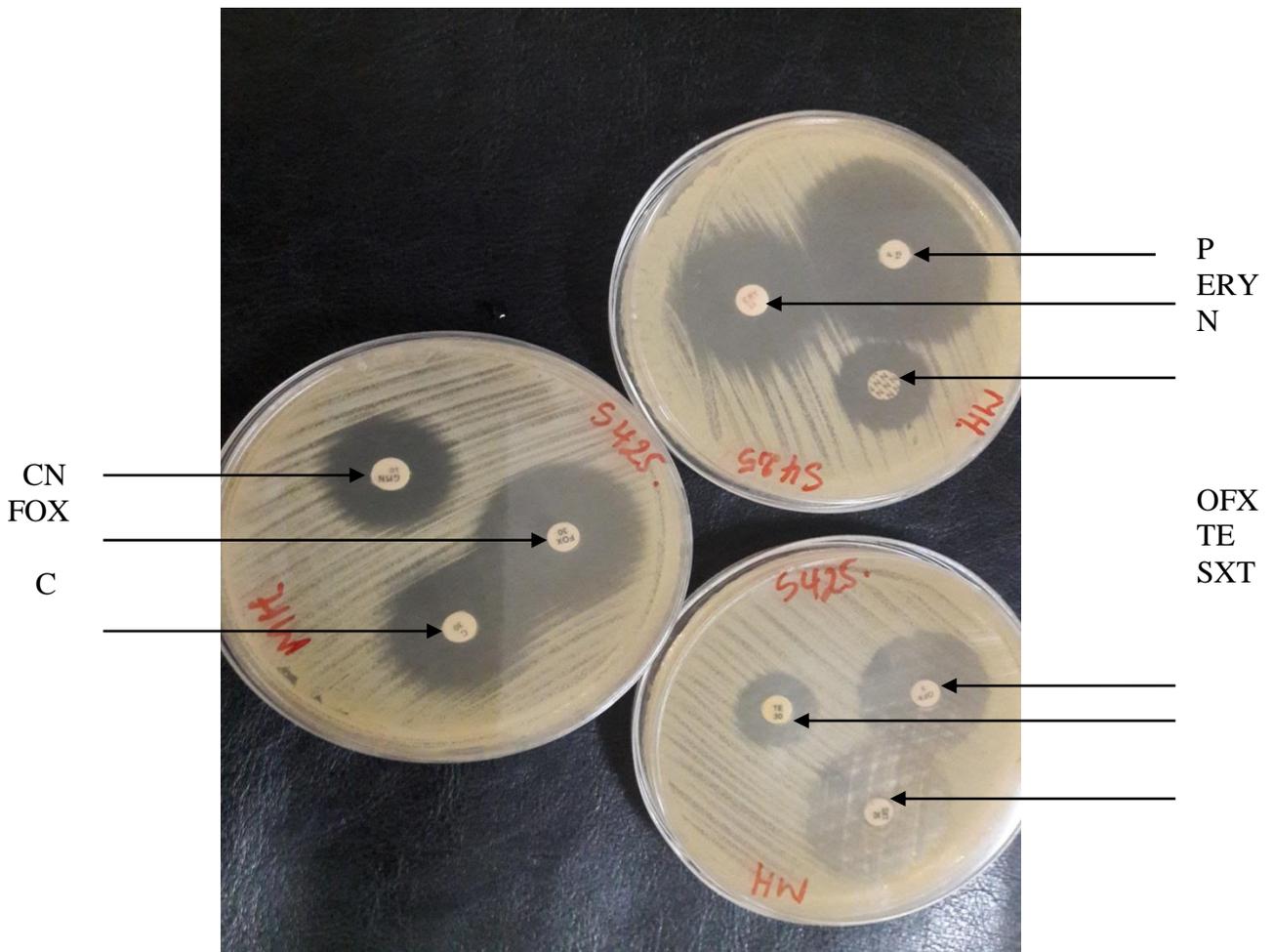


Figure 11 : Profil de résistance d'un SARM (photo prise au laboratoire, 2020)

3. Discussion :

Au cours de ce travail, nous avons déterminé la résistance des souches de *S. aureus* isolées de deux élevages caprins de deux régions distinctes de la wilaya de Tizi-Ouzou ; Athyani et Michelet (caprins, éleveurs et lait de mélange) vis-à-vis de plusieurs molécules d'antibiotiques. D'après les résultats obtenus de cette étude, nous avons constaté que le *S. aureus* est une bactérie de portage chez les caprins. En effet tous les individus chez lesquels nous avons prélevé des souches de *S. aureus* présentaient un bon état général et ne manifestaient aucun signe clinique apparent pouvant prédire le portage de cette bactérie.

La contamination entre caprins est très probable, du fait qu'il est pratiquement impossible de distinguer les sujets porteurs de ceux qui ne le sont pas, donc de les séparer vu que le portage est asymptomatique. La contamination est favorisée par la promiscuité entre les animaux et elle peut être plus accentuée par des conditions d'hygiène défavorables ou des étables non conformes au bien-être animal (GRAHAM *et al*, 2006)

Une contamination entre éleveurs et caprins peut survenir dans un élevage notamment lors de la traite ou l'éleveur est en contact étroit avec l'animal, une contamination manuportée est alors possible ou lors d'un éternuement (Locatelli *et al*, 2017).

Dans notre travail, lors de la recherche de *S. aureus* dans le lait ; un prélèvement sur les deux effectués était positif et contenait des *S. aureus*. Hulmin *et al* (2017) ont rapporté un taux de 25.8% sur 195 prélèvements effectués. Des fréquences variables d'isolement de *S. aureus* dans le lait de chèvre ont été rapportées par plusieurs auteurs, dans plusieurs pays. Elle est de l'ordre, de 83% en Turquie (Bartolomaoli *et al*, 2009), 56% au Brésil (Gundogan *et Avei*, 2014), 66,7% en Malaisie (Andre *et al*, 2008), 41% en Grèce (Traversa *et al*, 2015), 12.4% en Iran (Jamali *et al*, 2015) et 1.4% aux USA (Kevin *et al*, 2018). En Algérie, des études réalisées sur la prévalence de *S. aureus* dans des cas de mammites chez la chèvre, ont montré des taux d'isolement de l'ordre de 28.6% (Akkou *et al*, 2018) et 40.50 % (Gabli *et al*, 2019).

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

échantillons et la méthodologie suivie lors de l'analyse des prélèvements (type de milieux de culture,...).

Concernant le portage nasal chez l'animal, nous avons trouvé cinq cas positifs sur 49 écouvillonnages réalisés donc un taux de 10.20%. En Algérie, une prévalence proche à la nôtre, de 11.94%, a été annoncée par Mairi *et al* (2019). Zhou *et al* (2017), ont rapporté un taux d'isolement de *S. aureus* dans la cavité nasale des chèvres en Chine, qui est de 43.24%, sur un total de 74 prélèvements nasaux. Rahimi *et al* (2015), dans une étude concernant le portage nasal de *S. aureus* chez les ruminants, ont annoncé un taux de 25%. Le même résultat a été retrouvé en Egypte (Ali *et al*, 2017). En Tunisie, Gharsa *et al* (2015) ont rapporté une prévalence de 19.23%, sur un total de 52 prélèvements. Une étude concernant la prévalence des staphylocoques chez les chèvres laitières et la gestion des pratiques d'élevage, montre un taux d'isolement de l'ordre de 46.2 % sur un total de 502 échantillons (Anderson *et al*, 2018).

La variabilité des taux d'isolement de *S. aureus* pourrait être due à plusieurs facteurs, tels que la taille des échantillons et les conditions d'élevage du cheptel.

Aucun prélèvement nasal des éleveurs n'a été contaminé par *S. aureus*. Notre résultat ne rejoint pas celui de Mourabit *et al* (2020), qui ont montré que 60% des éleveurs écouvillonnés étaient porteurs de *S. aureus*. Akkou *et al* (2016) ont rapporté une fréquence d'isolement de l'ordre de 38%, dans une étude concernant la caractérisation phénotypique et génotypique de *S. aureus* associé aux vaches atteintes de mammites et au portage nasal chez les éleveurs en contact avec ces animaux. Plusieurs facteurs peuvent influencer la colonisation des éleveurs par *S. aureus*, tels que leur contact direct avec les animaux et leur exposition indirecte à l'environnement contaminé des élevages (Locatelli *et al*, 2017).

Nous avons testé la résistance de nos souches isolées vis-à-vis de sept familles d'antibiotiques différentes dans le but d'établir un profil d'antibiorésistance et de prévoir l'existence de souches multi-résistantes.

Les 53 souches isolées dans notre travail étaient toutes des SASM, une étude en Arabie Saoudite menée par Marin *et al* (2010) a démontré que des *S. aureus* isolés de caprins étaient des SARM et présentaient une multi-résistance aux antibiotiques. De plus, cette étude a également montré que les grands effectifs sont un facteur de risque de la présence des SARM.

Plusieurs études ont rapporté la présence des SARM, aussi bien dans le lait et les prélèvements nasaux des chèvres. En Espagne, Abereu et al (2019) ont rapporté un pourcentage de contamination de SARM, qui est de l'ordre de 15.8%. En revanche, une faible fréquence d'isolement de SARM a été retrouvée dans une étude menée en Égypte par Abdel-Moein et al (2019). Des souches SARM ont été aussi isolées dans le lait de chèvres (Cortimiglia et al, 2015 ; Caruso et al, 2016 ; Omshaba et al, 2020).

Plusieurs études ont montré le risque associé à la présence des SARM chez les animaux d'élevage, ce qui montre que les animaux d'élevage pourraient constituer un véhicule de transmission ou un réservoir potentiel d'infections aux humains (Ross Fitzgerald, 2012). La transmission zoonotique potentielle inclut le contact direct entre l'animal et l'éleveur, mais aussi le contact de l'éleveur avec l'environnement contaminé (Locatelli et al, 2017). Benito et al (2015) ont isolé un SARM portant le gène *mecC* dans une lésion de la peau d'un éleveur, ce dernier travaille dans un atelier de production de fromage au lait cru et en contact direct avec les animaux. Il est possible que le contact avec les animaux ou avec le lait cru puisse être à l'origine de cette souche. Le même constat a été rapporté par Carfora et al (2016) et Locatelli et al (2017), qui ont mis en évidence le transfert des SARM de bovins et des ovins vers des éleveurs.

Malgré l'absence de SARM, nous avons enregistré dans notre travail un taux de 56,26% de souches résistantes à la pénicilline G, cela est le résultat de l'utilisation massive de cet antibiotique en médecine humaine et vétérinaire (Tahrat et al, 2005 ; Aras et al.,2012).

D'autres travaux ont rapporté des résistances diverses vis-à-vis de plusieurs antibiotiques. Des résistances à la tétracycline, à l'érythromycine et à l'acide fusidique ont été rapportées chez des souches d'origine animale. Une forte résistance vis-à-vis de triméthoprime a été aussi observée concernant des souches isolées de portage nasal chez des chèvres, en Chine (Zhou et al, 2017).

4. Conclusion :

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

Dans Cette étude, il n'a été illustré que le rôle de *S. aureus* comme un agent pathogène d'origine animale ne doit pas être négligé. En effet, sur les 53 échantillons analysés, 6 se sont révélés positifs par *S. aureus*, soit une fréquence de l'ordre de 11,332%.

L'étude de la résistance des isolats montre de fortes résistances vis-à-vis de la pénicilline G qui est observé avec toutes les souches quelque-soit l'origine du prélèvement (prélèvement nasal du caprin, éleveur et le lait de mélange), ceci est le résultat de l'utilisation excessive des antibiotiques et le non-respect des règles d'utilisation de l'antibiothérapie.

Bien que cette étude a écarté le risque sanitaire associé à la présence des SARM dans les échantillons étudiés, d'autres explorations concernant le portage nasal de *S. aureus* seront inéluctables pour élucider le type de souches circulant dans les élevages des animaux de rente.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) **Abastado P**, Police épistémologique : l'enquête "streptomycine" Médecine Sciences, n° 5, p. 544-547. **2006**.
- 2) **Abdel-Moein KA**, El-Hariri MD, Wasfy MO, Samir A. Occurrence of multidrug-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among healthy farm animals: a public health concern. *Int J Vet Sci Med.* 2019; 7(1): 55–60
- 3) **Adzitey F.** 2015. Antibiotic classes and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from selected poultry; a mini review. *World Vet. J.* 5 (3):36-41.
- 4) **Ait Mouhoub Salah-Eddine.** 2015. Thèse d'exercice médecine générale. Université De Picardie Jules Verne Faculté De Médecine D'amiens
- 5) **Amagei, M., Matsuyoshi, N., Wang, ZH., Andl, C., Stanley, JR.** 2000. Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. *Nat Med*; 6, p1275-1277.
- 6) **Aman, M.J., Karauzum H., Bowden M.G. and Nguyen T.L.** 2010. Structural model of the pre-pore ring-like structure of Pantone-Valentine leukocidin: providing dimensionality to biophysical and mutational data. *J. BioMol. Struct. Dyn.* 28: 1-12.
- 7) **Andremont A.**, 2014, Antibiotiques, le naufrage, Montrouge, Bayard.
- 8) **Aras Z, Aydin I, Kav K.** Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from caprine mastitis cases. *Small Ruminant Research.* 2012. **102**, 68-73
- 9) **Balaban, N., Rasooly, A.** 2000. Staphylococcal enterotoxins. *Int. J. Food Microbiol.* 61, 1–10.
- 10) **Ingrid bartolomeoli. Michela maifreni, Francesca frigo, Giada urli, Marilena marino.** 2009. Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk for cheesemaking. *International Journal of Dairy Technology.* Volume 62, issue 3.
- 11) **BAUD O. et GOURDON F.** 2009. « Antibio-guide », *C. Clin*, Clermont Ferrand.
- 12) **Bayles, K.W., Iandolo, J.J.,** 1989. Genetic and molecular analyses of the gene encoding staphylococcal enterotoxin D. *J. Bacteriol.* 171, 4799–4806.
- 13) **Behme RJ, Shuttleworth R, McNabb A, Colby WD.** Identification of staphylococci with a self-educating system using fatty acid analysis and biochemical tests. *J Clin Microbiol.* 1996; 34:3075-3084.

- 14) **Benito, D., Gomez, P., Aspiroz, C., Zarazaga, M., Lozano, C., and Torres, C. 2015.** Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from humans related to a livestock farm in Spain, with detection of MRSA-CC130 carrying *mecC* gene: A zoonotic case. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 34 (5), 280-285.
- 15) **Bergdoll, M.S., Borja, C.R., Avena, R.M., 1965.** Identification of a new enterotoxin as enterotoxin C. *J. Bacteriol.* 90, 1481–1485.
- 16) **Bergonier D, de Cremoux R, Rupp R, Lagrffoul G, Berthelot X.(2003).**Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res*, 34 : 689-716.
- 17) **Bismuth, R., and J. Caillon (1990).** Staphylocoques, p. 187-212. In P. Courvalin, H. B. Drugeon, J. P. Flandrois, and F. Goldstein, (ed.), *Bactéricidie*. Maloine, Paris, France.
- 18) **Bismuth R, Leclercq R (2000).** *Staphylococcus aureus* et antibiotiques, in *Précis de Bactériologie clinique*. Ed ESKA ; P 611-616.
- 19) **Bokarewa M.I, Jin T, Tarkowski A.2006.***Staphylococcus aureus*: staphylokinase. *Int J Biochem Cell Biol* 38 (4); 504-509.
- 20) **Boutiba-Ben boubaker I, 2009.** Macrolides et apparentés: mécanismes d'action et de resistance. Service de Microbiologie Hôpital Charles Nicolle. Tunis
- 21) **Claude Brezinski.** Histoires de sciences : Inventions, découvertes et savants. In 2006. p. 186. (Editions L'Harmattan).
- 22) **Brisabois A., Lafarge V.Brouillard A., De Buyser M.L., Colette C., Garin-Bastuji B.et Thorel M ;F.(1997).**Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. *Rev.sci.tech.Off.int.Epiz.*,16(1).Pp :452-471.
- 23) **Brooks G. F., Butel J. S. & Morse S. A. (2004).** Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology, 23rd Edition. McGraw Hill Companies, Singapore.
- 24) **Calderon C. B & Sabundayo B.P. (2007).** Antimicrobial classifications: Drugs for bugs. In: **Schwalbe R, Steele-Moore L & Goodwin AC** (eds). Antimicrobial susceptibility testing protocols. CRC Press, Taylor and Frances group. ISBN 978-0-8247-4100-6.

- 25) **Caruso.M, L. Latorre, G. Santagada, R. Fracalvieri, A.Miccolupo, R. Sottili, L. Palazzo, A.** ParisiMethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in sheep and goat bulk tank milk from Southern ItalySmall Rumin. Res., 135 (2016), pp. 26-31
- 26) **Catherine Dunyach-Remy, Albert Sotto, Jean-Philippe Lavigne.** 2015. Le microbiote cutané: étude de la diversité microbienne et de son rôle dans la pathogénicité.
- 27) **Chamberlain N.R and S.A. Brueggemann.** 1997. Characterisation and expression of fattyacid modifying enzyme produced by *Staphylococcus epidermidis*. J. Med. Microbiol. 46:693-697.
- 28) **Chambers, J .V.** (2002). « The microbiology of rawmilk ». In DairyMicrobiologyHandbook, 3edi.
- 29) **Christof Von Eiff et al.** Transport nasal comme source de bactériémie à *S. aureus*. New England journal of medicine, 2001.
- 30) **Chavakis, T., M. Hussain, S.M. Kanse, G. Peters, R.G. Bretzel, J.I. Flock, M. Herrmann and K.T. Preissner.** 2002. *Staphylococcus aureus* extracellular adherence protein serves as anti-inflammatory factor by inhibiting the recruitment of host leukocytes. *Nat. Med.* 8: 687-693.
- 31) **Clarke, S.R., Foster, S.J.,** 2006. Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv. Microb. Physiol.* 51, 187–224.
- 32) **Cooksey et al.**Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. Enterococcal Study Group.J Clin Microbiol .1992 Sep;30(9):2373-8.
- 33) **Cortimiglia C, Bianchini V, A Franco, A Caprioli, A Battisti, L Colombo, K Stradiotto, F Vezzoli,. M Luini.** 2015. Short communication: Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in bulk tank milk from dairy goat farms in Northern Italy. J Dairy Sci. 2015 Apr;98(4):2307-11.
- 34) **Couch, J.L., Soltis, M.T., Betley, M.J.,** 1988. Cloning and nucleotide sequence of the type E staphylococcal enterotoxin gene. *J. Bacteriol.* 170, 2954–2960
- 35) **COURVALIN Patrice,** 2008. La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Académie vétérinaire de France. bulletin 2008 N° 1.

- 36) **Cristelle Neulier** .2010. Le point en 2010 sur l'utilisation des antiseptiques cutanés en pratique officinale.
- 37) **Crozes Didier.**, Izilox ketek, Zyvoxid.2005. place des nouveaux antibiotiques dans l'arsenalthérapeutique existant ; thèse de doctorat : pharmacie, Université de Toulouse, N° TOU3 2052 ; P111
- 38) **Dancer, S.J. and W.C. Noble.** 1991. Nasal, auxiliary, and perineal carriage of *Staphylococcus aureus* among women: identification of strains producing epidermolytic toxin. *J. Clin. Pathol.* **44**: 681-684.
- 39) **Dao-Feng Zhang, Xin-Yi Yang, Jing Zhang, Xiaojie Qin, Xiaozhen Huang, Yan Cui, Min Zhou, Chunlei Shi, Nigel P. Frenchd, Xianming Shi.** 2018. Identification and characterization of two novel superantigens among *Staphylococcus aureus* complex. *International Journal of Medical Microbiology*, 4: 438-446.
- 40) **Delmas G, Gallay A, Episé A, Haeghebaert S, Pihier N, Weill F.X, De Valk H, Vaillant V, Désenclos J.C**(2006). Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005, BEH ,51-52 : 418-422.
- 41) **Deuenberg Rh. et al.** L'évolution moléculaire de *S. aureus* résistant à la méticilline. *Clin Microbiolinfec.* 2007.
- 42) **Djebbar et megrous.** 2019. Portage de *S.aureus* chez le bovin laitier et le caprin. Caractérisation phénotypique des isolats (Région de Tizi-Ouzouet de Bouira). Mémoire de master en biologie, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou.
- 43) **Dinges M.M., Orwin P.M., Schlievert P.M.** 2000. Exotoxins of *staphylococcus aureus* .*Clin Microbiol Rev*, 13: 16-34.
- 44) **DONNIO, P.Y.** 2010. « Sensibilité de la Bactérie aux Agents Bactériostatiques ou Bactéricides » in « *Staphylococcus aureus* », Tec et Doc, Paris.
- 45) **Dore S et al.** Survey on small ruminant bacterial mastitis in Italy, 2013-2014; *Small Ruminant Research* .2016.
- 46) **Dunman, P.M., Murphy M., Haney S., Palacios D., Tucker-Kellogg G., Wu S., Brown E.L., Zagursky R.J., Shlaes D and Projan S.J.** 2001. Transcription profiling-based identification of *Staphylococcus aureus* genes regulated by the agr and/or sarA loci. *J. Bacteriol.* 183: 7341-7353.

- 47) Durand Géraldine**(2009). Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique TSST-1.
- 48) Durand G., Bes M., Meugnier H., Engright M.C., Forey F., Liassine N., Wenger A., Kikuchi K., Lina G., Vandenesch F., Etienne J.** 2006.Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones containing the toxic shock syndrom toxin 1 gene responsible for hospital and community-acquired infections in France *.J Clin Microbiol*, 44 : 847-853.
- 49) Federighi**(2005).bactériologie alimentaire-compendium d'hygiène des aliments .Economica, Paris, 25-51.
- 50) Fischetti F and F Tedesco.** 2006. Cross-talk between the complement system and endothelial cells in physiologic conditions and in vascular diseases. *Autoimmunity* 39: 417-428.
- 51) Flandrois J-P.** (1997). Bactériologie médicale. Presse Universitaire de Lyon.
- 52) Foster T.J, Hook M.**1998.Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*.*Trends Microbiol* 6(12): 484-488.
- 53) Foster T.J,** (2005).Immune evasion by staphylococci.*Nat Rev Microbiol* 3(12):948-958.
- 54) Fournier, B. and D.C. Hooper.** 2000. A new two-component regulatory system involved in adhesion, autolysis, and extracellular proteolytic activity of *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 182: 3955-3964.
- 55) Frank U. & Tacconelli E.** (2012). The Daschner Guide to In-Hospital Antibiotic Therapy. European standards. Available online at: <http://www.springer.com/978-3-642-18401-7>. 300p.
- 56) Fraser, J.D. and T. Proft.** 2008. The bacterial superantigen and superantigen-like proteins. *Immunol. Rev.* **225**: 226-243.
- 57) Fritih M,** 2020. Direction des services Agricoles de la wilaya de Tizi ousou., Abattoir viandes rouges Kroun.
- 58) Gabli Z., Djerrou Z., Gabli AE., BensalemM,** 2019. Prevalence of mastitis in dairy goat farms in Eastern Algeria. *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916

- 59) Gharsa , H., Ben Slama, K., Gómez-Sanz, E., Lozano, C., Zarazaga, M, Messadi, L., Boudabous, A., and Torres, C. 2015. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* from nasal samples of healthy farm animals and pets in Tunisia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, Vol 15, 2.
- 60) Gillet Y, Vanhems P, Lina G, et al (2007) Factors predicting mortality in necrotizing community-acquired pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis* 45:315–21.
- 61) Graham, P. L. 3rd, Lin, L. X., et Larson, E. L. 2006. « A U.S. population-based survey of *Staphylococcus aureus* colonization ». *Annals of Internal Medicine*.
- 62) Griffiths A.J.F, Miller J.H, Suzuki D.T, Lewontin R.C, Gelbart W.M (2000). *An Introduction to Genetic Analysis*, 7th edition. SBN-10: 0-7167-3520-2.
- 63) Guinane CM, Penadés JR et Fitzgerald JR. The role of horizontal gene transfer in *Staphylococcus aureus* host adaptation. *Virulence*. 2011; 2: 241-243. Doi:10.4161/viru.2.3.16193.
- 64) Hooper DC. Fluoroniquinolone resistance among Gram-positive cocci. *Lancet Infect Dis*, 2002; 2: 530-8.
- 65) HULMIN LU, Songil LI, Lu Meng, Lei Dong, ShengguoZhao, Xinyl Lan, Jiaqi Wang et NanZheng et al, 2017. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy herds in northern China.
- 66) Renée de Crémoux, 2006. *Mammmites caprines*. Institut de l'élevage.
- 67) Janzon L, Lofdhal S, Arvidson S, 1989. Identification and nucleotide sequence of the delta-lysin gene, hdl, adjacent to the accessory gene regulator (arg) of *staphylococcus aureus*. *Mol Gen Genet* 219(3): 480-485.
- 68) Juhasz-Kaszanyitzky, E., Janosi, S., Somogyi, P., Dan, A., van der Graaf-van Bloois, L., van Duijkeren, E., Wagenaar, J.A., 2007. MRSA transmission between cows and humans. *Emerg Infect Dis*. 13, 630–632.
- 69) JP. Flandrois. *Bactériologie Médicale*. Coll Azay. Puf. 2000.
- 70) Kadariya, J., Smith, T.C et Thapaliya, D. 2014. « *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health », *BioMedResearch International*, 2014, 01-09.

- 71) Katayama Y, Ito Y et Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob agents chemother.* 2000; 44: 1549-1555.
- 72) Kampf G., S Adena, H Rüden, K Weist. 2003. Inducibility and potential role of MecA-gene-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from colonized healthcare workers as a source for nosocomial infections. *The journal of hospital infection.*
- 73) Kawano J., Shimizu A., Saitoh Y., Yagi M, Saito T, and Okamoto R,1996, Isolation of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from chickens. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(9): 2072–2077
- 74) Kevin L., Anderson, Rachaelkearns, Roberta lyman, Maria T Correa, 2018. Staphylococci in Dairy Goats and Human Milkers, and the Relationship with Herd management Practices.
- 75) Kluytmans J.A, Van Belkum and Verbrugh H. 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol. Rev.* 10: 505-520.
- 76) Lagasse E, Weissman IL (1996). Flow cytometric identification of murine neutrophils and monocytes. *J Immunol Methods* 197: 139-150.
- 77) Langlet S, Quentin G, Contant G, Ghnassia C.J. Method chromogénique d'identification rapide de *Staphylococcus aureus*. *Annales de Biologie clinique*, 1999; 57 (2) : 191-6.
- 78) Larry M. Bush , 2019. MD, FACP, Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University;
- 79) Laurence ARMAND-LEFEVRE, Raymond RUIMY, 2010. l'histoire de *staphylococcus aureus* st398: un paradigme médical du 21ème siècle.
- 80) Le loir Y, Baron F, Gautier M(2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res*, 2 :63-76.
- 81) Le Loir, Y.L. and M. Gautier. 2010. *Staphylococcus aureus*. Monographies de mic Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*, 2003. Robiologie.
- 82) Lencastre H., Olivia D., Tomasz A. 2007. *Staphylococcus aureus* résistant aux ATB : un paradigme de pouvoir adaptatif.

- 83) Leyral G. et Vierling E.**(2007).Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires.4^{ème} Edition Biosciences et techniques.87 p.
- 84) Locatelli C, Cremonesi P, Caprioli A, Carfora V, Ianzano A, Barberio A, Morandi S, Casula A, Castiglioni B, Bronzo V. and Moroni P. 2017.** Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cattle herds, related swine farms, and humans in contact with herd. *J. Dairy Sci.* 100:1–12.
- 85) Loffeld A, Davies P, Lewist A et al.** Seasonal occurrence of impetigo: a retrospective 8-years review (1996-2003). *Clin Experimental Dermatol* 2005; 30: 512-514.
- 86) Loffeld, Otmar & Nies, Holger & Knedlik, Stefan & Yu, Wang.** (2008). Phase Unwrapping for SAR Interferometry — A Data Fusion Approach by Kalman Filtering. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing.* 46. 47-58. 10.1109/IGARSS.1999.772071
- 87) Lowy F.D.** (1998).Staphylococcus aureus infections. *N Engl J Med*, **339**: 520-532.
- 88) Lowy FD.**Antimicrobial resistance: the example of *staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*, 2003.
- 89) Lu T, J.Y. Park, K. Parnell, L.K. Fox and M.A. McGuire.** 2012. Characterization of fatty acid modifying enzyme activity in staphylococcal mastitis isolates and other bacteria. *BMC Res. Notes* 5: 323.
- 90) MAINARDI JL. 2015.** Mécanisme d'action et de résistance aux antibiotiques : session interactive autour de l'antibiogramme». Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges POMPIDOU et Faculté de Médecine Paris René DESCARTES.
- 91) Mairi, A., Touati, A., Pantel, A., Zenati, K., Yahiaoui Martinez, A., Dunyach-Remy, C., Sotto, A., and Lavigne, J.P.** 2019. Distribution of toxinogenic methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from different ecological niches in Algeria. *Toxins* 11, 500.
- 92) Malachowa N et DeLeo FR.** Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci.* 2010, 67: 3057-3071. Doi:10.1007/s00018-010-0389-4.
- 93) Mira Tawk, 2014.**Action et contrôle des leucotoxines de *Staphylococcus aureus* sur les cellules cibles

- 94) **Marín P et al.** Short communication: Fluoroquinolone susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from caprine clinical mastitis in southeast Spain. *Journal of Dairy Science*. 2010.
- 95) **Marr J.C, Lyon J.D, Roberson J.R, Lupher M, Davis W.C, Bohach G.A.** (1993). Characterization of novel type C staphylococcal enterotoxins: biological and evolutionary implications. *Infect Immun*, 61: 4254-62.
- 96) **M. Aires-de-Sousa.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals : current overview, clinical microbiology and infection 23 (2017)
- 97) **McDevitt, D., P. Francois, P. Vaudaux and T.J. Foster.** 1994. Molecular characterization of the clumping factor (fibrinogen receptor) of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol.* **11**:237-248.
- 98) **Mérens A, Servonnet A.** Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. *Revue Francophone des Laboratoires* 2010(422):33-41.
- 99) **Merino, N., A. Toledo-Arana, M. Vergara-Irigaray, J. Valle, C. Solano, E. Calvo, J.A. Lopez, T.J. Foster, J.R. Penades and I. Lasa.** 2009. Protein A-mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 191: 832-843.
- 100) **Michel-Briand, Y.** Mécanismes moléculaires de l'action des antibiotiques. 1er éd. ; Masson, Paris, 2002 ; p370.
- 101) **Morgan M.,** 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: Zoonosis Or humanosis? *J. Antimicrob. Chemother.* 62, 1181–1187.
- 102) **Mourabit, N., Arakrak, A., Bakkali, M., Zian, Z., Bakkach, J., and Laglaoui, A.** 2020. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in farm animals and breeders in north of Morocco. *BMC Infectious Diseases*, 20, 602.
- 103) **Murray PJ, Wynn TA** (2011). Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol* 11: 723-737. doi:10.1038/nri3073.
- 104) **Muller A, 2006. Bon usage des antibiotiques : résultats d'actions dans différents types d'établissements de santé**
- 105) **Ni Eidhin, D., S. Perkins, P. Francois, P. Vaudaux, M. Hook and T.J. Foster.** 1998. Clumpin factor B (ClfB), a new surface-located fibrinogen-binding adhesin of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol.* **30**: 245-257.
- 106) **N. Balaban.** Review Staphylococcal Enterotoxins; , *International Journal of Food Microbiology* 61, 2000.

- 107) **Nussenblatt et al (2005).**Initial Evaluation of Subcutaneous Daclizumab Treatments for Noninfectious Uveitis: A Multicenter Noncomparative Interventional Case Series.
Ophthalmology, Volume 112, Issue 5, Pages 764-77.
- 108) **O'Riordan, K. and J.C. Lee.** 2004. *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *Clin. Microbiol. Rev.* 17: 218-234.
- 109) **Dr olivier ROGEAUX.** Infections cutanées Infectiologie CH métropole Savoie 23 janvier 2020 . Grenoble.
- 110) **Oliveira A, Cunha M de LR.** Comparison of methods for the detection of biofilm production in coagulase-negative staphylococci. *BMC Res Notes.* 2010 Oct 14;3:260.
- 111) **Organisation Mondiale de la Santé,** 2014. Premier rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques: une menace grave d'ampleur mondiale. Centre des medias. Who.int.
- 112) **Patti, J.M., B.L. Allen, M.J. McGavin and M. Hook.** 1994a. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu. Rev. Microbiol.* 48: 585-617.
- 113) **Patti, J.M. and M. Hook.** 1994. Microbial adhesins recognizing extracellular matrix macromolecules. *Curr. Opin. Cell Biol.* 6: 752-758.
- 114) **Patti J.M, Bermell T, Krajewska-Pietrasik D, Abdelnour A, Tarkowski A, Ryden C, Hook M**(1994); The *staphylococcus aureus* collagen adhesion is a virulence determinant in experimental septic arthritis. *Infect Immun*, 62: 152-161.
- 115) **P. MERCIER et M.-P. PELLET** Évolution de l'antibiorésistance de souches de *Staphylococcus aureus* d'origine caprine en France 2003
- 116) **Prevost G; Couppie P, Prevost P, Gayet S, Petiau P, Cribier B, Monteil H, Piemont Y.**(1995). Epidemiological data on *staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. *J Med Microbiol*, 42: 237-245.
- 117) **PrRabaud, Ch.** Les glycopeptides [en ligne], <http://www.google.fr/>, consulté en décembre 2012.
- 118) **Rahimi, H., Saei, H.D., and Ahmadi, M.** 2015. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* : Frequency and antibiotic resistance in healthy ruminants. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(10), e22413.

- 119) **Robinson, D.A., et al.,***Re-emergence of early pandemic Staphylococcus aureus as a community-acquired methicillin-resistant clone.* Lancet,2005. 365(9466): p. 1256-8.
- 120) **Rooijackers, S.H., J. Wu, M. Ruyken, R. van Domselaar, K.L. Planken, A. Tzekou, D. Ricklin, J.D. Lambris, B.J. Janssen, J.A. van Strijp and P. Gros.** 2009. Structural and functional implications of the alternative complement pathway C3 convertase stabilized by a staphylococcal inhibitor. *Nat. Immunol.* 10: 721-727.
- 121) **Rollof, J., J.H. Braconier, C. Soderstrom and P. Nilsson-Ehle.** 1988. Interference of *Staphylococcus aureus* lipase with human granulocyte function. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 7: 505-510.
- 122) **Russell A. D.** (2004). Types of antibiotics and synthetic antimicrobial agents. In: Denyer S. P., Hodges N. A. & German S. P. (eds.) Hugo and Russell's pharmaceutical microbiology. 7th Ed. Blackwell Science, UK. Pp. 152-186.
- 123) **Sako,T and N. Tsuchida.** 1983. Nucleotide sequence of the staphylokinase gene from *Staphylococcus aureus*. *Nucleic Acids Res.* **11**: 7679-7693.
- 124) **SavageIn Accarias S.** 2014. Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Thèse de Doctorat. Université Paul Sabatier. Toulouse; 212.
- 125) **Schlegel H. G.** (2003). General microbiology. 7th Ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- 126) **Shaw L,Golonka E, Potempa J, Foster S.J.**(2004).The role and regulation of the extracellular proteases of *staphylococcus aureus*.*Microbiology*,150:217-228.
- 127) **Schroeder, K., M. Jularic, S.M. Horsburgh, N. Hirschhausen, C. Neumann, A. Bertling, A. Schulte, S. Foster, B.E. Kehrel, G. Peters and C. Heilmann.**2009. Molecular characterization of a novel *Staphylococcus aureus* surface protein (SasC) involved in cell aggregation and biofilm accumulation. *PLoS One* 4: e7567.
- 128) **Sompolinsky, D., Z. Samra, W.W. Karakawa, W.F. Vann, R. Schneerson and Z. Malik.** 1985. Encapsulation and capsular types in isolates of *Staphylococcus aureus* from different sources and relationship to phage types. *J. Clin. Microbiol.* 22: 828-834.

- 129) **Song, L., M.R. Hobaugh, C. Shustak, S. Cheley, H. Bayley and J.E. Gouaux.** 1996. Structure of staphylococcal alpha-hemolysin, a heptameric transmembrane pore. *Science* **274**: 1859-1866.
- 130) **Spaan, A., H. Henry, A.N. Thorburn, W.J. van Rooijen, C. Badiou, P. Aerts, C.J. De Haas, K.A. van Kessel, C.R. Markay, F. Vandenesch, G. Lina and J.A. van Strijp.** 2012. Panton-Valentine leukocidin receptors. *15th International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections - Session "Miscellaneous - Hot Topics"*.
- 131) **Tahrat, N.Z., Bouheraoua, M., et Boudouane, M.** 2005.
- 132) **TANKOVIC J., AUBRY-DAMON H., LECLERCQ R.** (1997). Résistance aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. *Med Mal infect, special*: 207-16.
- 133) **Taylor M.V, Beatty K.E, Hunter H.K, Baylies M.K.** (1995). *Drosophila* MEF2 is regulated by twist and is expressed in both the primordia and differentiated cells of the embryonic somatic, visceral and heart musculature. *Mech. Dev.* **50**(1): 29-41.
- 134) **Thakker, M., J.S. Park, V. Carey and J.C. Lee.** 1998. *Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. *Infect. Immun.* **66**: 5183-5189.
- 135) **Then, R.L.** 1989. « Resistance to Sulfonamides », in « Handbook of Experimental Pharmacology, Vol 91 », Springer, New York.
- 136) **Titouche Yacine.** 2018. Risques de contamination microbienne du lait cru produit dans la wilaya de Tizi Ouzou. Thèse de doctorat
- 137) **Tomasz A, Nachman S, Leaf H.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Jan. **1991**, p. 124-12
- 138) **Van Belkum, A., D.C. Melles, S.V. Snijders, W.B. van Leeuwen, H.F. Wertheim, J.L. Nouwen, H.A. Verbrugh and J. Etienne.** 2006. Clonal distribution and differential occurrence of the enterotoxin gene cluster, *egc*, in carriage- versus bacteremia-associated isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* **44**: 1555-1557.

- 139) **Van Hoek A. H. A. M., Mevius D., Guerra B., Mullany P., Roberts A. P. & Aarts H. J. M.** (2011). Acquired antibiotic resistance genes: An overview *Front. Microbiol.* 2:203 doi: 10.3389/fmicb.2011.00203.
- 140) **Vautor, E., Abadie, G., Guibert, J.M., Chevalier, N., Pepin, M.,** 2005. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in dairy sheep. *Vet. Microbiol.* 106, 235–239.
- 141) **Van Wamel, W.J., Rooijackers, S.H., Ruyken, M., van Kessel, K.P., van Strijp, J.A.,** 2006. The innate immune modulators staphylococcal complement inhibitor and chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* are located on beta-hemolysin-converting bacteriophages. *J. Bacteriol.* 188, 1310–1315.
- 142) **Virdis S, Scarano C, Cossu F, Spanu V, Spanu C, De Santis E-P.** Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus* and Coagulase Negative Staphylococci Isolated from Goats with Subclinical Mastitis. *Veterinary Medicine International.* 2010.
- 143) **Von Eiff, C, K. Becker, K. Machka, H. Stammer and G. Peters.** 2001. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J. Med.* **344**: 11-16.
- 144) **Walsh C.** (2003). Antibiotics: actions, origins, resistance. 1st Ed. ASM Press, Washington, DC. 345p.
- 145) **Weisblum B** (1995). Erythromycin resistance by ribosome modification. Vol 39, No 3, p 577-585.
- 146) **WHO guidance,** Public health response to biological and chemical weapons: (2004), Annex2: Toxins.
- 147) **Winstel V, Liang C, Sanchez-Carballo P, Steglich M, Munar M, Bröker BM, Penadés JR, Nübel U, Holst O, Dandekar T, Peschel A, Xia G.** Wall teichoic acid structure governs horizontal gene transfer between major bacterial pathogens. *Nat Commun.* 2013;4:2345. doi: 10.1038/ncomms3345. PMID: 23965785; PMCID: PMC3903184.
- 148) **Wondrack L, Sutcliffe J, Grebe T, Tait-Kamradt A** (2006). Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. *Antimicrob Agents Chemother* 40(11):2562-6. Doi: 10.1128/AAC.40.11.2562.
- 149) **World Health Organization,** editor. Antimicrobial resistance: global report on

Surveillance. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2014. 232p.

- 150) **Wu, S., Piscitelli, C., de Lencastre, H., Tomasz, A.** Tracking the evolutionary origin of methicillin resistance gene: cloning and sequencing of a homologue of *mecA* from a methicillin susceptible strain of *Staphylococcus sciuri*. *Microb Drug Resistance*. 1996; 2(4), p435-441.
- 151) **XIA G, KOHLER T, PESCHEL A.2010.** The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, 300:148–154.
- 152) **Yamasaki O, Kaneko J, Morizane S, Akiyama J, Narita S, Chiba J, Kamio Y, Iwatsuki K, (2005).** the association between *staphylococcus aureus* strains carrying panton-valentine leukocidin genes and the development of deep-seated follicular infection. *Clin Infect Dis*, 40 : 381-385.
- 153) **Zhou Z, Zhang M, Li H, et al.** Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from goats in Chongqing, China. *BMC Vet Res*. 2017;13:352
- 154) **[http//.anses.fr](http://.anses.fr)**
- 155) **[http//.medical-actu.com](http://.medical-actu.com)**

ANNEXES

Annexes I : Milieux de culture utilisés et leur composition

- **Gélose de Baird-Parker**

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

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

Préparation de l'émulsion de jaune d'oeuf

- Utiliser des oeufs frais de poule dont la coquille est intacte.
- Nettoyer les oeufs avec une brosse et un détergent liquide, puis rincer à l'eau courante.
- Désinfecter l'oeuf en le plongeant dans une solution d'éthanol à 70% pendant 30s, puis en les laissant sécher à l'air libre ou réaliser un flambage.
- Aseptiquement, casser chaque oeuf et séparer le blanc du jaune par transferts répétés de demi-coquille à l'autre.
- Recueillir les jaunes d'oeufs dans un récipient stérile et compléter avec quatre fois leur volume d'eau distillée stérile. Homogénéiser vigoureusement.
- Chauffer le mélange à 47°C pendant 2h.
- Entreposer à 3°C ± 2°C pendant 18 à 24h, le temps nécessaire pour la formation d'un précipité.
- Recueillir stérilement dans un flacon le surnageant constituant l'émulsion (Durée de conservation est au maximum 72h à 3°C ± 2°C).

Composition du milieu complet

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

- **Muller Hinton**

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

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

Suite annexe 01 :

- **Eau peptonée tamponnée**

bacto peptone.....20 g
NaCl.....5 g
Na₂ HPO₄.....9 g
K H₂ PO₄.....1,5 g
Eau D..... 1000 ml
pH = 7,2

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

- **Gélose à ADN**

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

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

- **Bouillon coeur-cervelle**

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

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

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

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

	Catalase	ADNase	Coagulase	VP	Code
C1CPEch13 NasEL1	+	+	+	+	S424
C2CPEch13NasEL1	+	+	+	+	S417
C3CPEch13NasEL1	+	+	+	+	S419
C4CPEch13NasEL1	+	+	+	+	S418
C5CPEch13NasEL1	+	+	+	+	S427
C1CPEch17NasEL1	+	+	+	+	S421
C2CPEch17NasEL1	+	+	+	+	S422
C3CPEch17NasEL1	+	+	+	+	S426
C1CPEch21NasEL1	+	+	+	+	S425
C2CPEch21NasEL1	+	+	+	+	S423
C2CPEch26NasEL1	NT	-	NT	+	/
C3CPEch26NasEL1	NT	-	-	NT	/
C2LaitEL1	+	+	+	+	S420
C3LaitEL1	+	-	NT	-	/
C4LaitEL1	+	+	+	+	S428
C1CPEch3NasEL2	NT	+	-	NT	/
C2CPEch 3NasEL2	NT	+	-	NT	/
C1CPEch12NasEL2	+	+	+	+	S433
C1CPEch13NasEL2	+	+	+	+	S436
C2CPEch13NasEL2	NT	-	-	NT	/
C3CPEch13NasEL2	+	+	+	+	S429
C4CPEch13NasEL2	+	+	+	+	S447
C1LaitEL2	NT	+	-	NT	/

(+), test positif ; (-), test négatif ; **NT** : non testé ; **C** : Colonie ; **CP** : caprins ; **EL** : Elevage ; **Lait** : Mélange du lait ; **Nas** : Prélèvement nasal ; **S** : code pour différencier nos prélèvements.

