

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques

Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire :

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

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Contribution à l'étude du portage du *Staphylococcus aureus* chez le bovin et la volaille

Présenté par :

M^{elle} HETTAK Lahna.

M^{elle} RENAI Dalia.

Soutenu devant le jury :

Présidente : M^{me} IRATENI GH., MCB à l'UMMTO.

Encadreur : M^{me} KECHIH S., Médecin vétérinaire principal en chef.

Co -Promotrice: M^{elle} MEGUENNI N., MCB à l'UMMTO.

Examineur: Mr KALEM A., MCB à INSV Blida.

Examineur: Mr TITOUCHE Y., MAA à l'UMMTO.

Promotion : 2017/2018

Remerciements

En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir accordé la force, la patience et le courage pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés rencontrées durant ce parcours universitaire et aboutir finalement à ce modeste travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice Mme KECHIH SALIHA et notre co-promotrice Mme MEGUENNI NASSIMA qui ont été présente avec nous afin d'assurer notre encadrement, orientation dans nos premiers pas dans la recherche scientifique, ainsi que pour leurs conseils permanents et précieux .C'est grâce à vous que ce modeste travail, vois le jour.

Nous tenons à remercier également, les membres de jury qui ont accepté d'évaluer et d'examiner notre travail de recherche.

Nous tenons également à remercier l'ensemble des enseignants de l'UMMTO qu'ils nous ont prodigué durant nos cinq ans de cursus. Sans oublié l'ensemble du personnel de la bibliothèque pour soutien et leur coopération.

Nous remercions sincèrement le Docteur GUENIM TAHA directeur du Laboratoire vétérinaire Régional de Draa-Ben khedda,pour nous avoir facilité l'accès à son laboratoire, ce qui nous a permis la réalisation de ce travail.

Que monsieur AKLI DJAMEL personnel du laboratoire d'analyse de DBK, trouve ici l'expression de nos remerciements pour nous avoir guidé durant notre stage au Laboratoire de Bactériologie.

Un grand merci à tous les éleveurs qui nous ont accueillis au sein de leurs élevages. Nos sincères gratitudes vont cers tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Louange et Gloire à Dieu le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail.

On dédie ce modeste travail à :

Nos chers parents, pour leurs soutien pendant toutes ses années d'études, leurs présence à nos côté, leurs reconnaissance, leurs amour et pour tous leurs sacrifices. Qu'Allah puisse vous accorder encore santé, bonheur et longévité.

Nos chers grands parents, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

Nos chers frères et sœurs pour leur grand amour et leur soutien et leur encouragement.

Nos chères amies, pour leur aide et support dans les moments difficiles.

Et à toutes nos familles et à tous ceux qu'on aime.

Lahna et Dalia

Liste des abréviations

ABG	Antibiogramme
ADH	Arginine dihydrolase
ADN	Acide désoxyribo-nucléotidique
AMC	Amoxicilline
ANT	Aminosides adényltransferase
APH	Aminoside phosphatase
ATB	Antibiotique
ATCC	American Type Culture Collection
B	Bacitracine
BHIB	Brain Heart Infusion Broth
BP	Baird-Parker
CLI	Clindamycine
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	La concentration minimale inhibitrice
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
DBK	Draa-Ben khedda
ENR	Enrofloxacin
ERY	Erythromycine
FOX	Céfoxitine
GEN	Gentamycine
IG	Immunoglobuline
INMV	L'institut national de la médecine vétérinaire
LVR	Laboratoire vétérinaire Régional
MSCRAMM	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
NEO	Néomycine
NR	Nitrate réductase
OXA	Oxacilline
PEN	Pénicilline
PLP	Protéine liant la pénicilline
PNV	Pénicilline Novobiocine
PP	Poules pondeuses
PRC	Poulettes reproductrices chair
PC	Poulets de chair
PsP	Poussins ponte
PVL	Panton-Valentine Leukocidin
SAK	Staphylokinase
SCCmec	Staphylococcal Cassette Chromosome mec
SCN	Staphylococcus à coagulase négative
SARM	S. aureus résistant à la méthicilline
SASM	S. aureus sensible à la méthicilline
SARM-H	Staphylococcus aureus Résistant à la Méthicilline Hospitalier
SXT	Triméthoprime-sulfamides
TSST-1	Toxine de syndrome de choc toxique staphylococcique
VP	Voges-Proskauer

Liste des tableaux

Tableau I : Différenciation des espèces et sous-espèces de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive.....	7
Tableau II :Toxines impliquées dans la virulence de <i>S.aureus</i>	12
Tableau III : Classification des β -lactamines	17
Tableau IV : Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistance	23
Tableau V : Mesures d'hygiène face aux SARM	29
Tableau VI :Profils de résistance apparus chez l'espèce bovine étudiée.....	44
Tableau VII : Résistance des souches de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques testés.....	46
Tableau VIII : Phénotypes de résistance des souches SARM aux antibiotiques	50
Tableau IX :Fréquence de multi-résistance des souches <i>S.aureus</i> aux anti-staphylocoques.....	52

Liste des figures

Figure 01 : Micrographie optique de <i>S. aureus</i> (G × 1000) suite à une coloration de Gram	5
Figure 02 : Schématisation des quelques facteurs de virulence de <i>S.aureus</i>	8
Figure 03 : Fixation des immunoglobulines à la surface de <i>S. aureus</i> sur la protéine A.....	9
Figure 04 : Principales familles des antibiotiques anti-staphylococciques	16
Figure 05 : La partie nasale des bovins	26
Figure06 : Ecouvillonnage nasal de la volaille	32
Figure 07 : Ecouvillonnage nasal des bovins	32
Figure08 : Organigramme récapitulatif pour l'identification de <i>S.aureus</i>	38
Figure09 : Nombre de souches de <i>S. aureus</i> incluses dans notre étude.....	39
Figure 10 : Aspect des colonies de <i>S.aureus</i> sur milieu de Chapman.....	40
Figure11 :Coloration de Gram positive des staphylocoques vue au G×1000.....	40
Figure12 : Mise en évidence de la coagulase libre chez les <i>staphylocoques</i>	41
Figure13 : Test d'agglutination (Staphaurex).....	41
Figure14 : Identification de <i>S.aureus</i> API®Staph.....	42
Figure 15 : Tableau de lecture de la galerie API®Staph(BioMérieux) (photo INMV /LVR DBK, 2018).....	42
Figure16 : Identification du catalogue analytique API Staph	43
Figure17 : Répartition des souches de <i>S.aureus</i> et autres chez les bovins.....	43
Figure 18 : fréquence de <i>S.aureus</i> résistant et sensible vis-à-vis de 13 antibiotiques testés.....	44
Figure 19 : Répartition des souches de portage de <i>S.aureus</i> chez la volaille selon les types de production.....	45
Figure20 : Taux de sensibilité et de résistance des souches de <i>S.aureus</i> aux différents antibiotiques testés chez les produits de la volaille.....	47
Figure 21 : Screening à l'oxacilline de <i>S. aureus</i>	47
Figure 22 : Pourcentage du portage nasal des SARM chez les différents types de production de la volaille	48
Figure 23 : Résistance des SARM aux différentes familles d'antibiotiques testées par type de production chez la volaille	49
Figure 24 : ABG d'une souche de SARM.....	49

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 01

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les *Staphylococcus aureus*

1. Historique..... 03

2. Classification..... 03

3. Habitat..... 04

4. Caractères bactériologiques 04

4.1 Caractères morphologiques..... 04

4.2 Caractères culturels..... 05

4.3 Caractères biochimiques..... 06

5. Facteurs de virulence 07

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques chez *S. aureus*

1. Critères de classification..... 15

2. Principales familles des antibiotiques anti-staphylococciques 16

2.1 Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane..... 16

2.2 Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques 17

2.3 Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines 18

2.3 Inhibiteurs des folates pour les Grams positifs..... 19

3. La résistance des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques 20

4. Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire 21

4.1 Les trois modes d'intervention en médecine vétérinaire 24

Chapitre 3 : Le portage nasal de *Staphylococcus aureus*

1. Rappel sur l'anatomie nasal aviaire et bovine	26
2. <i>Staphylococcus</i> des régions nasales	27
2.1 Chez les humains	27
2.1.1 Comment le <i>S. aureus</i> adhère et se propage dans les fosses nasales ?	27
2.2 Chez les animaux	27
3. Portage des SARM	27
3.1 SARM animal	28
3.2. Les souches de SARM d'origine hospitalier (SARM-H)	28
3.3 Mode de transmission	28
3.3 Moyens de lutttes	29
Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes	
1. Le but de l'étude	30
2. Durée et lieu d'étude	30
3. Nombre de prélèvements	30
4. Matériels courant de laboratoire de microbiologie	30
5. Méthode	30
5.1 Méthode de prélèvements	31
5.2 Recherche des <i>S.aureus</i>	32
5.3 Antibiogramme des souches isolées	36
Chapitre II : Résultats et discussion	
1. Présentation des prélèvements	39
2. Isolement et identification de <i>staphylocoques</i>	39
3. Données concernant l'étude des bovins	43
4. Données concernant l'étude de différents types de production de la volaille.	45
5. Les souches SARM (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline) ..	48
Conclusion	57
Bibliographie	
Annexes	

Résumé

Le portage nasal de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) chez les animaux d'élevage en Algérie a très peu été documenté. Notre étude a pour objectif de déterminer la prévalence du portage nasal des SARM chez les bovins et la volaille.

L'isolement a été effectué sur gélose Chapman, suivi d'une identification biochimique des isolats. L'étude de la résistance aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton, selon les recommandations du CLSI (2015) et la confirmation des SARM par un Screening à l'oxacilline.

Sur 260 échantillons collectés, 66 souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolés à partir des narines des bovins et de la volaille soit un taux de 10, 22% et 31, 32%. Pour la volaille 29, 82% est le taux de *S. aureus* résistant à la méthicilline chez la volaille. Alors que chez les bovins aucune souche de SARM n'a été signalée.

L'analyse globale de la résistance aux antibiotiques a confirmé le caractère de multirésistance qui associe jusqu'à 9 antibiotiques chez la volaille et 5 chez le bovin.

Les résultats de cette étude révèlent que la présence des SARM au niveau nasal des animaux peut présenter un risque de transmission pour les humains ou à l'environnement. Pour cela, l'application de bonnes pratiques d'hygiène et l'utilisation rationnelle des antibiotiques est nécessaire.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, portage nasal SARM, antibioresistance.

Introduction

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

Staphylococcus aureus est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses, notamment au niveau de la muqueuse nasale des humains et des animaux sains, de l'oropharynx (DENIS *et al.*, 2011). Dans la plupart des cas, cette bactérie cohabite sans problème avec son hôte. Cependant dès que les défenses de ce dernier faiblissent (plaie, immunodéficience), elle passe du stade commensale à celui pathogène extrêmement virulent (SHINEFIELD et RUFF, 2009).

Cet agent opportuniste peut causer différentes maladies, allant de simple furoncle à la septicémie, passant de pneumonie à l'endocardite (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

Les maladies causées par ce pathogène versatile sont encore plus graves, si les souches de *S.aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) sont impliquées (BECKER *et al.*, 2015).

Dès 1942, sont apparues des souches de *Staphylococcus* résistantes à la pénicilline par production d'une enzyme : la pénicillinase ou bêta-lactamase, rendant nécessaire la recherche de nouveaux antibiotiques (LUCET *et al.*, 2003). La méthicilline, une bêta-lactamine résistante aux pénicillinases a été utilisée à partir de 1960. Comme pour la pénicilline, *S.aureus* a développé rapidement dès 1961 des résistances vis-à-vis de cet antibiotique (LUCET *et al.*, 2003) d'où le terme de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM).

La résistance à la méthicilline est médiée par l'acquisition d'un élément génétique appelé cassette chromosomique *staphylococcique* (SCC mec) qui porte le gène mec A. Ce dernier code pour une protéine de liaison à la pénicilline (PLP) additionnelle dénommée (PLP2a) ayant une faible affinité pour toutes les β -lactamines (FIGUEIREDO et FERREIRA, 2014). Certains contiennent des gènes de résistance supplémentaires localisés dans des plasmides intégrés codant pour des résistances aux macrolides, aminosides, tétracyclines, rendant ainsi la souche multi-résistante (DEURENBERG et STOBBERINGH, 2008).

Au cours de ces dernières années, un nouveau clone de SARM est apparu en Europe et associé aux animaux d'élevage (SARM-L) du complexe clonal CC398. Ce clone a été retrouvé chez les animaux d'élevage, les personnes en contact avec ces animaux (vétérinaires et agriculteurs)

et dans des aliments d'origine animale (CHAIRAT *et al.*, 2015). Ce clone porte un nouveau gène de résistance à la méthicilline nommé Mec C qui partage 70% d'homologie avec le gène *mecA*.

La première souche de *S.aureus* résistante à la méthicilline d'origine animale, a été isolée en Belgique en 1972 au cours d'une mammite bovine (CUNY *et al.*, 2010). D'autres souches de SARM ont été décrites chez les bovins (2004, 2007, 2008) respectivement au Pakistan, Corée, puis la plus récente en 2010 au pays Bas (CUNY *et al.*, 2010).

Les études ont été également réalisées chez la volaille des descriptions ont eu lieu en Belgique en 2008, 2009 (LEFEVRE *et al.*, 2005).

En Algérie, peu de données sont disponibles concernant la résistance de souches de SARM chez les animaux d'élevage. Des investigations dans ce contexte peuvent fournir beaucoup d'informations, qui peuvent mener à traiter les diverses pathologies avec plus d'efficacité et par conséquent réduire l'usage des agents antimicrobiens en thérapeutique vétérinaire.

C'est dans le but d'estimer le portage des SARM au niveau nasal des bovins et la volaille que nous avons entamé cette étude. En effet, l'objectif de cette étude est d'une part, l'isolement des souches de *Staphylococcus aureus* dans le but d'étudier la prévalence du portage nasal de ce germe chez les bovins et différents types de production de la volaille. D'autre part, il s'agira de la détermination de leurs résistances à des molécules d'antibiotiques appartenant à différentes familles chimiques et ce, dans le but de prévoir l'existence des SARM.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons partagé ce travail en deux parties. La première est une synthèse bibliographique, présentant les caractères généraux des *Staphylocoques* et les différents mécanismes de résistances de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des antibiotiques, généralités sur le portage nasal. La deuxième partie, consacrée à l'étude expérimentale

Chapitre I: Généralités sur les *Staphylococcus aureus*

1. Historique

Les premières descriptions des staphylocoques isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce ne sont que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi, en 1878, il a été observé par Robert Koch puis fut reconnu par Pasteur deux ans plus tard (LE LOIR et GAUTIER, 2010). La même année Alexander Ogston, un chirurgien écossais, a établi de façon concluante le rôle causatif du coccus dans les abcès et d'autres lésions suppuratives. Il lui a aussi donné le nom *Staphylococcus* (Staphyle, en grec), ce qui signifie « grappe de raisin » ; kokkos, ce qui signifie une baie (SURINDER, 2012).

L'espèce *Staphylococcus aureus* (*aureus* signifie « or » en latin) a été attribuée en 1884 par Anton J. Rosenbach suite à la couleur formée par les colonies sur du milieu sang (AVRIL *et al.*, 2003).

En 1928, la découverte de la pénicilline et de ses propriétés bactéricides par Alexander Fleming ouvrit de nouvelles perspectives pour le traitement des maladies infectieuses.

En 1941 un patient atteint de septicémie fut traité avec succès par la pénicilline. Par la suite, l'ère des antibiotiques allait littéralement révolutionner le traitement. En 1953, fut isolée la première souche de *S.aureus* résistance à la pénicilline (LE LOIR et GAUTIER, 2010). En 1961, c'est au Royaume Uni qu'une souche résistance à la méthicilline (SARM) a été isolée, soit une année seulement après la découverte de cet antibiotique (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

2. Classification

En 1986, le genre *Staphylococcus* appartenait à la famille des *Micrococcaceae* qui comprenait trois autres genres : *Micrococcus*, *Planococcus* et *Stomatococcus*. Les membres de cette famille partagent un certain nombre de caractères généraux (FERERIGHI, 2005). Cependant, avec les débuts de la biologie moléculaire, Baird-Parker sépare définitivement le genre *Staphylococcus* du genre *Micrococcus*, grâce à la différence du contenu en guanine et en cytosine de leur ADN : 66-75% pour *Micrococcus* et 30-39% pour *Staphylococcus*. (SCHLEIFER et BELL, 2009).

La classification du genre *Staphylococcus* ne cesse d'évoluer, selon Euzeby en Bergey's manuel (2002) et NCBI (national center for biotechnology information), la nouvelle classification des staphylocoques est la suivante :

Règne : Bacteria
Domaine :.....Eubacteria
Division :..... Firmicutes
Classe :.....Bacilli
Ordre :.....Bacillales
Famille :.....*Staphylococcaceae*
Genre :*Staphylococcus*

Le genre *Staphylococcus* comprend actuellement 47 espèces et sous-espèces seules dix-huit espèces sont retrouvées chez l'homme. Les espèces sont généralement classées en deux groupes sur la base de la capacité à produire une coagulase libre. Parmi ces espèces *S.aureus*, sans doute la plus connue et la plus communément liée aux pathologies de l'homme (LE LOIR et GAUTIER 2010).

3. Habitat

Staphylococcus aureus est un commensal de la peau et des muqueuses (nasal notamment) de l'homme et des animaux (LE LOIR et GAUTIER, 2010) se sont des bactéries résistantes aux conditions hostiles de l'environnement (chaleur, sécheresse, salinité) (BERCHE, 2003).

Les *Staphylococcus* en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore normale de nombreux individus. Ils sont retrouvés particulièrement dans les fosses nasales antérieures (*S.aureus* 30 à 40%, *S.epidermidis* 30 à100%) et au niveau des zones chaudes et humides de celle-ci (aisselle, périnée) et les mains (WERTHEIM *et al.*, 2005).

Le réservoir animal doit être pris en compte même si l'importance du portage de *S. aureus* chez les animaux domestique est moins bien connue que chez l'homme. *S. aureus* a été isolé chez les bovins et les ovins (fosses nasales, fèces) et chez les volailles (fosses nasales, peau).

En général, les souches de *S. aureus* isolées d'animaux appartiennent aux biotypes spécifiques de l'hôte : biotype aviaire chez les volailles, bovin chez les vaches et ovin chez les chèvres et moutons (FERERIGHI, 2005).

4. Caractères bactériologiques

4.1 Caractères morphologiques

Ce sont des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques, en courtes chaînettes ou en amas, ayant la forme de grappe de raisin, de 0,8 à 1 μ de diamètre (figure 1). La grande majorité des souches sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture (SCHLEIFER, 2009 ; THAPALIYA *et al.*, 2015)



Figure1 : Micrographie optique de *S. aureus* (G x1000) suite à une coloration de Gram (Anonyme, 2018).

4.2 Caractères cultureux

Comme tous les germes très répandus dans la nature, *S. aureus* fait partie des aéro-anaérobie facultatif qui se cultive facilement sur les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variables (de grandes variations sont tolérées respectivement de 10 à 45 °C et de pH de 5,6 à 8,1) (FERERIGHI, 2005).

Les *Staphylocoques* sont isolés des aliments utilisant des milieux sélectifs et différentiels pour sélectionner des membres du genre *Staphylococcus* tels que l'Agar Baird-Parker (BP) et agar au sel de mannitol (FETSCH, 2018).

BP agar a été développé par Baird-Parker et contient du chlorure de lithium, du tellurite de potassium et du jaune d'œuf. La présence de sel et de tellurite de potassium sélectionne pour le genre *Staphylococcus*, qui réduit la tellurite formant des colonies noires.

Un autre milieu largement utilisé pour l'isolement de *S. aureus* est le Mannitol Salt Agar, qui inhibe la croissance d'autres bactéries en raison de la présence de 7,5% de NaCl. , *S. aureus* fermente le mannitol et forme des colonies jaunes sur le milieu.

De plus, la gélose au sang est souvent utilisée pour l'isolement de *Staphylococcus spp.* *S. aureus* produit des colonies jaunes, circulaires et de taille moyenne arrondies par un halo clair indiquant une activité hémolytique sur gélose au sang (FETSCH, 2018).

En bouillon, la culture est rapide ; en quelques heures, un trouble homogène puis un dépôt sont observés ; il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

Sur gélose ordinaire, les colonies sont lisses, rondes, bombées, brillantes, opaques, de 1 mm de diamètre. Elles se pigmentent habituellement en jaune doré (*aureus*), parfois en jaune citron, et parfois sont non pigmentées.

Sur gélose profonde la croissance est observée sur toute la hauteur du tube signant le caractère aéro-anaérobie facultatif (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

4.3 Caractères biochimiques (Tableau I)

Les principaux caractères biochimiques pris en compte sont oxydase négative et catalase positive, la capacité à métaboliser les sucres et la production d'arginine dihydrolase (ADH), sa croissance est plus rapide et plus abondante en condition aérobie qu'en condition anaérobie (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

Globalement, l'espèce *S.aureus* peut être différenciée des autres *staphylocoques* par la présence simultanée d'une coagulase libre et d'une DNase thermostable (FAUCHERE et AVRIL, 2002)

Tableau I : Différenciation des espèces et sous-espèces de *Staphylococcus* à coagulase positive (FRENEY, 2007).

Caractères	<i>S.aureus</i> <i>subsp</i> <i>aureus</i>	<i>S.aureus</i> <i>subsp</i> <i>anaerobius</i>	<i>S.</i> <i>Intermedius</i>	<i>S.</i> <i>Hyicus</i>	<i>S.</i> <i>delphini</i>	<i>S.</i> <i>Schleiferis</i> <i>ubsp.</i> <i>coagulans</i>
Croissance en aérobiose	+	ND	+	+	+	+
Diamètre des colonies $\geq 5\text{mm}$	+	-	+	+	+	+
Pigment	+	-	-	-	-	-
Hémolyse	+	+	+	-	+	+
Coagulase libre (plasma de lapin)	+	+	+	d	+	+
Clumping facteur	+	-	D	-	-	-
DNase thermostable	+	+	+	+	-	+
Acidification de maltose	+	+	ND	-	+	-
Acidification de D-Tréhalose	+	-	+	+	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
Oxydase	-	-	-	-	-	-

Légende : + : 90% de souches positives ; - : 90% de souches négatives ; d, 11-89% de souches positives ; ND, non déterminé.

5. Facteurs de virulence

Pratiquement toutes les souches de *Staphylococcus aureus* expriment de nombreux facteurs de virulence potentiels qui contribuent à la pathogénicité du germe (WEBER, 2005), on distingue des composants de la paroi, des composants de surface et des composantes élaborées (figure 2).

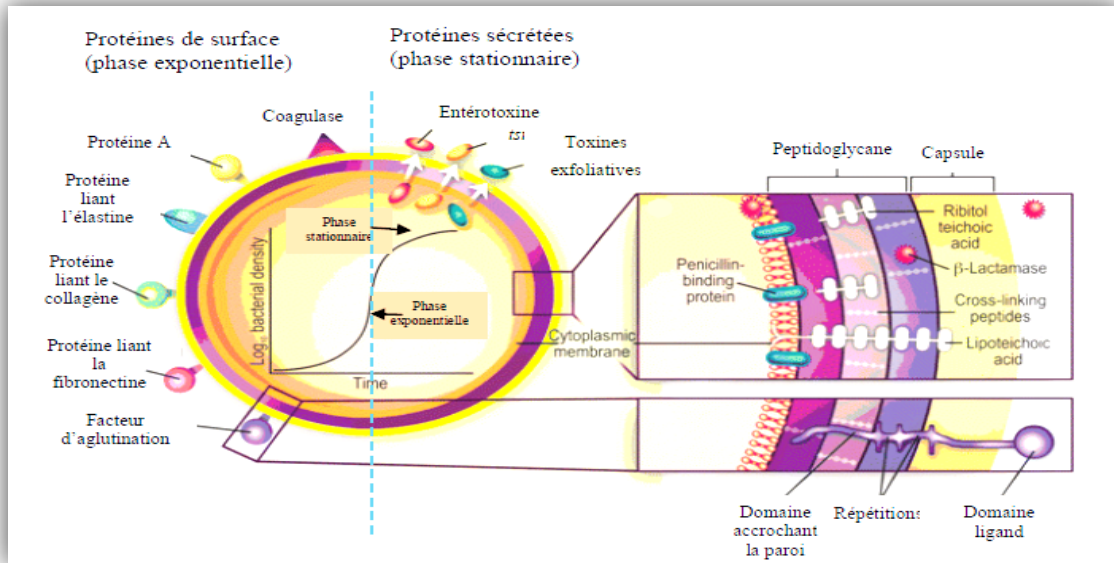


Figure 2 : Schématisation des quelques facteurs de virulence de *S.aureus* (GORDON et LOWY, 2008).

5.1 Composantes de la paroi

- **Exopolysaccharides capsulaires**

Staphylococcus aureus a été toujours considéré comme une bactérie non capsulée ; en effet la présence de capsule classique, c'est-à-dire visible en microscope optique en présence d'encre de Chine n'a été démontrée que par très peu de souches. En revanche, la majorité des souches isolées d'infection humaines et animale produisent des polysaccharides capsulaires qui forment des microcapsules non visibles en microscope optique (FERERIGHI, 2005).

La fonction de la capsule dans la virulence n'est pas entièrement claire, bien qu'elle facilite l'adhérence de la bactérie aux cellules endothéliales. La capsule est capable d'interférer avec la phagocytose des *S.aureus* et pourrait masquer les antigènes de la paroi cellulaire (RISLEY, 2007).

- **L'acide téichoïques**

S.aureus possède des acides téichoïques de type polyribitol phosphate qui sont associés au peptidoglycane et représente environ 40% de la masse de la paroi (FERERIGHI, 2005). Il assure trois rôles principaux :

- 1) La protection contre les antimicrobiens et le stress environnemental,
- 2) Le contrôle de l'activité enzymatique et la concentration cationique de l'enveloppe,
- 3) La liaison aux différents récepteurs et surfaces (XIA *et al.*, 2010).

- **Le Peptidoglycane**

La paroi de *S.aureus* est formée d'un peptidoglycane épais et très réticulé qui représente environ 50% de la masse de la paroi. Il est hydrolysé par la lysostaphine mais résiste à l'action des lysozymes.

Ainsi il est formé de chaînes linéaires de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique réunie par des liaisons β 1-4 et β 1-6 ; au niveau de l'acide N -acétylmuramique se fixe un tétrapeptide de L-alanine, acide D- glutamique, L- lysine et D -alanine ; des ponts penta ou hexaglycines unissent la lysine d'un tétrapeptide à l'alanine de suivant. Chez *s.aureus* de très rares molécules de L-sérines remplace la lysine (MACZULAK, 2011).

5.2 Composantes de surfaces

L'interaction entre la bactérie et l'hôte passe tout d'abord par la capacité de la bactérie à adhérer aux composants de la matrice extracellulaire de la cellule hôte. Pour cela, les protéines de surface jouent un rôle primordial dans l'adhésion et initient ainsi la colonisation.

S. aureus exprime un certain nombre de facteurs qui ont le potentiel d'interférer avec les mécanismes de défense de l'hôte(LE LOIR, 2010).

- **La Protéine A**

La protéine A est un antigène spécifique à un groupe de souches de *S.aureus*. Quarante-vingt-dix pour cent de la protéine A se trouve dans la paroi cellulaire, liée de manière covalente au peptidoglycane. Elle est absente à la fois chez les *staphylocoques* à coagulase négative (CNS) et chez les microcoques (SURINDER, 2012). Elle a une propriété assez inattendue qui est sa liaison non spécifique au fragment Fc de presque tous les types d'IgG. Cela empêche les immunoglobulines de fonctionner en tant qu'anticorps contre les germes envahisseurs puisque leur partie Fab, normalement impliquée dans la liaison antigène-anticorps, « flotte » librement maintenant à la surface des bactéries (HERMANS, 2010) (figure 3).

Elle est élaborée par plus de 90% des souches d'origine humaine (biotype A), les souches d'origine animale étant moins souvent productrices de cette substance (AVRIL *et al.*, 2003).

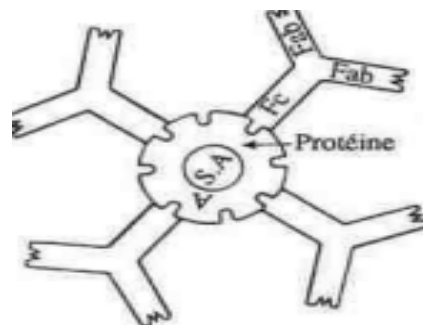


Figure3: Fixation des immunoglobulines à la surface de *S. aureus* sur la protéine A (Avril *et al.*, 2003).

- **Les MSCRAMM :** (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules)

S. aureus possède un ensemble de molécules d'adhésion reliées au peptidoglycane par des liaisons covalentes appelées MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) qui ont un rôle dans la liaison des *staphylocoques* aux sites où la muqueuse est rompue, exposant ces molécules de la matrice à 95,100 composants de la surface microbienne reconnaissant les molécules de matrice adhésive (MSCRAMMs) peuvent se lier lient aux IgG ,au fibrinogène, à la fibronectine et aux polysaccharides apparentés au collagène (DLAWER et KELLICHI, 2004 ; WERTHEIM, 2005).

5.3 Substances élaborées par *S.aureus*

5.3.1 Toxines

- **L'Hémolysine α**

Hémolysine α ou toxine α est un polypeptide de 33 KDa codé par le gène *hla*. Cette dernière est sécrétée par la plupart des souches de *S.aureus* isolées cliniquement. il a été démontré qu'elle était un déterminant majeur de la virulence dans des modèles d'infection animal (KAMIO *et al.*, 2002).

Elle est sécrétée sous forme de monomères qui se regroupent en un heptamère lytique dans la membrane plasmidique des cellules cibles telles que les érythrocytes, les lymphocytes et les plaquettes (AMAN *et al.*, 2010).

- **L'Hémolysine β**

L'hémolysine β est codée par le gène *hlyB*. Cette toxine est une phospholipase C possédant une activité sphingomyélinase permettant la dégradation de la sphingomyéline présente sur la membrane des érythrocytes (DINGES *et al.*, 2000) .

Cependant cette dernière provoque une hémolyse partielle sur gélose au sang de mouton à 37°C ; ce halo d'hémolyse augmente considérablement à 4°C, d'où la dénomination d'hémolyse « chaud-froid ».

Cette toxine est plus fréquemment produite par les souches de *Staphylococcus aureus* d'origine animale (AMAN *et al.*, 2010).

- **L'Hémolysine δ (delta)**

- L'hémolysine δ est un petit peptide de 26 acides aminés, qui agit comme un surfactant au niveau de la membrane cellulaire, exprimée par la majorité des souches de *S.aureus* (AMAN *et al.*, 2010).

- **La Leucocidine**

Issue de la famille des « pore-formingtoxins », la PVL est formée de deux sous-unités (PM de 38 KDa) et F (PM de 32 KDa), qui agissent de façon synergique, portés par un bactériophage et sont présents chez 2% des souches de *S.aureus* (NHAN *et al.*, 2012).

Ces deux composés sont sécrétés séparément et s'associent en octamères 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). 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.

Cependant, la PVL induit la lyse de plusieurs types cellulaires participant aux défenses de l'hôte comme les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, et les macrophages (CATHY *et al.*, 2010).

- **La Toxine exfoliatrice**

Certaines souches de *S.aureus* environ 50% produiraient des toxines exfoliatrices (LADHANI, 2003). Ces toxines sont exoprotéines qui favoriseraient la dissémination de la bactérie en créant des dommages à l'épiderme protecteur permettant à la bactérie de se propager et d'envahir les tissus profonds.

Actuellement, quatre toxines exfoliatrices ont été décrites ; ETA, ETB, ETC, ETD. En pathologie humaine, on trouve principalement ETA et ETB et moins fréquemment ETD. (CATHY *et al.*, 2010).

Cette dernière peut jouer un rôle dans d'autres maladies où l'on pense que les superantigènes sont impliqués comme : la maladie de Kawasaki, la dermatite atopique, la nécrose (LADHANI, 2003).

- **Le Superantigène**

Ce sont des toxines qui se lient au complexe majeur d'histocompatibilité de type II et causent une prolifération majeure des lymphocytes T avec production de cytokines (FRENEY, 2007). Ce sont :

- **L'Entérotoxine**

Les entérotoxines classiques A, B, C1, C2, C3, D, E ont été purifiées dans les années 1960. Elles sont définies par leurs pouvoirs émétiques sur les signes après administration orale. Ce sont des protéines thermostables responsables d'intoxication alimentaire (diarrhée,

vomissement, collapsus cardiaque) apparaissant 1 à 6 heures après l'ingestion de plus 30 à 60% des souches *S.aureus* produisant une entérotoxine (FERERIGHI, 2005).

➤ **Exotoxines TSST**

La TSST-1 (Toxic Shock Syndrome Toxin-1) est une exotoxine chromosomique produite par 95% des souches de *S.aureus* (AVRIL *et al.*, 2003). C'est un superantigène à forte activité mitogène pour lymphocytes T, avec production d'interleukines, ce qui, joue un rôle dans la pathogénie du syndrome de choc toxique (BERCHE, 2003).

Les TSS résultent de la capacité des toxines à stimuler les cellules T avec peu ou pas d'influence par la spécificité de l'antigène TCR de sorte qu'un pourcentage élevé de cellules T (jusqu'à 30%) sont potentiellement activées. Ce type de stimulation cellulaire entraîne un relâchement massif de cytokines (TNF α , β , IL-1,6) par les macrophages et les cellules T causant ainsi un choc toxique pouvant entraîner même la mort (DLAWER et KELLICHI, 2004).

Tableau II: Toxines impliquées dans la virulence de *S.aureus* (VINCENO *et al.*, 2008).

Familles	Principales toxines	Mécanismes d'action ou syndromes toxémiques spécifiques
Toxines super-antigéniques	Toxine du choc toxique staphylococcique Entérotoxines A à E, G, I à U.	Choc toxique staphylococcique par activation du système immunitaire et libération de cytokines de l'inflammation. Réaction auto-immune (maladie de Kawasaki, rhumatismales)
Toxines formant des pores	Toxines à hélice alpha <ul style="list-style-type: none"> • Alpha-hémolysine • Gamma-hémolysine • Leucocidine de panton-Valentine 	Destruction des cellules de défense de l'hôte par formation de pores au niveau des membranes cellulaires.
Toxines à activité protéolytique	Exfoliatine	<ul style="list-style-type: none"> • Syndrome d'exfoliation généralisé(ou syndrome staphylococcique de la peau ébouillanté • Impétigo bulleux staphylococcique

5.3.2 Enzymes produites par *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques produisent un grand nombre d'enzymes responsables de la destruction des tissus. Ces enzymes facilitent la dissémination des bactéries au sein des tissus, mais leur implication dans la pathogénèse de l'infection n'est pas bien définie.

➤ **Catalase ou superoxyde dismutases**

La réaction à la catalase est positive pour toutes les espèces de *Staphylococcus*, à l'exception de *S.aureus* subsp. *anaerobius* et *S. saccharolyticus* ce qui les sépare des *Streptococcus*. Cette enzyme permet au *Staphylococcus* de survivre à l'intérieur des phagocytes et d'échapper au système immunitaire (HERMANS, 2010).

➤ **La coagulase –libre**

C'est une exo-enzyme thermostable, de 5 à 40 kDa qui permet la coagulation du plasma d'homme ou de lapin ; toujours produite par les souches de *S.aureus* et non produite par *S.epidermidis* et *S. saprophyticus*. Elle se lie à la prothrombine de l'hôte et forme un complexe appelé Staphylothrombine. La thrombine activée transforme donc le fibrinogène en fibrine (AVRIL *et al.*, 2003).

C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et en les protégeant de la phagocytose ; elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées (LE LOIR, 2010).

➤ **La Staphylokinase ou Fibrinolysine**

Staphylokinase (SAK) est une glycoprotéine de 136 acides aminés sécrétée par certaines souches de *S. aureus* (ALESSSI, 2000). Elle agit sur le plasma humain, de chien, de cobaye et de lapin et généralement produite par les souches d'origine humaine (AVRIL *et al.*, 2003).

La SAK facilite l'activation des plasminogène, les précurseurs de la protéase fibrinolytique Plasmine. Elle forme un complexe avec le plasminogène, qui converti ainsi en plasmine ; dans le plasma, cette enzyme peut dissoudre des amas de fibrine sans pour autant y associer une dégradation du fibrinogène (JIN *et al.*, 2004).

➤ **La Hyaluronidase**

Cette enzyme extracellulaire thermolabile hydrolyse l'acide hyaluronique, substance fondamentale de la matrice du tissu conjonctif, ce qui permet la diffusion tissulaire des *S. aureus*. Cette enzyme est produite uniquement dans la phase exponentielle de croissance (ALESSSI, 2000).

➤ **Les Protéases**

La plupart des souches de *S.aureus* possèdent des enzymes ayant une activité protéolytique extracellulaire. Ces enzymes sont réparties en 3 familles, sérine, cystéine et métallo-protéases (SHAW *et al.*, 2004).

La protéase staphylococcique la mieux décrite est une sérine protéase, connue sous le nom de protéase V8. Elle a été proposée pour bloquer l'action des anticorps en les clivant et les inactivant, de plus elle est responsable de la dégradation des protéines liant à la fibronectine induisant ainsi la propagation bactérienne après l'étape initiale d'adhésion (HERMAS *et al.*, 2010).

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques chez *S. aureus*

Le terme antibiotique dérive du grec « anti » qui veut dire contre et « bios » qui veut dire vie. Ce sont des substances antimicrobiennes qui empêchent la multiplication des bactéries (bactériostatique) ou qui les tuent (bactéricide). En bactériologie médicale, les antibiotiques sont donc des composés chimiques, élaborés par un micro-organisme ou produits par synthèse ou par héli synthèse, ayant une activité sur d'autres micro-organismes. (GUILLEMONT, 2006).

1. Critères de classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

➤ L'Origine

Les antibiotiques sont élaborés par un organisme (naturel) ou produits par synthèse (synthétique ou semi-synthétique)

➤ Le Mode d'action

D'après MOULIN et COQUEREL (2002) on distingue cinq grands mécanismes d'action des antibiotiques antibactériens qui sont :

- Action sur la synthèse du peptidoglycane
- Action sur la membrane cytoplasmique
- Action sur l'ADN
- Action sur la synthèse des protéines
- Action par inhibition compétitive

➤ Le Spectre d'activité

C'est la liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

➤ Nature chimique

Les antibiotiques utilisables en thérapeutique sont très nombreux et ils sont regroupés en famille selon leur structure de base chimique (exemple cycle de β -lactame) sur laquelle il y a hémisynthèse (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

2. Principales familles des antibiotiques anti-staphylococciques

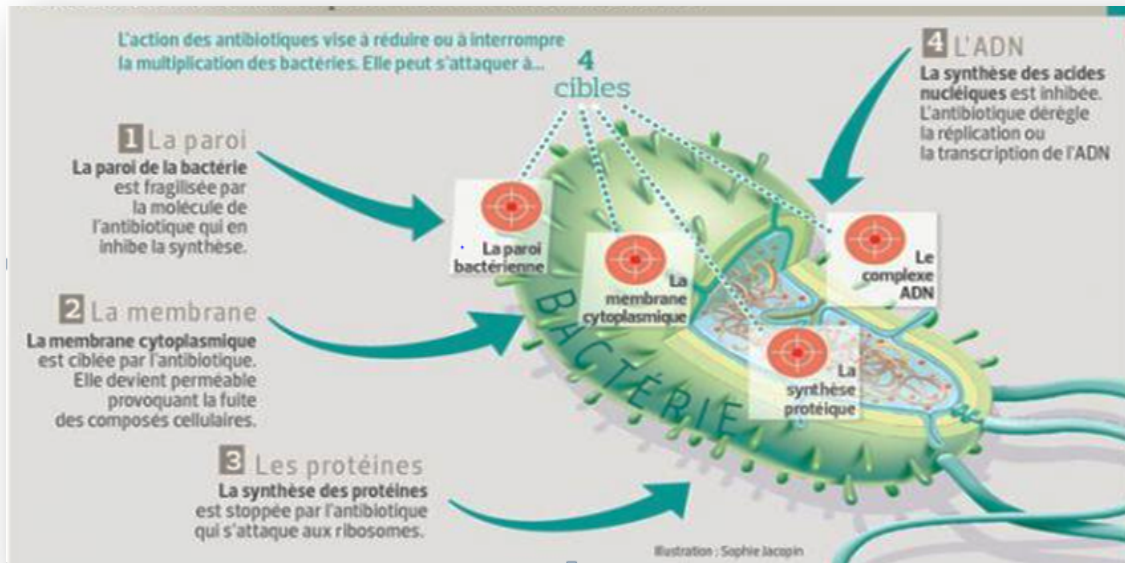


Figure4 : Principales familles des antibiotiques anti-staphylococciques (CHAKRABORTY *et al.*, 2012).

2.1 Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane

Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse de la paroi bactérienne ; ils ont un indice thérapeutique élevé car leur cible n'existe pas dans les cellules eucaryotes (PRESCOTT *et al.*, 2013).

➤ Famille des β -lactamines

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, connues pour leurs grande variété de leur modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent leur popularités et l'importance de leur utilisation depuis plus de 60ans (CAVALLO *et al.*, 2004).

Structure

La structure de base des β -lactamines est le noyau azétidinone ou β -lactame qui contient la structure carbonyle lactame indispensable pour l'activité des molécules. Sur cette structure est fixé un cycle penta-atomique saturé (pénème), insaturé (pénème) ou hexa-atomique (céphème) (MOULIN et COQUEREL, 2002)

Mode d'action

Les bêta-lactamines ont pour cibles différentes enzymes (protéines liant les pénicillines ou PLP) impliquées dans la formation du peptidoglycane. La fixation des bêta lactamines à ces cibles entraîne l'absence de polymérisation du peptidoglycane et secondairement la synthèse par la bactérie d'autolysines conduisant à sa mort. Les bêta-lactamines sont donc bactéricides. La sensibilité des souches de *S. aureus* sauvages aux bêta lactamines varie selon la molécule (DAUREL, 2008).

Tableau III : Classification des β -lactamines (BOULAHBAL, 2014).

Noyau	Groupes	Sous-groupes	Principaux antibiotiques
Pénames	Pénicillines	Pénicilline G	Pénicilline G pénicilline V
		Pénicilline M (anti <i>Staphylococcus aureus</i> productrice de Pénicillinase)	oxacilline ou cloxacilline
		Pénicilline A	ampicilline amoxicilline
	Méthoxypénames oxapénames		
Céphème	Céphalosporines	5 générations	Céfalotine, céfalexine (1G) Céfoxitine(2G) Céfotaxime(3G) Céfépime(4G) Ceftaroline(5G)
	Céphamycines	Identique aux Céphalosporines de 2 ^{ème} génération.	
	oxacéphèmes		Latamoxef
Pénèmes	Carbapénème		
Monobactame			

➤ Les Glycopeptides

Antibiotique à structure complexe hétérocyclique associant une partie peptidique, une partie osidique et des chaînes d'acide gras (BOULAHBAL, 2014).

Les produits commercialisés sont la vancomycine et la teicoplanine.

Spectre d'action

Ces molécules agissent sur les bactéries à gram positives (*Staphylocoque* et *Streptocoque*), elles sont utilisées en milieu hospitalier dans le traitement des infections sévères à cocci gram positif (*staphylocoques méticillino-résistants*, *Entérocoque*) (BOULAHBAL, 2014).

Mode d'action

Ils utilisent une caractéristique des précurseurs du peptidoglycane qui est de comporter une acyl-D-alanyl-D alanine à leur extrémité. Les glycopeptides se lient aux D-Ala-D-Ala terminaux des précurseurs à la surface de la bactérie avec une haute affinité, bloquant ainsi l'addition des précurseurs à la chaîne du peptidoglycane naissant et prévenant les étapes ultérieures de polymérisation. Ces molécules sont lentement bactéricides. (DAUREL, 2008).

➤ **Les polypeptides Staphylococcique**

Bacitracine est un antibiotique polypeptidique, hydrosoluble et basique

Mode d'action

Antibiotique bactéricide par inhibition de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne
Spectre très étroit orienté uniquement sur des bactéries à Gram positif (PUYT *et al.*, 2013).

2.2 Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

Ce groupe d'antibiotique est constitué entièrement de molécules synthétiques qui sont divisées en 4 générations. Des représentants des 3 générations tel que l'acide nalidixique, l'enrofloxacin, le ciprofloxacine, l'orbifloxacine sont des molécules utilisées en milieu vétérinaire; aucun représentant de la 4^{ème} génération n'est commercialisé en médecine vétérinaire (MUYLAERT, 2014).

- **Mode d'action**

Les quinolones ciblent l'ADN gyrase et les topoisomérases II et IV, empêchant la réplication de l'ADN bactérien (WALKER et DOWLIND, 2006).

2.3 Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines

➤ **Les aminosides ou aminoglycosides**

Sont des antibiotiques bactéricides de la famille des aminoglycosides; ils comprennent la kanamycine, l'amikacine, la gentamycine, la nétilmycine, la tobramycine (BOULAHBAH, 2014).

- **Structure**

Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol (YALA *et al.*, 2001).

- **Mode d'action**

Les aminosides perturbent la synthèse des protéines au niveau de la sous-unité 30S des ribosomes des bactéries entraînant la destruction bactérienne (YALA *et al.*, 2001).

- **Macrolides**

- **Structure**

Ils sont constitués d'un grand cycle lactone ou olide auquel sont liés plusieurs sucres dont certains sont aminés (BOULAHBAH, 2014).

- **Mode d'action**

Les macrolides et apparentés se fixent sur la sous-unité 50 S au niveau de l'ARN ribosomal 23S entraînant une inhibition de la phase d'élongation de la synthèse protéique (BOULAHBAH, 2014).

- **Les cyclines ou Tétracyclines**

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre, actifs sur les bactéries à développement intracellulaire.

- **Structure**

Ces molécules ont pour caractéristiques de posséder quatre cycles accolés, d'où leur nom.

- **Mode d'action**

Le mécanisme le plus étudié implique la synthèse de pompes d'efflux actif intercalées dans la membrane cytoplasmique et maintenant la concentration intracellulaire de l'antibiotique suffisamment basse pour permettre à la bactérie d'assumer la synthèse protéique. Ces pompes sont codées par des gènes *tet* (WINSTON, 2009).

- **Clindamycine**

C'est un dérivé semi-synthétique des lincosamides, proche des macrolides.

- **Mode d'action**

Elle se fixe spécifiquement à la sous-unité 50S pour inhiber la synthèse protéique bactérienne.

2.3 Inhibiteurs des folates pour les Grams positifs

- **Sulfamides**

Structure

Noyau para-amino-benzènesulfamide avec un radical R.

Mode d'action (mécanisme d'inhibition compétitive)

Ce mécanisme est propre aux sulfamides, du fait de l'analogie structurale importante entre les sulfamides et l'acide para-amino-benzoïque indispensable à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. Le noyau actif des sulfamides est utilisé par erreur par la bactérie à la place de

l'acide para-amino-benzoïque. C'est une erreur métabolique fatale pour le germe (BOULAHBAH, 2014).

3. La résistance des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques peut être définie selon différents points de vue:

- Pour le clinicien, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si le traitement n'est pas efficace.
- Pour le pharmacologue, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si les concentrations atteintes au site d'action, sont inférieures à la concentration minimale inhibitrice.
- Pour le microbiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la concentration minimale inhibitrice.
- Pour l'épidémiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle a une concentration minimale inhibitrice significativement différente de celle de la population normale (GUILLEMONT, 2006).

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est déterminée principalement par deux techniques:

- la mesure de la concentration minimale inhibitrice qui consiste à mesurer la première concentration qui inhibe la croissance d'une souche bactérienne
- la mesure d'un diamètre d'inhibition autour d'un disque contenant une quantité connue d'antibiotiques obtenue sur une gélose inoculée avec la souche étudiée (méthode par diffusion).

3.1 Différentes types de résistance aux antibiotiques

➤ La résistance naturelle

La bactérie est d'emblée résistante à un antibiotique donné. Elle ne fait pas partie du spectre d'action de cet antibiotique. La résistance naturelle est spécifique d'espèces.

Les mécanismes de la résistance naturelle peuvent être:

- L'imperméabilité de la paroi bactérienne.
- La synthèse d'enzymes naturelles chromosomiques.
- **La résistance acquise à un antibiotique**

Elle survient chez les bactéries qui étaient au départ sensibles à l'antibiotique car elles ne font pas partie de son spectre d'action.

- la résistance chromosomique

Elle survient suite à une mutation, entraînant généralement une modification des structures bactériennes. Le taux de la mutation bactérienne est de 10^{-6} à 10^{-9} (RAMDANI et BOUGUESSA, 2014).

- La résistance par acquisition de gènes

C'est le mécanisme le plus fréquent. Les gènes acquis par la bactérie peuvent être portés par un plasmide ou un transposon. Ces éléments génétiques rendent la bactérie résistante à l'antibiotique par la synthèse de nouvelles protéines (BOULAHBAH, 2014).

3.2 Mécanismes de résistances de *Staphylococcus aureus* par famille d'antibiotiques

❖ Résistance aux β -lactamines

Deux mécanismes principaux de résistance sont décrits:

- **la production de pénicillinase**

La pénicillinase staphylococcique est le produit d'expression du gène *blaZ* qui est porté par un plasmide ou un transposon (ANDREA *et al.*, 2018).

La pénicillinase est une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle β -lactame des pénicillines G et l'ampicilline et donc de rendre inapte l'antibiotique. Ces enzymes ne sont pas capables d'inactiver les pénicillines M (conçues spécialement pour résister à l'hydrolyse avec l'ajout d'un radical chimique sur le noyau β -lactame) et les céphalosporines (DAUREL, 2008; WEBER, 2010).

- **Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle : la PLP2a**

Les PLP sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyltransférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédante une affinité pour les β -lactamines. La résistance à la méthicilline, qui entraîne une résistance à toutes les β -lactamines, est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (*mecA*) qui code pour la PLP2a. Cette PLP additionnelle a moins d'affinité pour les β -lactamines et en particulier pour la méthicilline. Ce mécanisme est présent chez les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et chez les *Staphylococcus* à coagulase négative.

La régulation du gène *mecA* est principalement sous la dépendance de deux gènes : les gènes *mecI* (répresseur du gène *mecA*) et *mecR* (anti-répresseur).

La résistance conférée par *mecA* peut être homogène (résistance exprimée par toutes les souches) ou hétérogène (résistance exprimée seulement par une proportion des colonies filles issues d'une colonie mère exprimant la résistance).

Chez les souches présentant une résistance hétérogène à la méticilline, le niveau de résistance n'est pas corrélé avec la quantité de PLP2a, mais semble être sous la dépendance de quatre gènes *fem A, B, C, D* (facteurs essentiels à la méthicillino-résistance) chromosomiques impliqués dans la formation du pont interpeptidique pentaglycine du peptidoglycane (QUINCAMPOIX, 2001).

- **Autres mécanismes de résistance**

- Modification de protéines de liaison à la pénicilline autres que la *PLP2a*

Ce mécanisme résulte d'une modification des PLP de la bactérie. Ce sont les souches dites MODSA (pour « Modified PBP *S. aureus* »). L'affinité diminue concerne le plus souvent les PLP1 et PLP2 et les souches expriment une résistance de bas niveau à l'oxacilline CMI de 1 à 4 mg/L

- Mécanisme enzymatique

La résistance de telles souches peut également s'expliquer par une hyperproduction de pénicillinase ou par la production d'une méthicillinase, enzyme hydrolysant les β -lactamines de classe M, (oxacilline, dicloxacilline, méthicilline) inductibles par la méthicilline (CMI de l'oxacilline 0,5–2 $\mu\text{g/mL}$) (CATTOIR et LECLERCQ, 2012).

- ❖ **Mécanisme de résistance des glycopeptides**

Différents termes et acronymes, VISA, GISA, hétéro-VISA, ont été utilisés pour définir les souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides et plus récemment VRSA pour les souches résistantes (DAUREL, 2008).

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 vancomycine-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).

- ❖ **Mécanisme de résistance aux quinolones**

Les résistances du staphylocoque aux quinolones sont liées à des mutations dans les cibles, qui sont l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV bactériennes, impliquées dans la

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques chez les *Staphylococcus aureus*

synthèse de l'ADN bactérien (LECLERCQ, 2002) et plus récemment des résistances plasmidique par le gène *Qnr* (SALHI, 2013)

❖ Résistance aux macrolides et lincosamides

Il existe trois mécanismes de résistance des macrolides et des lincosamides, le plus connu est une modification de la cible ribosomale. La partie ribosomale est modifiée par une attaque enzymatique, l'adénine en position 2058 de l'ARNr 23S se retrouve alors méthylée. Les enzymes en cause sont des méthylases codées par des gènes de la famille *erm* (erythromycinrésistance méthylase). La méthylation empêche la fixation de ces antibiotiques et leurs actions. Cette résistance peut être inductible (induite en présence de macrolides) ou constitutive (BOULAHBAL, 2014).

❖ Résistance aux aminosides

Les aminosides inhibent la synthèse protéique. Le principal mécanisme de résistance aux aminosides (Neomycine, kanamycine, tobramycine, gentamicine) est lié à des modifications de la cible ribosomale par des enzymes codées par des gènes plasmidiques ou transposables. Il existe trois enzymes de résistance, chacune d'entre elles conférant un phénotype de résistance spécifique aux aminosides (QUINCAMPOIX et MAINARDI 2001; LECLERCQ, 2002).

Tableau IV: Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistance (DAUREL, 2008).

Phénotype		Enzymes	Rôle dans la résistance
Kanamycine Néomycine	K	Aminoside phosphotransférase 3' type III [APH (3')-III]	confère une résistance à haut niveau à la kanamycine et à la néomycine. Cette enzyme phosphoryle lentement l'amikacine, qui conserve une activité bactériostatique mais perd son activité bactéricide
Kanamycine Tobramycine	KT	Aminoside nucléotidyltransférase 4' -4'' type (I) [ANT(4')-(4'')-I]	confère une résistance à haut niveau à la kanamycine et à la tobramycine
Kanamycine Tobramycine Gentamicine	KTG	Aminoside acétyltransférase 6'-phosphotransférase 2'' [AAC (6')-APH (2'')]	cette enzyme qui possède deux fonctions. confère une résistance à haut niveau à la kanamycine, à la tobramycine et à la gentamicine

❖ Mécanisme de résistance aux Tétracyclines

La résistance aux tétracyclines est due soit à un mécanisme d'efflux par une protéine membranaire codée par les gènes *tetK* ou *tetL* d'origine plasmidique soit une protection de la cible par une protéine codée par le gène transposable *tetM* (COURVALIN, 2012).

❖ Mécanisme de résistance aux sulfamides

La résistance aux sulfamides est de nature chromosomique, liée à une hyperproduction d'acide para-amino-benzoïque. (TACIC, 2017).

Chez *S. aureus*, la résistance aux sulfamides est fréquente (30 à 50 % des souches de *S. aureus* sensibles à la méthicilline et 80 à 95 % des SARM) (DAUREL, 2008).

4. Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire

L'Agence française de sécurité sanitaire (Afssa) a été saisie en février 2003 par l'association « UFC-Que choisir » sur les risques pour le consommateur, liés à l'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques générées par les usages d'antibiotiques en médecine vétérinaire et en alimentation animale (DANAN, 2006).

L'Office international des épizooties (OIE) définit une liste d'antimicrobiens selon leur importance en médecine vétérinaire, cette liste est parue en mai 2015 (OIE, 2015).

Arrêté du 18 mars 2016 fixant la liste des antibiotiques critiques disponibles en médecine vétérinaire

Le décret relatif à la prescription et à la délivrance des antibiotiques d'importance critique en médecine vétérinaire est paru le 16 mars 2016 (LEGIFRANCE, 2016), en application de l'arrêté ministériel paru le 22 juillet 2015 (LEGIFRANCE, 2015).

En Algérie, les informations concernant les antibiotiques en médecine vétérinaire n'est pas bien documentés ou définie.

4.1 Les trois modes d'intervention en médecine vétérinaire

❖ Les traitements préventifs (prophylaxie)

Ils sont administrés à un moment de la vie de l'animal où l'apparition d'infections bactériennes est considérée comme très probable, après contrôle de la nature de l'infection par des examens de laboratoire (SANDERS, 2011).

❖ Les traitements curatifs

Ils sont administrés aux animaux malades, pour un objectif majeur d'obtenir la guérison des animaux cliniquement et d'éviter la mortalité (SANDERS, 2011).

❖ Les traitements de contrôle (métaphylaxie)

Ils sont prescrits à des groupes d'animaux lorsqu'une partie des individus sont malades et que l'agent pathogène suspecté est connu comme infectieux (SANDERS, 2011).

Pour L'usage des antibiotiques dans l'aliment à titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance a fait l'objet de nombreuses critiques (DANAN, 2006). Les antibiotiques ne sont utilisés chez les animaux qu'en tant que médicaments vétérinaires, soumis à prescription vétérinaire. Plus aucune molécule antibiotique n'est utilisée en production animale comme promoteurs de croissance (SANDERS *et al.*, 2011).

Chapitre3 : Le portage nasal de *Staphylococcus aureus*

Une personne est dite porteuse de *S.aureus* si cette bactérie est présente dans son organisme ; particulièrement au niveau de la muqueuse nasale, sans que cette personne ne soit réellement infecté. On dira alors qu'elle est porteuse saine ou encore que l'infection ne soit pas active chez elle (DIALLO, 2007)

1. Rappel sur l'anatomie nasal aviaire et bovine

- Pour la volaille

Les voies respiratoire extra-pulmonaires ou voies nasales aviaire sont au nombre de deux, situées dans la maxille. Elles sont relativement petites, limitées rostralement par les narines et caudalement par la région orbitaire. Elles communiquent ventralement avec le pharynx par deux choanes. Chez la poule, elles sont complètement séparées par le septum nasal (ALAMARGOT, 200)

- Pour les bovins



Figure 5 : la partie nasale des bovins (ANONYME, 2017)

La cavité nasale est séparée dans le plan médian par cloison : le septum. Elle est entièrement recouverte d'une muqueuse respiratoire, sauf dans le fond, où on trouve une muqueuse olfactive. Le rôle des cavités nasales est d'humidifier et de réchauffer l'air qui rentre au poumon.

2. *Staphylococcus* des régions nasales

S. aureus se développe bien dans les sécrétions nasales et les voies nasales, car il résiste à la fois à une pression osmotique élevée et à une faible humidité. Les sécrétions nasales fournissent un matériau dans lequel la concentration de substances à l'extérieur de la cellule

dépasse celle à l'intérieur de la cellule. Cela crée une différence de pression osmotique de l'extérieur vers l'intérieur qui pourrait tuer d'autres types de bactéries. L'entrée et la sortie d'air dans les voies nasales inhibent également la plupart des bactéries autres que le staphylocoque (MACZULAK, 2011).

2.1 Chez les humains

Il existe 3 modèles de portage nasal distingués chez les individus sains :

- Porteurs permanents environ 20% des individus
Colonisés le plus souvent par une seule souche de *S. aureus* sur une longue période et la charge bactérienne est plus importante.
- Porteurs intermittents environ 30% des individus : colonisés par différentes souches au cours du temps.
- Non porteurs environ 50% des individus (TRISTAN, 2009)

2.1.1 Comment le *S. aureus* adhère et se propage dans les fosses nasales ?

L'épithélium nasal comporte des glandes apocrines, sébacées, ainsi que des follicules pileux (vibrisses). Les fosses nasales antérieures sont une zone très peu ciliée, plutôt stratifiée et kératinisée. Bibel *et al.* (1982) ont démontré l'importance de cet épithélium dans le phénomène d'adhérence de *S. aureus* (CORRIGAN *et al.*, 2009).

Deux mécanismes d'adhésion sont probablement associés : l'adhésion de *S. aureus* est liée à l'hydrophobicité de la surface bactérienne et aux protéines de surface (adhésines) faisant partie du groupe des microbial surface component recognizing adhesive matrix molecule (MSCRAMM) permettant la fixation de *S. aureus* sur les cellules de l'hôte et sur la matrice extracellulaire (fibronectine, fibrinogène, et collagène) (CORRIGAN *et al.*, 2009).

2.2 Chez les animaux

Chez les animaux le portage est variable en fonction des espèces et des études; il reste cependant élevé 50% chez le poulet entre 14 et 23% chez les bovins et 42 % chez le porc (NAGASE *et al.*, 2001) il a été constaté que le taux de portage augmente en fonction de plusieurs facteurs. Parmi ces derniers, la région de collection des échantillons, l'état de santé, les infections de la glande mammaire, et les infections respiratoires favorisent ce portage (GAUTRET, 2013).

3. Portage des SARM

Les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) est un pathogène potentiellement mortel chez l'Homme et sa prescription chez les animaux est un problème de santé publique. Des taux élevés sont généralement rencontrés dans les pays méditerranéens, alors que les pays du nord ont réussi à maintenir ce taux relativement bas (LE LOIR et GAUTIER, 2010).

3.1 SARM animal

Les SARM ont commencé à être isolés chez les animaux à partir des années 1970 jusqu'au début des années 2000 et ce, chez les bovins, les chevaux (LEONARD *et al.*, 2008), y compris les chiens, les chats, les moutons, les poulets, les lapins, les oiseaux, les porcs, etc. La période d'incubation chez les animaux et les humains est très variable (CAVENEY, 2012). Depuis ce temps, la situation a évolué et on rapporte maintenant un nombre sans cesse croissant de cas de SARM chez les animaux, spécialement chez les porcs (NEMEGHAIRE *et al.*, 2013) et les vaches laitières avec transmission entre humains et animaux (LEONARD *et al.*, 2008).

3.2. Les souches de SARM d'origine hospitalier (SARM-H)

Acquises par des patients à l'occasion d'une hospitalisation ou de chirurgie récente ou lors de soins ambulatoires, et secondairement responsables d'une infection, parfois plusieurs années après. La source principale de SARM-H est constituée des patients qui se sont colonisés ou infestés lors d'un séjour précédent dans le même hôpital, ou dans un autre hôpital avec SARM. Les réadmissions peuvent se faire à partir du domicile ou à partir d'établissements médico-sociaux. Le portage nasal à SARM-H peut persister plusieurs mois après la sortie du patient (SWISSNOSO, 2007).

3.3 Mode de transmission

Le mode de transmission principal des SARM est très certainement le contact direct ou par l'intermédiaire de l'environnement, notamment d'objets divers. La transmission s'effectue de l'animal à l'homme et inversement, par simple contact (AUBRY *et al.*, 2004).

Cependant, le contact humain étroit avec les animaux offre plus de possibilités de transmission entre les espèces. Une fois acquise, une transmission horizontale supplémentaire du SARM entre les animaux ou les humains et leurs familles peut se produire (MORGAN, 2008).

De plus, comme leurs animaux de compagnie, les humains compagnons sont plus souvent colonisés que infectés, fournissant un réservoir pour la réinfection de leurs proches, humains et animaux.

MORGAN (2008) a signalé que 20 % des SARM humains provient des réservoirs de porcs et de bovins.

3.3 Moyens de lutttes

Tableau V: Mesures d'hygiène face aux SARM (LEONARD *et al.*, 2006; Lloyd *et al.*, 2007).

Critères	Mesures de contrôle	Commentaires
Eviter l'introduction de l'infection	Détecter les animaux porteurs (portage nasal) ou infectés hospitalisés, et isoler l'animal en attente d'un résultat négatif	
Eviter la transmission de l'animal à l'homme ou de l'homme à l'animal	Hygiène des mains : -Lavage des mains correct à base d'une solution alcoolique. -Couvrir les blessures et les lésions de la peau. -Utiliser des gants, des masques, des protections oculaires, et un matériel de décontamination des plaies à usage unique. -Asepsie chirurgicale stricte -Dépister les SARM sur le personnel soignant	Mesures les plus importantes car une mauvaise hygiène des mains est le vecteur principal de la contamination
Eviter la transmission d'un animal à un autre	Isoler tous les animaux suspects : -Ne pas les faire transiter dans la salle d'attente	Limites imposées par les structures hospitalières
Eviter la transmission indirecte	Mesures strictes de nettoyage et désinfection : -De toutes les surfaces de contact, y compris les portes, les stylos, les stéthoscopes, téléphones. -Différencier les zones infectées de celles qui ne le sont pas contaminés.	La transmission à partir de l'environnement pourrait être de plus grande importance qu'en médecine humaine (plus précisément en médecine équine)

1. But de notre étude

- L'objectif de cette étude est l'isolement des souches de *Staphylococcus aureus* dans le but d'étudier la prévalence du portage nasal de ce germe chez les bovins et différents types de production de la volaille.
- Le second objectif est la détermination de la résistance des souches isolées vis-à-vis quelque molécule d'antibiotique, utilisées en médecine humaine et vétérinaire dans le but de prévoir l'existence des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline).

2. Durée et lieu d'étude

La présente étude s'est déroulée du 26 février au 12 juin 2018 au sein du service bactériologie du laboratoire vétérinaire régional de Draa-Ben khedda, l'un des sept laboratoires de l'institut national de la médecine vétérinaire (INMV).

3. Nombre de prélèvements

260 échantillons biologiques prélevés à partir des narines de la volaille et des bovins ont été effectués :

Volaille

- 172 prélèvements de différents types de produits dont les poules pondeuses, les poulets de chair, poulettes reproductrices chair et les poussins ponte qui vient de différentes régions (Tizi-ouzou, M'sila, Bouira, Bejaia, Boumerdès, Bordj Bou Arreridj)
- Prélèvements effectués au niveau de service d'anatomo-pathologie dans le même Laboratoire après l'autopsie.

Bovins

- 88 prélèvements ont été effectués au niveau de différentes régions de la wilaya (Bouzeguène, Azazga, Akbou, Oued Aissi).

4. Matériels courants de laboratoire de microbiologie

4.1 Matériel biologique

Souches de références

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

4.2 Milieux de cultures usuelles

4.2.1. Milieux de culture et réactifs

- Bouillon cœur cerveau (BHIB)
- Gélose Chapman (Institut Pasteur d'Alger)
- Gélose Baird Parker (Biokar diagnostics, France)
- Bouillon nitraté (CondaPronadisa, Espagne)
- Bouillon Clark et Lubs (Institut Pasteur d'Alger)
- Gélose Muller-Hinton (Biokar diagnostics, France)
- ADH
- Plasma de lapin (bioMérieux SA, France)
- Nitrate réductase 1 (NR1) et 2 (NR2) (Institut Pasteur d'Alger)
- VogesProskauer I (VPI) et II (VPII) (Institut Pasteur d'Alger)
- Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)
- API[®] Staph (BioMérieux)
- latex PASTOREX STAPH-PLUS (Bio –Rad, France)
- Violet de Gentiane
- Lugol, alcool, fuschine
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée stérile
- Poudre d'oxacilline sous forme injectable (Saïdal, Algérie)
- La composition et la préparation des milieux de culture sont détaillées dans l'annexe 1.

5. Méthode

5.1 Méthode de prélèvements

5.1.1 Prélèvement pour l'espèce aviaire

Les échantillons biologiques sont collectés à l'aide d'un écouvillon nasal profond

Technique

- Enfoncer l'écouvillon le plus profondément possible dans la cavité nasale.
- Introduire l'écouvillon dans le cul-de sac conjonctif inférieur, sans toucher la face extérieure de la paupière.
- Effectuer des rotations pour recueillir les sécrétions nasales.

La même procédure est effectuée pour l'autre narine sans changer l'écouvillon (figure 6)



Figure 6: Ecouvillonnage nasal de la volaille (photo INMV /LVR DBK, 2018).

5.1.2. Prélèvement pour l'espèce bovine

Les écouvillons nasaux ont été utilisés pour prélever du mucus de la cavité nasale de chaque bovin (figure 7).

-L'écouvillon est inséré à une distance fixe de 10 cm pour atteindre les meatus ventral.

-l'écouvillon est tourné 10 fois avant son retrait, puis acheminé directement dans 3ml de milieu de BHIB (MAMACHE, 2002).



Figure 7 : Ecouvillonnage nasal des bovins (photo personnelle).

5.2 Recherche des *S.aureus*

5.2.1 Isolement de *S.aureus*

Pour la volaille, un ensemencement direct a été fait sans enrichissement contrairement au prélèvement des bovins qui a été précédé d'un enrichissement sur BHIB pendant 2h avant l'ensemencement sur un milieu sélectif Chapman).

5.2.2 Identification

Etude macroscopique

Après l'obtention d'une culture pure de 24h d'incubation, on examine l'aspect de la colonie selon les critères suivants : la forme, la taille, le bord, l'opacité et la couleur.

Etude microscopique (Coloration de Gram)

La coloration permet de confirmer la pureté des isolats et d'identifier le genre *Staphylococcus*.

Technique

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

- Application du violet de Gentiane pendant 1mn
- Ajout du Lugol deux fois pendant 45s (2×45s)
- Décolorer à l'alcool pendant 30s
- Laver à l'eau distillée.
- Colorer à la fuschine basique pendant 1mn.
- Laver à l'eau distillée.
- Sécher et observer au microscope optique à l'immersion au grossissement x1000 (DELLARAS, 2014).

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

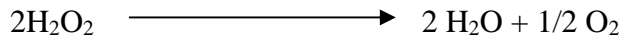
5.2.3 Identification biochimiques

Recherche de la catalase

La peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une substance toxique pour les bactéries cependant certaines bactéries telles que les Staphylocoques produisent une enzyme qui permet d'hydrolyser l' H_2O_2 .

Une goutte d' H_2O_2 est déposée sur une lame propre en verre. Une colonie provenant d'une souche suspecte est prélevée et déposée sur la goutte d' H_2O_2 . On peut aussi déposer directement la goutte d' H_2O_2 directement sur la boîte de culture.

Pour le résultat la souche est dite catalase+ si des bulles de gaz (O₂) apparaissent dans la goutte d'H₂O₂. Le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase (DENIS *et al.*, 2007).



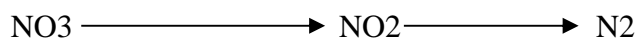
Recherche de la coagulase

Un inoculum issu d'une culture suspecte est repiqué sur BHIB (BrainHeart Infusion Broth) et incubé à 35°C pendant 24 heures. Puis, 0,5ml de cette culture est ajouté à un tube à hémolyse contenant 0,5ml de plasma de lapin. Ces tubes sont ensuite incubés à 35°C pendant 2 à 4 heures (la réaction est plus ou moins lente selon les souches).

Le résultat est observé par inclinaison du tube, un témoin négatif est utilisé (SURINDER, 2012).

Recherche de la nitrate réductase (NR)

Ce test met en évidence la présence d'une enzyme qui réduit le nitrate en nitrite.



Les bactéries à étudier sontensemencées dans le bouillon nitraté. La révélation de la nitrate-réductase sur bouillon nitraté se fait en ajoutant deux gouttes de réactif NR1 et deux gouttes de réactif NR2, qui réagissent avec les nitrites et forment un composé de couleur rouge.

S'il y a apparition de cette couleur rouge, cela vaut dire que la souche a réduit les nitrates en nitrites et elle est considérée NR positif (DENIS *et al.*, 2007).

Le Test VP (Voges-Proskauer)

La mise en évidence de la production d'acétoïne au cours de la fermentation par la voie du butane-diol en présence de réactif VP (en ajoutant quelques gouttes du réactif VP1 et le même volume du réactif VP2), l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné. La lecture s'effectue après quelques minutes (LEBOFFE et PIERCE, 2010).

Recherche de l'arginine dihydrolase ADH

Le milieu Moeller additionné à un acide aminé l'arginine est utilisé pour ce test. Il a consisté à ensemencer les milieux de Moeller à partir d'une culture jeune de la souche et recouvrir les tubes par l'huile de vaseline stérile afin de créer une anaérobiose relative. Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C. La souche de contrôle de qualité a été testée dans les mêmes conditions.

Identification par le système API®STAPH

API®StaphBioMérieux est un système standardisé pour l'identification des genres et espèces de *Staphylococcus*, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés (20 microtubes).

Technique

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Préparation de l'inoculum se fait dans une suspension Medium d'API en ajoutant plusieurs colonies identiques à partir d'une culture jeune de 24h. A l'aide d'une pipette remplir les microtubes autant dépassé la capsule.

Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE, en remplissant leur capsule de l'huile de vaseline. Ensuite, renfermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif.

La lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture.

Recherche de la protéine A

Principe

PASTOREX™ STAPH-PLUS permet la mise en évidence de constituants spécifiques de l'espèce *S.aureus* présents à la surface des bactéries: récepteur de la protéine A et les polysaccharides capsulaire.

Technique

Déposer sur une carte STAPHOREX à usage unique :

- Déposer une goutte de réactif latex test dans un des cercles de la carte d'agglutination.
- Prélever 1 à 2 colonies à identifier, les mettre soigneusement sur la goutte de latex.
- Agiter d'un mouvement de lente rotation ;
- Vérifier l'absence d'agglutination avec le réactif témoin ;
- Observer l'apparition d'une agglutination massive des particules tests en moins de 30 secondes.

Lecture

Une agglutination nette des particules tests avec homogénéité de la suspension témoin indique que le staphylocoque étudié possède le récepteur de la protéine A, donc il appartient à l'espèce *S. aureus*.

5.3 Antibiogramme des souches isolées

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les normes préconisées par le CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) recommandées par l'OMS et agréées par de nombreux pays.

Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement (Chapman) racler à l'aide d'un écouvillon des colonies bien isolées et parfaitement identiques (pures).

Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

La suspension bactérienne est bien homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0.5 McFarlan évalué à l'aide d'un densitomètre.

Elle est ajustée en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau physiologique stérile.

Ensemencement

-Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne.

-Essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.

-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de Mueller-Hinton, de haut en bas, en stries serrées.

Répéter l'opération 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Ensuite, des disques d'antibiotiques (dont la liste est indiquée dans le tableau VI) sont appliqués à l'aide d'une pince stérile. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures. Après lecture des zones d'inhibition, les souches sont classées en : souches sensibles, souches intermédiaires et souches résistantes (RAHAL *et al.*, 2011). (Tableau VI)

Contrôle de qualité

Un contrôle de qualité a été réalisé au préalable de chaque antibiogramme en utilisant des souches de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dans la même condition que la souche à tester. Ce contrôle valide le résultat du test et permet de contrôler les disques d'antibiotiques et la qualité du milieu Mueller-Hinton (RAHAL *et al.*, 2011).

Recherche de la résistance de *Staphylococcus aureus* à la méthicilline (ou Oxacilline)

Le dépistage du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline a été réalisé sur milieu Mueller Hinton additionné de 4% de NaCl et contenant une concentration finale d'Oxacilline de 6µg/ml selon les lignes directrices du (CLSI).

Préparation de la solution d'oxacilline

- Diluer 6mg d'oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1g) dans 10 ml d'eau distillée stérile, puis faire une solution au 1/10^{ème}.
- Mettre 2ml de cette solution dans une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, ajouter 18 ml de gélose Muller Hinton additionnée de 4% de NaCl, mélanger en faisant des mouvements rotatoires.

Inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit équivalente à 0,5 Mac Farland.
- L'ensemencement se fait par spots, en appliquant verticalement sur la gélose l'extrémité d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne.
- Les souches de références doivent être testées dans les mêmes conditions.
- Incuber 24 h à 37°C(RAHAL *et al.* ,2011)

L'ensemble des étapes de notre partie expérimentale est récapitulé dans la figure 8.

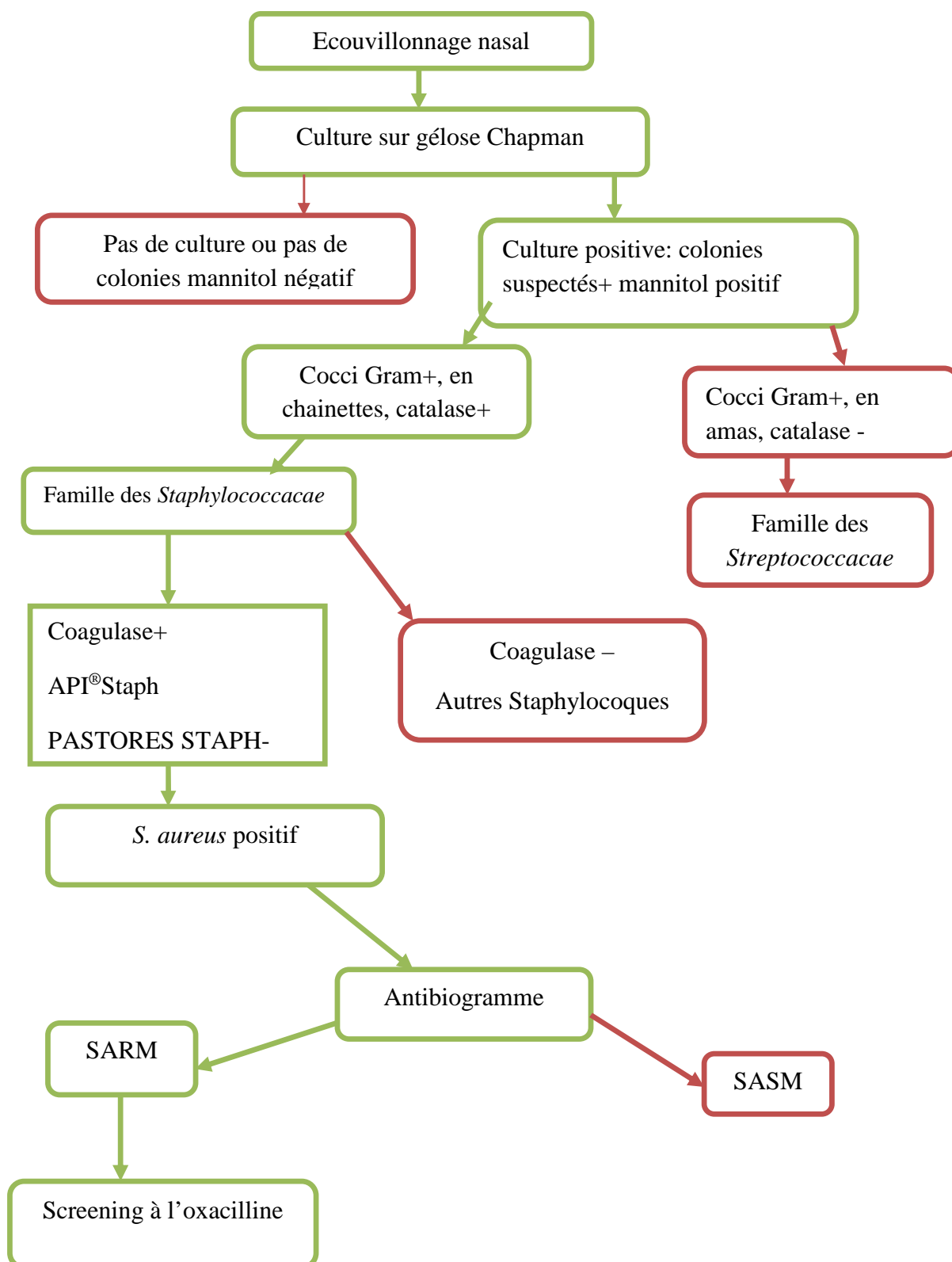


Figure 8 : Organigramme récapitulatif pour l'identification de *S. aureus* (SCHEILFER, 2009).

1. Présentation des prélèvements

Au cours de notre expérimentation au niveau de LVR de DBK, 260 échantillons ont été analysés. 186 prélèvements ont été soumis aux différents tests pour l'identification de l'espèce de *S. aureus*. 66 souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolés et sont réparties comme suit et détaillé en figure 9

- 9 souches isolées à partir des prélèvements des bovins.
- 57 souches isolées à partir des prélèvements de la volaille

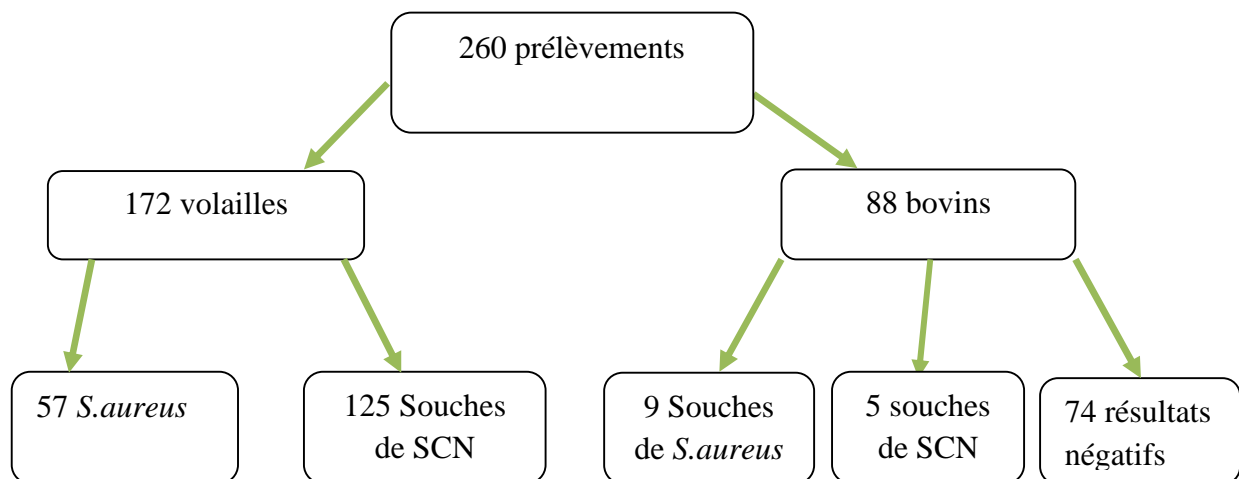


Figure 9: Nombre de souches de *S. aureus* incluses dans notre étude.

2. Isolement et identification de staphylocoques

2.1 Aspects des colonies

Sur le milieu Chapman les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleur blanche. Les colonies sont arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre après 48h d'incubation à 37°C (figure 10).

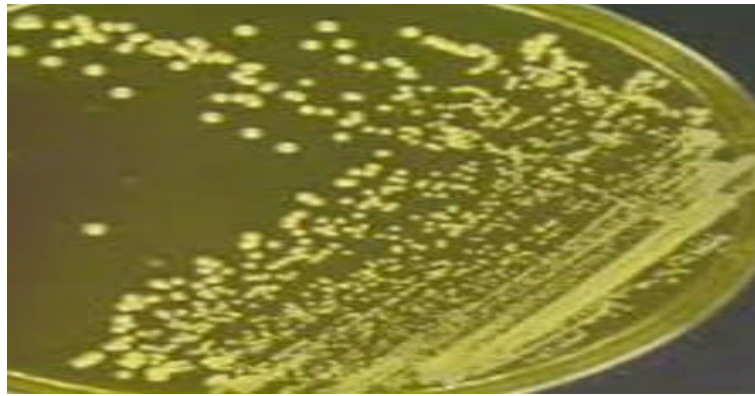


Figure10 : Aspect des colonies de *S.aureus* sur milieu de Chapman
(Photo INMV /LVR DBK, 2018).

2.2 Coloration de Gram

La coloration de Gram des colonies isolées sur milieu de Chapman, a permis de vérifier la pureté des souches et de donner l'aspect des bactéries, qui est sous forme de cocci en grappe de raisin ou en diplocoques (figure 11)

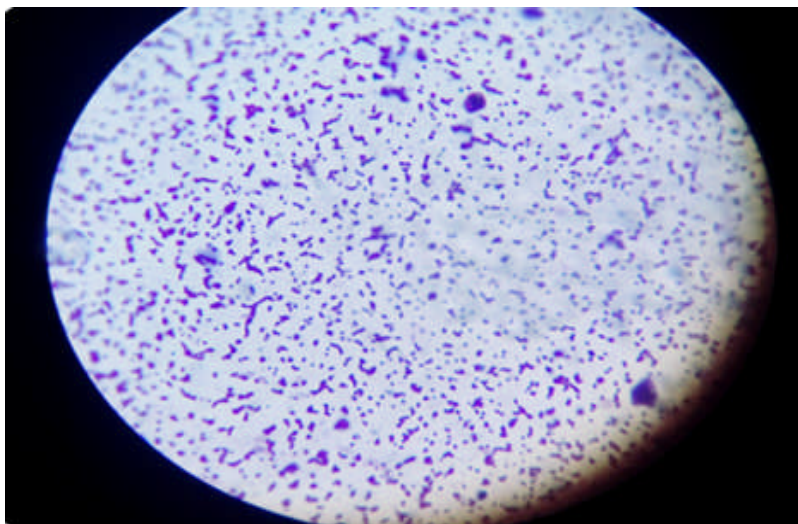


Figure 11:Photo de la coloration de Gram positives des staphylocoques vue au GX1000
(Photo INMV /LVR DBK, 2018).

2.3 Test de coagulase libre

Certaines bactéries ont produit une coagulase positive, caractéristique de *Staphylococcus aureus* comme mis en évidence dans la Figure 12.

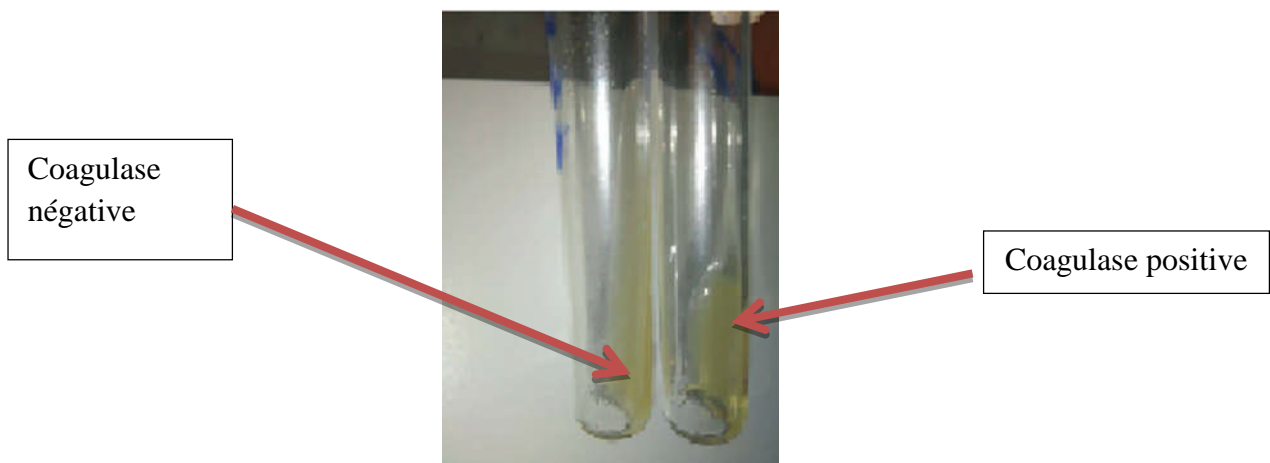


Figure 12: Mise en évidence de la coagulase libre chez les *staphylocoques* (photo INMV /LVR DBK, 2018).

2.4 Test d'agglutination (Staphaurex)

.Les agrégats de particules de latex peuvent être de taille plus ou moins importante, avec un fond rose plus au moins laiteux.

Dans le cas d'une réaction négative, la suspension ne présentera pas d'agrégats et gardera son aspect laiteux.

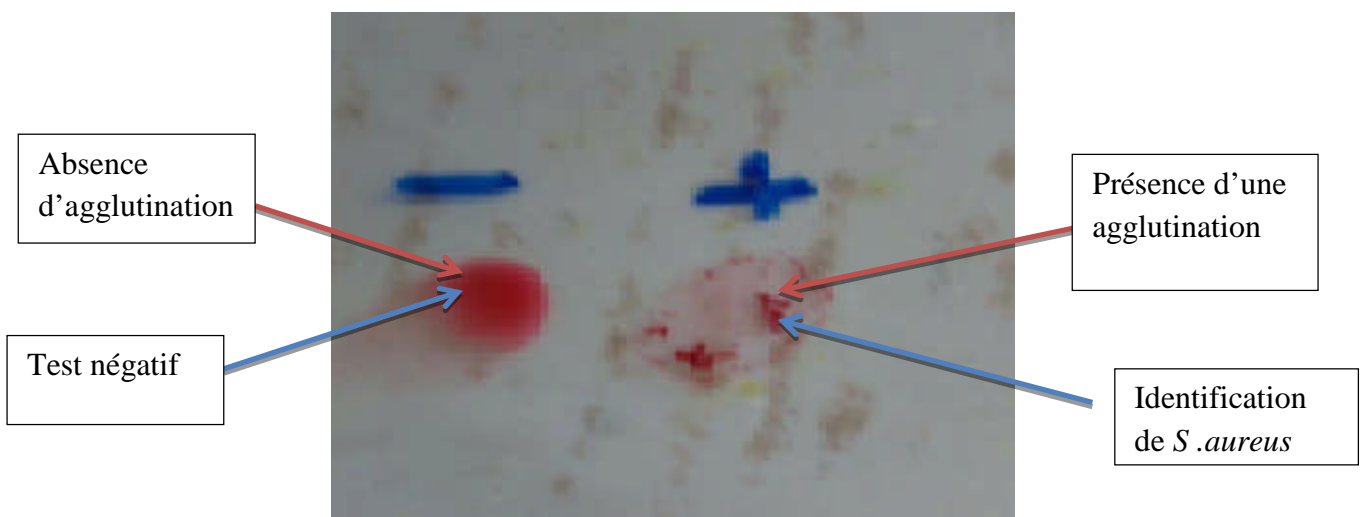


Figure 13: Test d'agglutination (STAPHAUREX)(Photo INMV /LVR DBK, 2018).

2.5 Identification biochimique par le système API®Staph (BioMérieux)

Les résultats des tests biochimiques de la galerie API®Staph pour les souches isolées ont été établis. Avec l'identification de chaque souche et leur profil numérique proposée par le logiciel Api web Staph.

Le système API[®]Staph (BioMérieux) a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des espèces qui appartiennent au genre *Staphylococcus* (figure 14 et 15).

- Api avant ensemencement



- Api après ensemencement



Figure14 : Identification de *S.aureus* API[®]Staph(photo INMV /LVR DBK, 2018).



Figure 15 :Tableau de lecture de la galerie API[®]Staph(BioMérieux) (photo INMV /LVR DBK, 2018).

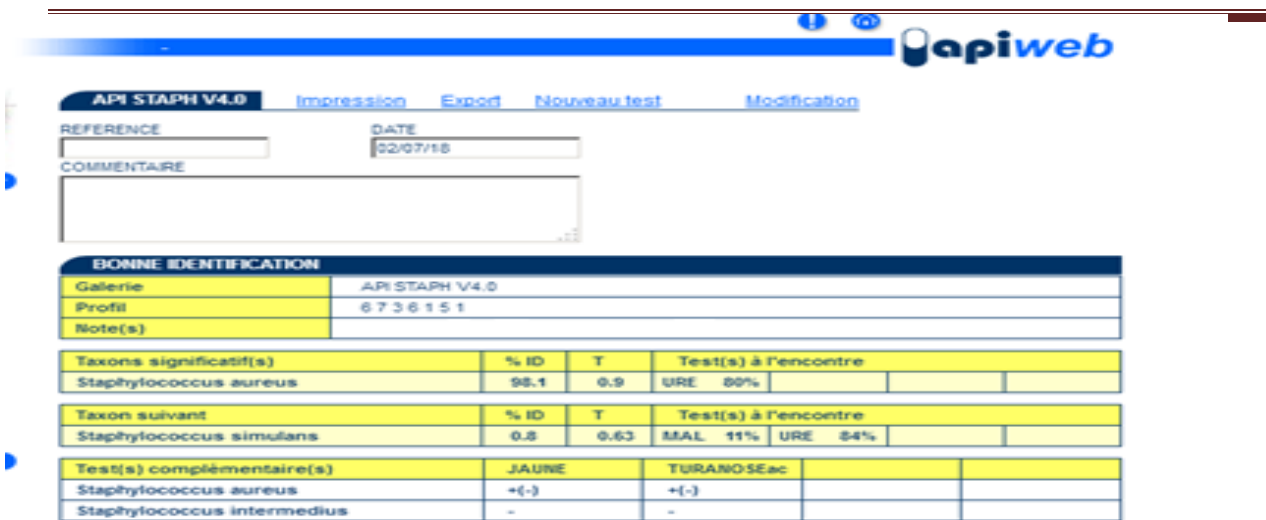


Figure 16 : Identification du catalogue analytique API Staph (photo INMV /LVRDBK,2018)

3. Données concernant l'étude des bovins

3.1 Répartition des souches de *S.aureus* chez les bovins

Nos résultats illustrés dans la figure 17 ont montré un taux faible de portage nasal de *S.aureus* chez les bovins. Il ressort que parmi les 14 souches isolées, neuf soit 10,22% sont des *S.aureus* soit 89,78% sont des autres *staphylocoques*.

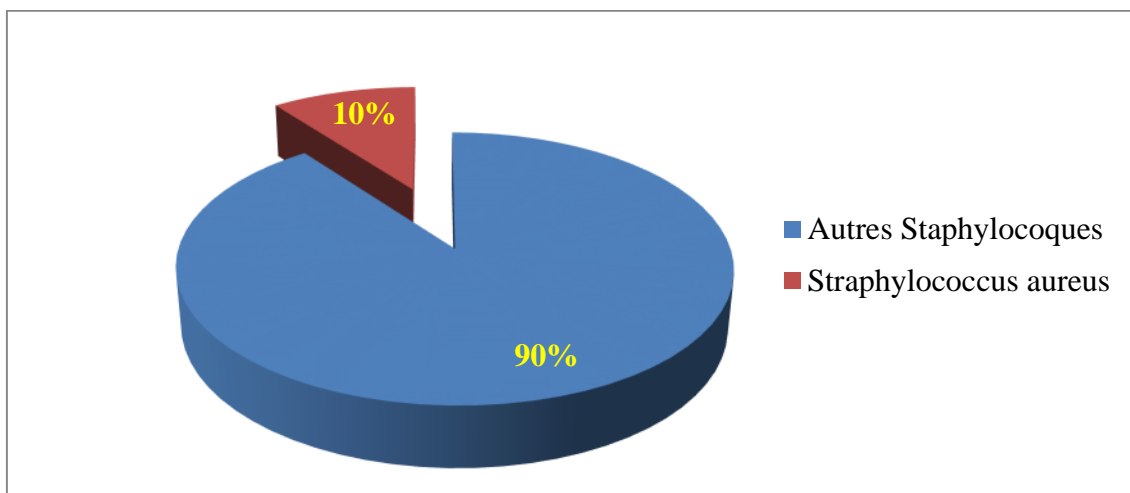


Figure17: Répartition des souches de *S.aureus* et autres chez les bovins (Personnelle).

3.2. Prévalence de *S.aureus* résistants et sensibles à 14 antibiotiques

Nos résultats synthétisés dans la figure 18 ont mis en évidence la sensibilité remarquable des souches isolées à partir des narines d'origine bovine est avec un taux maximal pour la famille des Sulfamides, quinolones et des Glycopéptides.

La résistance maximale de ces souches est représentée pour les macrolides et la Tétracycline puis pour la famille des β -lactamines, sans pour autant qu'il y ait présence d'une résistance à la Céfoxitine. Aucune résistance n'est rapportée pour la famille des glycopeptides, quinolones et les sulfamides.

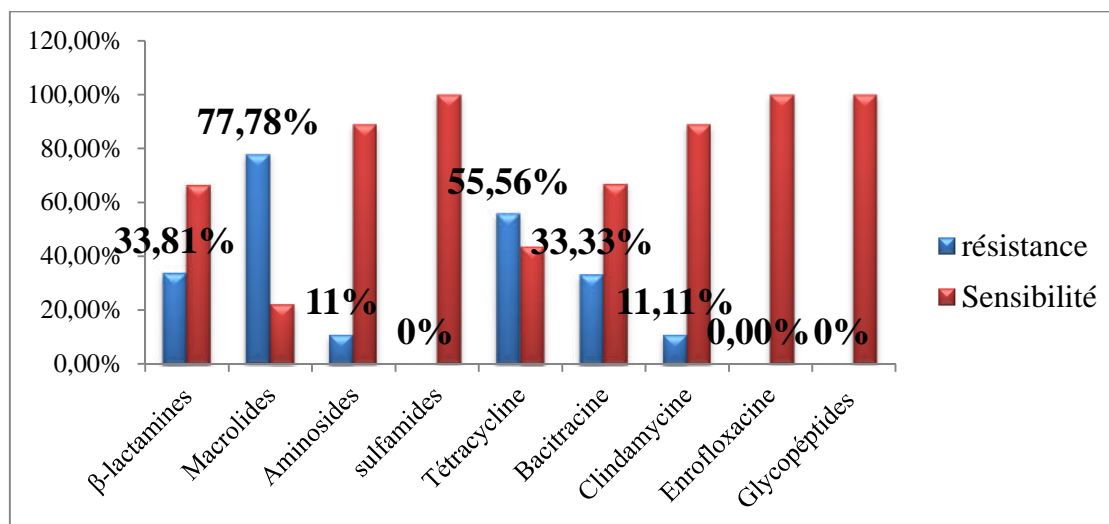


Figure 18: Profils de résistance de *S.aureus* et sensible vis-à-vis de 14 antibiotiques testés

3.3. Les profils de résistance apparus chez l'espèce bovine

Les différents profils de résistances observés sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau VI).

Tableau VI : Phénotypes de résistance apparus chez l'espèce bovine étudiée.

	Profils de résistance	Nombre d'ATB	Nombre de souches
Bovins	PEN	1	1
	PEN TCY	2	1
	PEN OXA	2	1
	PEN AMC	2	1
	PEN OXA TCY	3	1
	PEN TCY B	3	1
	PEN OXA TCY B	4	2
	PEN ERY TCY B CLI	5	1

PEN:Penicilline;**TCY:**Tétracycline;**OXA:**Oxacilline;**AMC:**Amoxicilline;**B:**Bacitracine;**ERY:**Erythromycine; **CLI:**Clindamycine ; ATB : antibiotiques.

4. Données concernant l'étude de différents types de production de la volaille.

4.1 Distribution des souches de *Staphylococcus aureus* en fonction de type de production de la volaille.

Le taux de portage le plus important de *S. aureus* provient de la poulette pondeuse (62%, n=34), suivi de 20% (n= 5) pour les poulets de chair, poulettes reproductrices chair (15%, n=14), poussins ponte (3%, n=4) (figure 19).

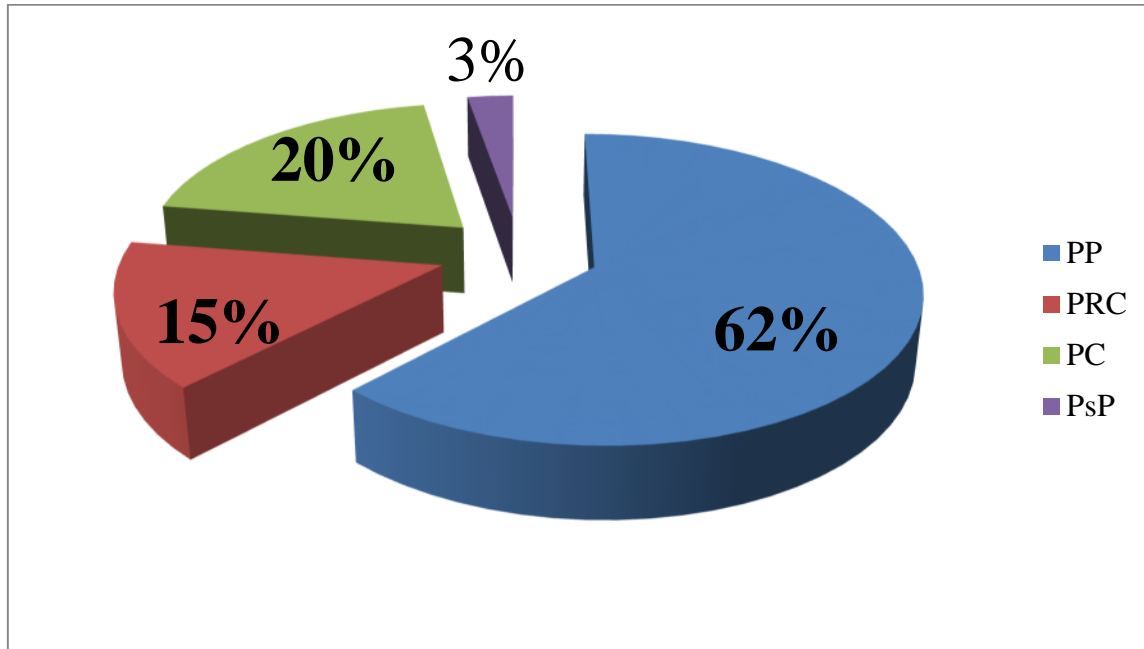


Figure 19: Répartition des souches de portage de *S.aureus* chez la volaille selon les types de production.

4.2. Résultats des antibiogrammes

4.2.1 Résistance des souches de *S. aureus* aux antibiotiques

57 souches isolées de *S.aureus* chez la volaille ont été soumises à 14 molécules d'antibiotiques (Voir les annexes), utilisées en thérapeutique humaine et en médecine vétérinaire, selon la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton. Les résultats obtenus montrent bien l'existence de résistances selon les différentes familles visées. En effet, une résistance totale a été enregistrée pour la pénicilline G avec une fréquence de 100%, 89,21% pour la tétracycline et un pourcentage faible pour l'association SXT soit de 5,3 %. Aucune résistance n'a été observée vis-à-vis de la vancomycine et la gentamicine, néomycine (Tableau VII, figure 20).

Tableau VII: Résistance des souches de *S. aureus* aux antibiotiques testés.

ATB	PP		PC		PRC	
	Résistant	Sensible	Résistant	Sensible	Résistant	Sensible
Pénicilline	100%	0%	100%	0%	100%	0%
Pénicilline novobiocine	17,64%(6/34)	82,35%(28/34)	20%(1/5)	80%	0%	100%
Amoxicilline	32,35%(11/34)	67,64%(23/34)	40%(2/5)	60%	0%	100%
Céfoxitine	17,64%(6/34)	82,35%(28/34)	40%(2/5)	60%	28,57%(4/14)	71,43%(10/14)
Oxacilline	97,05%(33/34)	2,94%(1/34)	100%(5/5)	0%	85,71%(12/14)	14,29%
Erytromycine	97,05%(33/34)	2,94%(1/34)	60%(3/5)	40%	64,29%(9/14)	35,71%
Néomycine	0%	100%	40%(2/5)	60%	42,85%(6/14)	57,15%
Gentamicine	5,88%(2/34)	94,12%(32/34)	0%	100%	0%	100%
Enrofloxacin e	43,24%(13/34)	56,75%(21/34)	100%	0%	15,38%(2/14)	84,62%(12/14)
Bacitracine	55,88%(19/34)	44,11%(15/34)	60%(3/5)	40%	28,57%(4/14)	71,43%
Clindamycine	5,88%(2/34)	94,12%(32/34)	100%(5/5)	0%	42,85%(6/14)	57,15%
Tétracycline	97,05%(33/34)	2,94%(1/34)	60%(3/5)	40%	85,71%(12/14)	14,28%
SXT	20,58%(7/34)	79,41%(27/34)	0%	100%	0%	100%
Vancomycine	0%	100%	0%	100%	0%	100%

PP : Poules pondeuses ; **PRC** : Poulettes reproductrices chair et **PC** : poulet de chair.

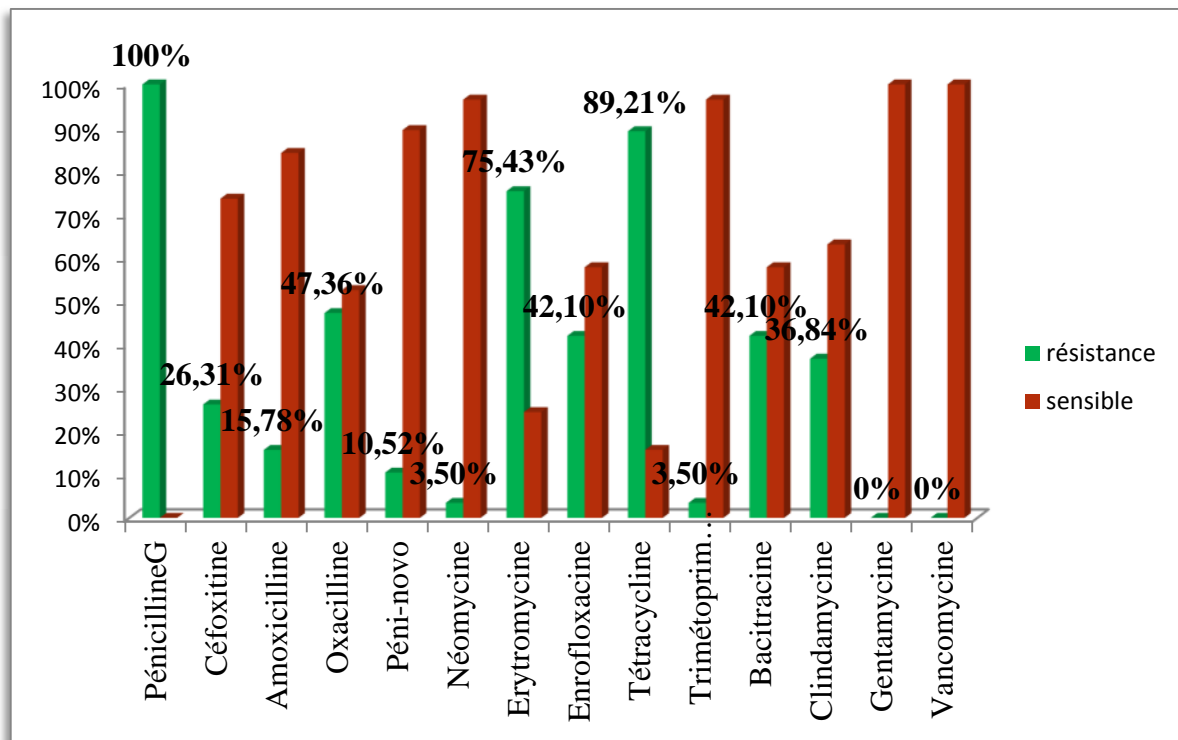


Figure 20: Taux de sensibilité et de résistance des souches de *S.aureus* antibiotiques chez les produits de la volaille

5. Les souches SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline)

5.1 Portage nasal des SARM pour la volaille

Sur les 172 prélèvements analysés, 57 souches de *S.aureus* non redondantes ont été isolées. Ainsi, le test à la Céfoxitine et le dépistage grâce à l'oxacilline, nous ont permis de détecter **17 souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (ou à l'oxacilline), soit un taux de 29,82% (figure 21)**

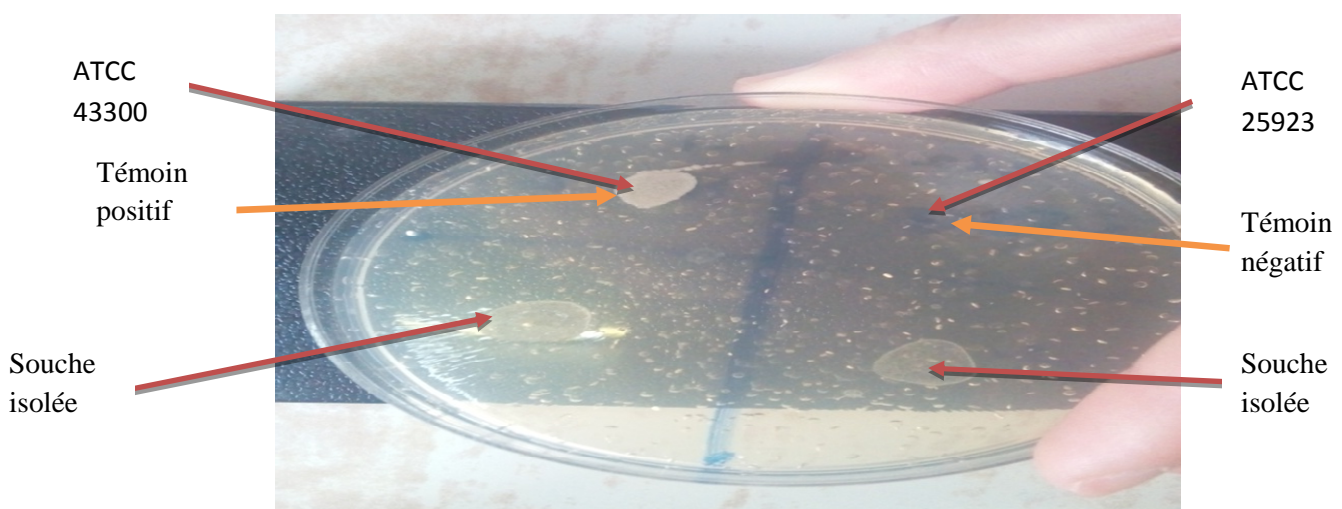


Figure 21 : Screening à l'oxacilline de *S. aureus* (photo INMV /LVR DBK, 2018).

5.2 Prévalence du portage nasales SARM chez différents type de production de la volaille

Pour les quatre espèces de la volaille étudiées, les résultats du portage des SARM nasaux rapportées sont exprimés dans les graphiques ci-dessous.

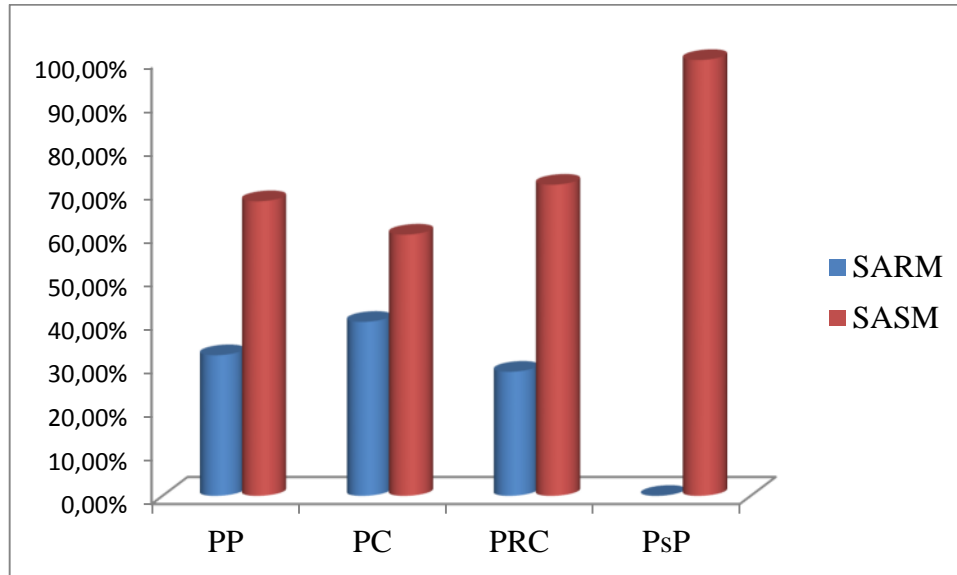


Figure22 : Pourcentage du portage nasal des SARM chez les différents types de production de la volaille

5.3 Profil de résistance des SARM aux différentes familles d'antibiotiques par type de production chez la volaille.

Nos résultats, illustrés dans la figure 21, ont montré que le phénotype le plus fréquent est celui où la résistance vis-à-vis de la famille des macrolides est observée avec différentes espèces de la volaille.

Ces souches de SARM ont également exprimé, une résistance à d'autres familles d'antibiotiques tels que la tétracycline avec un taux de 100% ; 73,33% pour les bêta-lactamines et 16,66% pour la Clindamycine chez les poules pondeuses.

A noter, que les souches de SARM des poulettes reproductrices chair et poulet de chair ont exprimé une résistance que pour la famille des bêta –lactamines

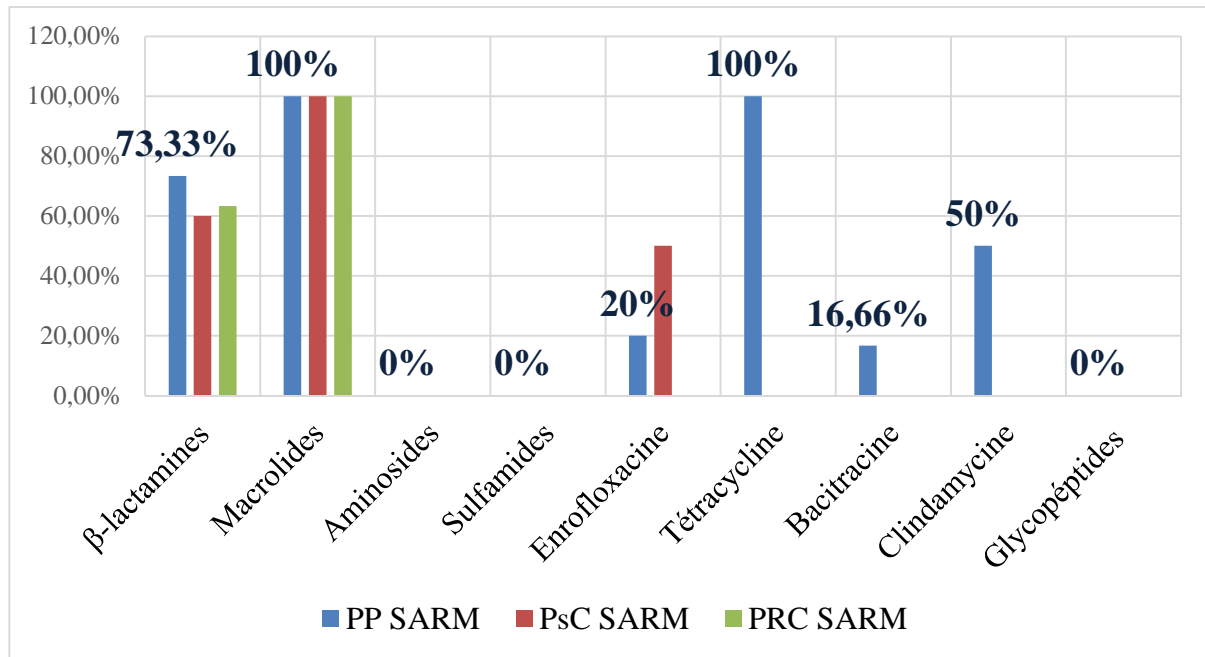


Figure 23: Résistance des SARM aux différentes familles d'antibiotiques testées par type de production chez la volaille

5.4 Profils de résistances des SARM pour les produits de la volaille

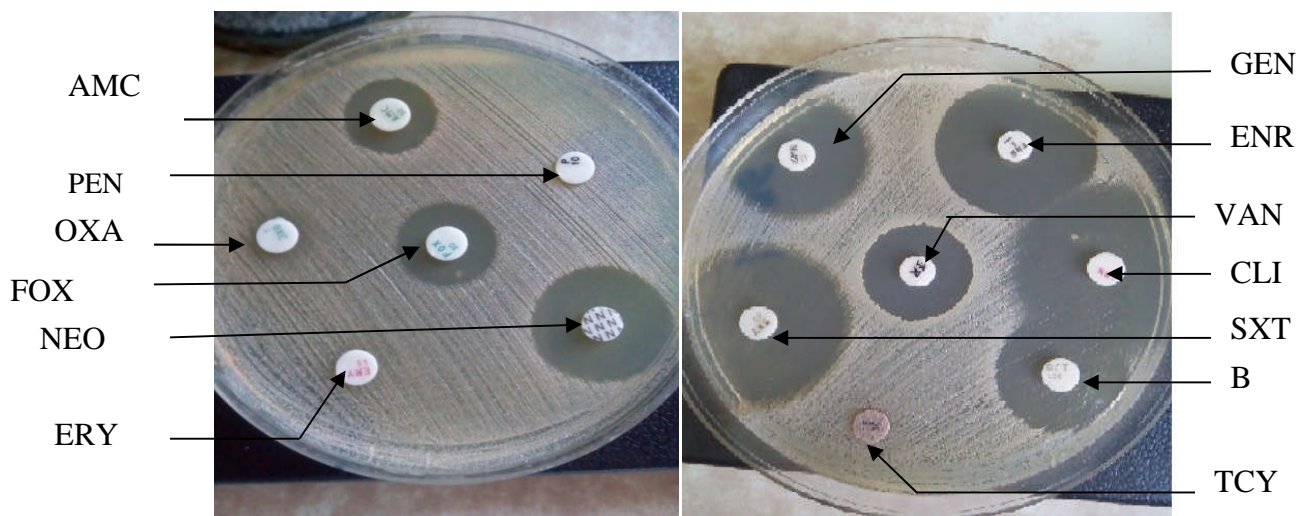


Figure 24 : ABG d'une souche de SARM (photo INMV /LVR DBK, 2018).

Tableau VIII: Phénotypes de résistance des souches SARM aux antibiotiques

	SARM	Souches	ATB	SASM	Souches	ATB
PP	FOX OXA PEN TCY	2	4	PEN OXA TCY CLI	1	4
	FOX OXA PEN ERY TCY	3	5	PEN OXA ERY TCY CLI	2	5
	FOX.OXA PEN ERY TCY AMC	1	6	PEN OXA ERY TCY B	2	5
	FOX.OXA.PEN ERY TCY CLI	2	6	PEN OXA ERY TCY B NEO	3	6
	FOX.OXA.PEN ERY TCY CLI ENR	1	7	PEN OXA TCY NEO CLI ENR	1	6
	FOX OXA PEN ERY TCY AMC PNV	1	7	PEN OXA ERY TCY B CLI	2	6
	FOX OXA PEN ERY TCY AMC B	1	7	PEN OXA ERY TCY B CLI ENR	1	7
				PEN OXA PNV ERY TCY CLI	1	6
				PEN OXA ERY TCY SXT CLI ENR	1	7
				PEN OXA ERY B CLI SXT	1	6
				PEN OXA ERY TCY B NEO CLI ENR	1	8
			PEN OXA ERY TCY B NEO SXT	1	7	

				PEN OXA ERY TCY NEO SXT CLI ENR	1	8
				PEN OXA ERY TCY B NEO AMC ENR	1	8
				PEN OXA ERY TCY SXT P NV NEO	1	7
				PEN OXA ERY TCY B CLI AMC ENR	2	8
				PEN OXA ERY TCY NEO SXT CLI GNE ENR	1	9
				PEN OXA PNV AMC ERY TCY B CLI	1	8
PC	FOX OXA PEN	1	3	PEN OXA B CLI	1	4
	FOX OXA PEN TCY B CLI ENR	1	6	PEN OXA B CLI TCY	1	5
				PEN OXA B CLI TCY AMC NEO ERY	1	8
PRC	FOX PEN OXA TCY	2	4	PEN ERY	6	2
	FOX PEN OXA ERY	1	4	PEN OXA TCY NEO	1	4
	FOX PEN OXA ERY PNV	1		PEN OXA TCY CLI	1	4
				PEN TCY ERY CLI	1	4
				PEN OXA TCY ERY CLI ENR	1	6
				PEN OXA TCY ERY B	1	5
				PEN OXA TCY ERY B CLI ENR	1	7
PEN OXA TCY ERY PNV B CLI	1	7				

Abreviation:**FOX** :Céfoxitine ;**PEN**:Penicilline;**TCY**:Tetracycline;**OXA**:Oxacilline;**AMC**:Amoxicilline;**B**:Bacitracine;**ERY**:Erythromycine;**CLI**:Clindamycine ;**PNV**:Pénicilline+ Novobiocine.

PP : Poules pondeuses ; **PRC** : Poulettes reproductrices chair ; **PC** : Poulets de chair.

6. Fréquence de multi-résistance des souches *S.aureus* aux antistaphylocoquestés

Au cours de cette étude, une grande variation phénotypique des souches de *S.aureus* a été observée avec un degré de multi-résistance dépassant la famille des β -lactamines.

La totalité des souches étudiées se sont avérées résistantes à au moins 2 antibiotiques. 13 souches ont présenté une résistance à 6 antibiotiques, 9 souches à 7 antibiotiques et 6 souches avec des profils de résistance qui arrivent à 8 antibiotiques

La souche n° 20 représente un profil de résistance à 9 antibiotiques avec un profil : PEN, PNV ERY TCY OXA AMC B CLI ENR.

Tableau IX: Fréquence de multi-résistance des souches *S.aureus* aux anti-staphylocoques.

ATB									
Nombres de souches résistantes ou sensibles à l'ATB	1ATB	2ATB	3ATB	4ATB	5ATB	6ATB	7ATB	8ATB	9ATB
		0	6	1	11	10	13	9	6

ATB : Antibiotiques

Discussion

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) a émergé il y a 50ans, comme un agent pathogène nosocomial mais dans la dernière décennie, il est devenue également une cause majeure d'infections graves dans la communauté, notamment chez l'homme et l'animal (STEFANI *et al.*, 2012).

Au cours de notre étude, le taux du portage nasal de *Staphylococcus aureus* chez les deux espèces étudiées est de 33.67% sur un total de 260 échantillons, soit 31.32% pour la volaille et 10.22% pour l'espèce bovine. Ce taux de portage est expliqué par le fait que *Staphylococcus aureus* est un germe ubiquitaire et non exigeant présent au niveau de la peau et des muqueuses nasales principalement, lié à plusieurs facteurs de risque de l'hôte qui peuvent favoriser le portage. BELAID et FADEL (2017) ont observé un taux de 27,27% chez les chameaux à Tlemcen et 26% est le taux du portage nasal chez les humains au niveau de la région de Bejaia en Algérie (DJOUDI *et al.*, 2014).

Pour la volaille, le taux du portage nasal de *Staphylococcus aureus* varie selon les espèces étudiées. Pour les poulettes pondeuses le portage des souches de *Staphylococcus aureus* représente le nombre le plus élevé (34/57), suivies de (14/57) pour les poulettes reproductrices chair, tandis que le portage est faible pour les poulets de chair et les poussins pontes. Ces résultats peuvent être expliqués par rapport au cycle de vie de ces espèces et le temps nécessaire pour le contact avec ce germe.

Pour l'espèce bovine le taux du portage nasal est faible par rapport à l'espèce aviaire : cela est peut-être dû au faible nombre de prélèvements pour les bovins.

L'usage abusif des antibiotiques ou leur utilisation inadéquate est principalement responsable de l'émergence de la résistance microbienne (CARL, 2009). Cette émergence et la propagation de la résistance à ces antibiotiques sont le résultat d'une pression sélective exercée par les agents antimicrobiens et de la transmission de micro-organismes résistants.

En Algérie, il existe très peu de données sur l'antibio-résistance notamment le portage nasal des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline d'origine aviaire et/ou bovine malgré l'existence d'élevages qui impliquent l'utilisation intensive des antibiotiques.

Notre étude a révélé un taux de portage des SARM de 29.82% chez la volaille ; ce résultat est élevé par rapport à 16,87% révélée dans la région de Bejaïa (SERRADJ, 2016) et au

taux de 20% signalé par PERSONNE *et al.* (2009) en Belgique. La prévalence la plus élevée du portage nasal dans notre étude a été observée chez les poulets de chair 40% (2/5) suivis de 32,35 % (11/34) chez les poules pondeuses et 28,57% (4/12) pour les poulettes reproductrices chair. Dans ce sens, SERRAJ (2016) a rapporté des taux de portage de 9% pour le poulet de chair et les poules pondeuses contrairement à NEMEGHAIRE *et al.* (2013) qui ont recensé des résultats significativement plus élevée chez les poulets de chair que chez les poules pondeuses. Cette variation de résultats est due à l'utilisation excessive des antibiotiques dans les élevages de la volaille notamment pour les poulets de chair qui sont plus demandés sur le marché. Ce qui explique aussi que chez les poussins ponte aucune SARM n'est rapporté car les antibiotiques ne sont pas utilisés à cette période d'âge.

Chez les bovins aucune souche de SARM n'a été signalée. Toutes les souches du portage nasal isolées sont présentées comme des *Staphylococcus aureus* sensibles à la méthicilline avec un taux de 10,22 % soit un résultat inférieur (53,7 %) à celui du nord de la Jordanie (OALEKISH *et al.*, 2013). Ce faible taux du portage nasal comparé à 89,78% qui est le taux des prélèvements négatifs éliminés est peut être expliqué par le fait que notre méthode de prélèvement a été menée aléatoirement sans tenir compte de l'état de santé des sujets analysés ou que cette bactérie est mieux isolée quand les conditions de sa survie sont favorables ou encore juste par le respect des bonnes pratiques d'hygiène lors d'élevage.

Les antibiogrammes effectués pour les SARM et les SASM nous ont révélé une résistance ou une sensibilité pour l'oxacilline mais aussi la présence d'autres phénotypes.

On note aussi que pour les traitements des infections à *Staphylococcus* les antibiotiques les plus utilisés sont généralement parmi la famille des β -lactamines, macrolides et tétracyclines (HEIDAR *et al.*, 2015).

Cependant, Chez la volaille les profils de multi-résistance ont concerné différentes familles d'antibiotiques et se sont étendus à 8 antibiotiques appartenant à 5 familles : les bêta-lactamines, les macrolides, les aminosides, la Tétracycline et Bacitracine. Ceci comme dans le cas des poulettes pondeuses (PEN OXA PNV AMC ERY TCY B CLI), le poulet de chair (PEN OXA B CMN TET AMC NEO ERY) et les poulettes reproductrices chair (PEN OXA B CLI TCY AMC NEO ERY).

Pour la famille des β -lactamines nous avons rapporté une résistance totale taux de 100% pour la pénicilline G et ce, pour tous les types de produit de la volaille. Le même résultat a été rapporté par NEMEGHAIRE *et al.* en 2014. En effet, la résistance de

Staphylococcus à cet antibiotique ne date pas aujourd'hui. Cette résistance est médiée par la présence d'une enzyme capable d'hydrolyser le noyau β -lactame de la pénicilline pour la rendre inactive. Cette résistance est portée sur le gène blaZ qui est un gène plasmidique (RAHIMI, 2015). Lorsque le laboratoire de bactériologie signale une résistance à la pénicilline (sans résistance à l'oxacilline), celle-ci implique aussi une résistance à l'amoxicilline (LECLERCQ, 2002). Pour notre part, nous avons recensé un portage de résistance de l'amoxicilline plus élevé chez le poulet de chair avec un taux de 40%.

La résistance de *S. aureus* à l'oxacilline ou la méticilline est liée au gène mecA qui code pour une protéine liant la pénicilline PLP2a, qui présente une faible affinité pour les β -lactamines et qui assure l'activité transpeptidases nécessaire à la synthèse du peptidoglycane (KIMBERLY, 2012).

Pour la Résistances aux aminosides l'utilisation répond au souhait d'obtenir une synergie bactéricide avec un inhibiteur de la paroi bactérienne (glycopeptide ou bêta-lactamine) (Leclercq 2002). Un taux de résistance à la néomycine presque identique de 40 % a été observé pour les poulets de chair et les poulettes reproductrices chair. En revanche, aucune résistance n'a été décelée pour la gentamicine pour ces derniers et plutôt faible (de 5,88%) pour les poulettes reproductrices. Ce taux faible à la gentamicine est expliqué par le manque de cette molécule sur le marché algérien, et par le fait que cet antibiotique n'a pas d'indication chez la volaille (DIDIER, 2011). De manière similaire, un résultat faible a été rapporté par BOUCHAKOUR en 2014.

Pour l'érythromycine et la tétracycline nous avons recensé des taux de résistance élevés atteignant 97,05% des résultats proches ont été signalés par BENRABIA et al. en 2011 et BOUCHAKOUR en 2014. Cela est expliqué par leur utilisation abusive en élevage avicole. La tétracycline peut persister dans l'environnement pour des mois ce qui rend la résistance plus accessible (TOUTAIN et al. 2012).

La résistance aux quinolones précisément à l'enrofloxacinée a été estimée à 49,12%. Celle-ci est plus importante chez les poulettes pondeuse. Beaucoup d'auteurs ont signalés l'utilisation des quinolones dans l'élevage de poulets (MUYLAERT, 2014). Cet antibiotique est largement disponible pour être utilisé comme agent de croissance (AGUNOS et al., 2013). La clindamycine est l'une des antibiotiques utilisée pour le traitement des infections à *Staphylococcus* (WEBER, 2010). La résistance de nos souches issues du poulet de chair. S'est avérée totale vis-à-vis de cette molécule

Pour la bacitracine 60% est le taux le plus élevé signalé chez le poulet de chair ; un résultat faible comparé à celui de GUNDOGAN *et al.* en 2005.

Les sulfamides en filière avicole sont généralement associés avec le triméthoprim pour l'efficacité du traitement (BOISSIEU, 2015). Dans ce sens, les résultats rapportés étaient faibles : 20% pour les poulettes pondeuses et une sensibilité totale pour les autres produits. Comparativement, AKBAR *et al.* (2013) ont exprimés un résultat légèrement plus élevé.

Pour la vancomycine aucune résistance n'a été observée. Cela est expliqué par le fait que cet antibiotique est utilisé pour le traitement des infections staphylococciques sévères dans les hôpitaux et non utilisé en Algérie dans la médecine vétérinaire.

Pour les bovins les profils de résistance observés se sont étendus à 5 antibiotiques (PEN ERY TET B CMN).

La résistance de la bactérie à la famille des β -lactamines est mieux isolée quand les conditions de sa survie sont favorables (DAUREL, 2008).

Dans notre étude nous avons signalé un taux de résistance de 33,8%, inférieur à celui de la volaille, notamment pour la pénicilline G. Ce résultat est conforme à celui de KECHIH (2018)

Par contre le taux de résistance le plus élevé de (77,78 %) été recensé à l'encontre de l'érythromycine. Il s'est avéré plus élevé que le taux cité dans l'étude Tunisienne de KHEMERI en 2018.

La tétracycline avec un taux de résistance de 55,56% est plus faible par rapport aux résultats de KUMAR, (2017). De même, la résistance de nos souches bovines reste faible respectivement vis-à-vis de la clindamycine et la bacitracine (11% et 33%) A l'opposé, un résultat plus élevé a été signalé dans les travaux de de NORMANNO *et al.* en 2007, ANTONIOS en 2015.

La gentamicine, les sulfamides et la vancomycine restent totalement actives. ALEKISH, 2013a mis en évidence une résistance atteignant 87 % pour SXT et 49 % pour la gentamicine, mais systématiquement aucune pour la vancomycine. Le lien entre les souches animales isolées de la volaille et des bovins vient du fait qu'elles sont généralement associées à une séquence clonale le CC398 qui est un *Staphylococcus* associé au bétail (VAN DER WOLF, 2012; NEMEGHAIRE, 2014).

Conclusion

Notre étude rapporte une prévalence importante de 33,67% du portage de *Staphylococcus* aux niveaux des narines de deux espèces aviaires et l'espèce bovine ce qui confirme que ce germe est commensal au niveau des muqueuses particulièrement nasale.

Le taux de portage a été plus important au niveau de l'espèce aviaire avec un taux de 31,32%, que bovine (10,22%); cela est expliqué par l'usage intensif des antibiotiques en particulier dans l'élevage intensif de volailles. Bien que la législation ait interdit l'utilisation des antibiotiques sauf pour l'usage curatif, beaucoup de ces derniers sont utilisés sans la prescription du vétérinaire, car les éleveurs et les fabricants d'aliments y ont accès facilement.

La prévalence des SARM a été de 29,82% chez la volaille avec un taux plus élevé de 40% pour les poulets de chair. Cette prévalence indique que les souches de *Staphylococcus* portées peuvent être des SARM sans pour autant exprimer une pathologie quelconque et peuvent exprimer des résistances atteignant les 100% pour la pénicilline G, 89,21% pour la tétracycline et 74,53% pour l'Erythromycine. Cependant, il ne faut pas pour autant négliger les transmissions qui pourraient y avoir en contact avec ces animaux. Beaucoup d'études ont montré le passage des clones de *Staphylococcus* d'origine animale aux humains ou à l'environnement, sans écarter le fait que ces souches peuvent être multirésistantes d'où la dangerosité du portage des germes pathogènes par les animaux, notamment ceux destinés à la chaîne alimentaire.

Cette étude ouvre plusieurs perspectives, à savoir:

- Etudier une population plus importante, pendant une période plus longue;
- Effectuer un suivi sur la consommation des antibiotiques vétérinaires destinés à l'élevage ;
- Etudier la capacité des souches à former des biofilms ;
- Mettre en évidence la distribution clonale des SARM isolés par génotypage en électrophorèse en champs pulsés, pour avoir une image plus exacte de la situation épidémiologique et l'identification de leur origine ;
- Mettre en place un réseau de surveillance d'infection à SARM.

A

AGUNOS A., CARSON C. et LEGER D. (2013).Antimicrobial therapy of selected diseases in turkey, laying hens, and minor poultry species in Canada. *Canadian Veterinary journal*. 54(11): 1041-1052.

ALISSI M.C. (2000).Quels nouveau fibrinolytique? Sang, thrombose, vaisseaux. 12(6):8-371.

AKBAR A.K. (2013).Prevalence and antibiogram study of *salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat. *Asianpacific journal of tropical biomedicine*. 3(2):163-168.

TRISTAN A. (2009).Le portage nasal à *Staphylococcus aureus*: déterminants bactériens et déterminants d'hôte. Centre de Biologie et de Pathologie Est CNR des staphylocoques LYON.

AMAN M.J., KARAUZUM H., BOWDEN M.G. and NGUYENT.L. (2010) Structural model of the pre-pore ring-like structure of Panton-Valentine leukocidin: providing dimensionality to biophysical and mutational data. *J. BioMol. Struct. Dyn.* 28: 1-12.

AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F. et MONTEIL H. (2003).Bactériologie Clinique.3^{ème} Ed. Paris: Elipses, pp.8-28.

AUBRY H., GRENET K., SALL N.P., CHE, D., CORDEIRO E., BOUGNOUX M.E.et RIGAUD E. (2004).Antimicrobial resistance in commensal flora of pig farmers. *Emergency infection diseases*.10:873-879.

ARMAND-LEFEVRE, L., RUIMY, R. et ANDREMONT A.(2005).Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg.Infect. Dis.* 11: p.1-4.

AGUNOS A., LEGER D. et DUTIL L.(2013).Ciprofloxacin-Resistant in retail chicken. *EmergInfect Dis.* 19:1121-1124.

ANTONIOSA Z., THEOFILOSIA P., IOANNISB M., GEORGIOSA S., EVRIDIKIA B., LOUKIAA P. et VASILIKIB L. (2015).PREVALENCE, genetic diversity, and antimicrobial susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from bulk tank milk from Greek traditional ovine farms.*Small Ruminant Research*. 125: 120–126.

B

BECKER K., BALLHAUSEN B., KAHL B.C., KÖCK R. (2015).The clinical impact of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of the clonal complex 398 for humans. *Vet.Microbiol.*200: 33-38.

BUTAYE P. (2013).Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from healthy carrier chickens.*AvianPathology.* 42(4): 342-346.

BOUCHAKOUR R(2013). «Antibiorésistance de *Staphylococcus aureus* chez la volaille», Faculté des Sciences Agro vétérinaire et Biologiques, Université Saad-Dahleb Blida.

BERCHE P. (2003). Bactériologie systématique. France: Faculté de Médecine Necker-Enfants Maladies.

BENRABIA I., HAMDI T., BOUNAR-KECHIH S. et OUMOUNA M.(2012).Dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) chez la dinde et le poulet de chair. Batna.

BOISSIEU, C. (2015) Thérapeutiques anti-infectieuses ; Présentation réalisée dans le cadre du Certificat d'Etudes Approfondies Vétérinaires – Gestion de la Santé et de la Qualité en Productions avicoles et cunicole.

BOULAHBAL F. (2014). Manuel de Microbiologie à l'usage des étudiants. Alger : Office des publications universitaires, p.29-124.

C

CAVALLO D.J., FABRE R., JEHL F., RAPP C. et GARRABE E. (2004).Bétalactamines. *EMC Maladies infectieuses*, 1(3): 129-202.

CORRIGAN RM., MIAJLOVIC H., FOSTER TJ. (2009).Surface proteins that promote adherence of *Staphylococcus aureus* to human desquamated nasal epithelial cells.*BMC Microbiol.*9(1): 22.

CATHY B., DUIJKEREN M., POMBA C., GREKO MA., MORENO S., PYORALA M., RUZAUSKAS P., SANDERS E. et TORREN-EDO.(2010).Reflection paper on MRSA in

food producing and companion animals. In: epidemiology and control options for human and animal health. *Epidemiol Infect.* 13: 626-644.

CHAIRAT S., GHARSA H., LOZANO C., GÓMEZ-SANZ E. et ZARAZAGA G. (2015). Characterization of *Staphylococcus aureus* from Raw Meat Samples in Tunisia: Detection of Clonal Lineage ST398 from the African Continent. *Foodborne Pathog. Dis.* 12: 686-92.

CUNY C., FRIEDRICH A., KOZYTSKA S., LAYER F., NÜBEL U. et OHLSEN K. (2010). Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. *Int. J. Med. Microbiol.* 300: 109-117.

COURVALAN P. et LECLERCQ R. (2012).Antibiogramme. 3^{ème} Ed. Paris: ESKA, p.423.

CARLTON L., PRESCOTT J.F. GLENN SONGER J. et THOEN C.O. (2004). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 3^{ème} Ed. USA: Blackwell publishing, p.643.

CHAKRABORTY S.P., PANCHANAN P. et SOMENATH R. Emergens of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and role of chitosan nanoparticle in drug delivery. *Pharmaceutical Sciences.*2(1).

CARLTON L., PRESCOTT J.F.,GLENN SONGER J. et THOEN C.O.(2010).Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 4^{ème} Ed. USA: BlackwellPublishing, p.456.

D

DAUREL C. et LECLERQ R. (2008). L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. Rev Fr Lab. 407: 81-90.

DEURENBERG R.H. et STOBBERINGH E. (2008). The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect. Genet. Evol.*8:747-63.

DENIS F. PLOY M.C., BINGEN E. et QUENTIN R. (2011).Bactériologie médicale Techniquesusuelles.2^{ème} Ed. Paris: Elsevier Masson,p.630.

DLAWER A.et KEIICHI H. (2004).Epidemiology of MRSA and MSSA: In *Staphylococcus aureus* Molecular and Clinical Aspects. England: Horwood Publishing, pp.1-30.

DINGES M.M., ORWIN P.M. et SCHLIEVERT, P. (2000).Exotoxins of *Staphylococcus aureus* .*Clin.Microbiol.* 13:16-3.

DIALLO A.(2006) «Le portage nasal de *Staphylococcus aureus* en milieu chirurgical à l'hôpital du point G», Faculté de médecine, de pharmacie et de d'odonto- stomotologie, Université de Bamako, Mali.

DANAN C.U. (2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. *afssa*. p232.

DIDIER V. (2011).Manuel pratique maladies des volailles. 2^{ème} Ed. France agricole, p.288-292.

DJOUDI F.BENALLAOUA S. ALEO A. TOUATI A.CHALLAL M. BONURA C. et MAMMINA C. (2014).Descriptive Epidemiology of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Among Patients Admitted to Two Healthcare Facilities in Algeria. *MICROBIAL DRUG RESISTANCE*.1-4.

F

FIGUEIREDO A.M. et FERREIRA F.A. (2014).The multifaceted resources and microevolution of the successful human and animal pathogen methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Mem.Institu Oswaldo Cruz*. 109: 265-78.

FETSCH A.(2018).Pathogenesis of *Staphylococcus aureus*: In *Staphylococcus aureus*. United Kingdom: Elsevier, pp.13-36.

FERERIGHI M. (2005). Bactériologie Alimentaire, compendium d'hygiène des aliments. 2^{ème} Ed. Economica, pp.25-30.

FRENEY J., RENAUD F., LECLERCQ R. et RIEGEL. (2007).Précis de Bactériologie Clinique .3^{ème} Ed. Paris: ESKA, pp.807-810.

G

GUILLEMONT D., BRISABOIS A., BUGERE H., LECLERCQ R., MEGRAUD F.et GUILLOT J.F. (2006). Usage vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquence pour la santé humaine. *Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA)*, p.214.

GUNDOGAN N., CITAK N., YUCEL N. et DEVREN A. (2005). A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. *Elsevier*.807-810.

GORDON R.J. et LOWY F.D. (2004).Pathogenesis of méthicillin-resistant *Staphylococcus aureus* intermedius between dog affected by deep pyoderma and their owners. *Vet.Microbiol.* 98: 23-27.

GAUDY C. et BUXERAUD J. (2005). Antibiotiques: pharmacologique et thérapeutique. France: Collection PHARMA, p.255.

GAUTRET P., BENKOUTEN S., GAILLARD C., PAROLA P.et BROUQUI P.(2013).Camel milk-associated infection risk perception and knowledge in French Hajj pilgrims. *Vector borne and zoonotic diseases.* 13(6): 425–7.

H

HERMANS K., DERVIESE L.et HAESEBROUK F (2010).*Staphylococcus aureus.* In: Pathogenesis of Bacterial Infection in Animal.4^{ème}.Wiley-Blackwell, p.623.

HEIMAN F.L, MELLES D., VOS M.C., LEEUWEN W., BELKUM A.V.et VERBRUGH J. (2005).The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 5:751–62.

HIBER L. et DARLING K. (2011).Zoonotic Diseases.In: Veterinary Infection Prevention and control. Wiley-Blackwell, 63:174.

J

JIN T., BOKAREWA M., FOSTER T., MITCHELL J., HIGGINS J.et.TARKOWSKI A.(2004).*Staphylococcus aureus* human defences by production of Staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. *Journal Immunol.* 72: 76-1169.

K

KUMAR S., LEKSHIMI M., AMMINI P. et VERELA MF. (2017).The food production Environment and the Development of Antimicrobial Resistance in Human Pathogens of animal origin. *Microorganisms.* 5:11.

KHEMERI M., ABBASSI M.S., COUTO N., MANSOURI R., HAMMAMI S. et POMBA S. (2018).Genetic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and nasal samples of healthy cows in Tunisia *Institute of Veterinary.*1-18.

KAMIO Y. et TOMITA J.(2002).Pore-forming cytolytic α and γ - Hemolysins and Leukocidin from *Staphylococcus aureus.* In: *Staphylococcus aureus infection and disease.* New York: Kluwer Academic publishers, p.179-180.

L

LADHANI S. (2003). Understanding the mechanism of action of the exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Elsevier*. 39:181-189.

LEBOFFE M.J. et PIERCE B.E. (2010). Microbiology Laboratory and Application. 3^{ème} Ed. USA: Morton Publishing, p.765.

LE LOIR Y. et GAUTIE, M. (2010) Identification de l'Espèce au Sein du Genre. In: *Staphylococcus aureus*. Paris: Tec et Doc, pp.8- 207.

LLOYD D., BOAG A. et LOEFFER A. (2007). Dealing with MRSA in companion animal practice. *European journal of Companion Animal practice*. 17:85-93.

LECLERCQ R. (2002). Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. *Clinical infectiondeceases*. 21:375-383.

LOWRY F.D.(2003). Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*. 111: 1265-1273.

LEFEVRE A., RUIMY R. et ANDREMONT A.(2005). Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg Infect Dis*. 11:711–714.

LUCET J.C., CHEVRET S. et DURAND-ZALESKI I. (2003). Prevalence and risk factors for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to the intensive care unit. *Arch. Intern. Med*. 163:181-188.

M

MAMACHE B.(2000). “ Etude des pathologies digestive et respiratoire des veaux dans la region de Batna : Etude comparative de deux groups d'âge” faculté des sciences option microbiologie, Université Mentouri Constantine.

MORGAN M. (2008). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis ?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 62(6): 1181-1187.

MESSENGER A.M., BARNES A.N. et GRAY .G. (2014). Reverse zoonotic disease transmission (zooanthroponosis): a systematic review of seldom-documented human biological threats to animals. *PLoS One*. 9 : 55-89.

MOULIN M. et COQUERE, A. (2002). Pharmacologie connaissance et pratique. 2^{ème}Ed. Paris: Masson, pp.35-62.

MACZULAK A. et RUSKIN H. (2001).Encyclopaedia of microbiology. United States of America: Sheridan Books, pp. 617-618.

MUYLAERT A. et MAINIL J. (2014).Quinolones et fluoroquinolones: des décennies de développement et d'utilisation. *Annals de Médecine Veterinaires*, pp.1-27.

N

NEMEGHAIRE P.S., ROELAND S., ARGUDI A.M., HAESEBROUCK M., LEONARD F.C. et MARKEY B. K.(2008).Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: à review. *Veterinary Journal*. 175:27-36.

NHAN T.X. GILLET Y. et VANDENESCH F. (2012).Diagnostic et traitements des infections toxiques à *Staphylococcus aureus*. *Journal des anti-infectieux* .14(3):117-126.

NORMANNO G., LA SANLANDRA G., DAMBROSIO A., QUAGLI NC. et PARISI A. (2007).Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food of animal origin product in Italy. *Journal food Microbiol*.117:219-22.

O

OALEKISH M., AL-QUDAH K. et AL-SALEH A. (2013). Prevalence of antimicrobial resistance among Bacterial pathogens isolated from bovine mastitis in northern. *Jordan Revue Méd. Vet.* 164:319-326.

P

PUYT J.D., GUERIN-FAUBLÉE V., ARCANGIOLI M. A. et PROUILLAC C. (2013). Principales molécules. In: *Antibiothérapie bovine .Vade-mecum*. Paris: MED'COM, p.184.

PRESCOTT W. et SHERWOOD W. (2013).Microbiology. 4^{ème} Ed. New York: de boeck, p.114.

PERSOONS D, VAN HOOREBEKE S., HERMANS K., BUTAYE P., DE KRUIF A., HAESEBROUCK F. et DEWULF J. (2009).Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry. *Emerg InfectDis*.15:452-3.

Q

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

R

RAHAL K., BOUNAR-KECHIH BOUNAR S. et BENSLIMANI A. (2011). Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 6^{ème} Ed. OMS, p.179.

RISLEY A., LOUGH MAN A., CYWES-BENTLEY C., FOSTER T. et LEE J.(2007). Capsular polysaccharide masks clumping factor A-mediated adherence of *Staphylococcus aureus* to fibrinogen and platelets. *J. Infect. Dis.*196:919-927.

HEIDAR H. DASTMALCHI H. et AHMADI M. (2015). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Frequency and Antibiotic Resistance in Healthy Ruminants. *Jundishapur J Microbiol.* 8(10): 1-6.

S

SANDERS P., BOUSQUET-MELOU A. CHAUVIN C. et TOUTAIN P.C. (2011). Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRA Productions animales.* 24(2):199-204.

SHAW L. GOLONKA E. POTEPA. J. et FOSTER J. (2004). The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology.*150:217-228.

SHINEFIELD H.R. et RUFF N.L. (2009). Staphylococcal Infections: A Historical Perspective. *Infect Dis Clin.* 23: 1–15.

SCHLEFER K.H. et BELL J. A. (2009). Staphylococcaceae. In: Bergy's Manuel of systematic Bacteriology. 2^{ème} Ed. New York: Springer, pp.1-21.

SERRADJ C.(2016) «Etude du portage des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline chez les animaux d'élevage», Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université A. MIRA, Bejaia.

SURINDER Kumar.(2012). Textbook of MICROBIOLOGY. London: Jaypee Brother Medical Publishers, pp.229-240.

SALH S.(2013).ACTIVITE des LABORATOIRES de RECHERCHE et de DIAGNOSTIC
Alger: Institut de Pasteur, p.323.

T

TOUTAIN P.L. et BOUSQUET-MELOU A. (2012).De vieux antibiotiques ou des antibiotiques innovants pour la médecine vétérinaire ? *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires*.64:37-42.

THAPALIYA D., BLAKE M. et KLOSTERMANN C.A. (2015).Zoonotic Diseases of Swine: Food-borne and Occupational Aspects of Infection .In: *Zoonosis-Infections Affecting Humans and Animals*. London: Springer, pp.23-68.

TACIC A. NICOLIK V. et SAVIC I. (2017).Antimicrobial sulfamide drugs. *Advanced technologies*. 6(1): 58-71.

V

VAN DER WOLF P.J., ROTHKAMP A., JUNKER K. et DE NEELING A.J. (2012).*Staphylococcus aureus* (MSSA) and MRSA (CC398) isolated from post-mortem samples from pigs. *Veterinary Microbiology*. 158:136-141.

VINCENOT F. et PREVOST G. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Rev Francoph Lab*. 407: 9-61.

W

WEBER todd. (2010).Antimicrobial resistance, Beyond the Break point. Sweden: Karger, p.174.

WERTHEIM H.F., MELLES D.C., VOS M.C.,VAN LEEUWEN W., VAN BELKUM A. VERBRUGH H.A. et NOUWEN J.L. (2005).The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect. Dis*.5:751-762.

WALKER R.D. et DOWLING P.M. (2006). Floroquinolones. In: *Antimicrobial therapy. veterinary medicine*. 4^{ème} Ed. Ames: Blackwell publishing, pp.263-997.

WINSTON Lisa et CHAMBERS Henry F. (2009).Antimicrobial Resistance Staphylococci. In: *Mechanisms of Resistance and Clinical Implications. Antimicrobial Drug Resistance*. California: Springer, pp.735-738.

X

XIA G.K., et PERCHEL A. (2010).The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphyococcus aureus*.*International journal of Medical Microbiology*. 300:148-154.

Y

YALA D., MERAD A.S., MOHAMEDI D. et OUAR KORICH M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. 91.

Webographie

<https://www.swissnoso.ch> (consulté le 25 05 2018).

https://www.swissnoso.ch/fr/recherche/?tx_indexedsearch_pi2%5Baction%5D=search&tx_indexedsearch_pi2%5Bcontroller%5D=Search(consulté 15/06/2018).

[https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/29029#section=Metabolite-References\(clindamycine](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/29029#section=Metabolite-References(clindamycine) consulté le 17/06/2018)

<https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/beta-lactamines-penicillines-cephalosporines>(tableau consulté 17/06/2018)

<http://www.visualphotos.com> (consulté 18/06/2018)

www.gdscreuse.fr (consulté le 18/06/2018)

Annexes

Annexes 01 : Milieux de culture utilisés et leur composition

- **Muller Hinton**

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

pH=7,4 .

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

- **Bouillon cœur-cerveille**

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

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

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

- **Milieu de Chapman**

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

Extrait de viande (bovin ou porcine).....	1g
Peptone de caséine et de viande (bovine et porcine).....	10g
Chlorure de sodium.....	75g
• Mannitol.....	10g
• Agar.....	15g
• Rouge de phénol.....	0,025g

pH=7,6.

Préparation : 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

Annexes 02 : Réactifs et solutions

- **L'eau physiologique**

Chlorure de Sodium.....9g

Eau distillée1000 ml

- **Réactifs de la coloration de gram**

- 1. Violet de gentiane**

Phénol..... 2.0 g

Violet de gentiane..... 1.0 g

Éthanol à 90° 10 ml

Eau distillée..... 100 ml

- 2. Lugol**

Iodure de potassium..... 2.0 g

Iode métalloïde..... 1.0 g

Eau distillée 300 ml

- 3. Fuschinedeziehl**

Fuchine basique..... 1.0g

Phénol..... 5.0 g

Éthanol à 90°10 ml

Eau distillée100ml

- 4. Alcool (éthanol)**

- **Plasma de lapin**

Composition

Plasma de lapin lyophilisé.....1 flacon: 10 ml

Diluant (oxalate de sodium)..... 1 ampoule: 10 ml

Préparation

10 ml de solvant additionné stérilement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé.

Agiter pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse.

Annexes 3 : Tests biochimiques



Test d'oxydase



Test d'ADH



Test mannitol-mobilité



Test de VogsProskower

Annexes 04

Tableau : Liste des antibiotiques (KECHIH, 2011)

Famille	Antibiotique	Charge (μg)	Diamètres critiques (mm)		
			Résistant	Intermédiaire	Sensible
B-lactamines	Pénicilline G	10	≤ 28	-	≥ 19
	Oxacilline	1	≤ 10	11-12	≥ 13
	Céfoxitine	30	≤ 19	-	≥ 20
Glycopeptide	Vancomycine	30	-	-	≥ 15
Aminoglycoside	Gentamicine	10	≤ 12	13-14	≥ 15
	Néomycine	30	≤ 13	14-17	≥ 18
Macrolides	Erythromycine	15	≤ 13	14-22	≥ 23
	Clindamycine	2	≤ 14	15-20	≥ 21
Tétracyclines	Tétracycline	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Inhibiteurs de synthèse de l'acide folique	Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	25	≤ 10	11-15	≥ 16
	Bacitracine	130	≤ 15	-	≥ 18

Annexe05 :Antibiogramme de la souche 25923de *S.aureus* (photo INMV /LVR DBK, 2018).



Annexe 06 : les produits de la volaille selon leurs cycles d'âge.

Produits de la volaille	Age
Poules pondeuses	2 - 5 mois
Poulettes reproductrices chair	2 - 8 mois
Poulets de chair	40 - 60 jours
Poussins ponte	1 - 7 jours

Annexe 06: Antibiogrammes des souches des bovins testées vis-à-vis de 14 antibiotiques.

souche	FOX	PEN	PNV	AMC	OXA	ERY	NEO	TCY	SXT	B	GEN	CLI	ENR	van
1	30	25	29	29	15	21	21	28	33	17	29	30	30	19
2	26	16	28	24	12	19	21	9	29	15	27	22	29	22
3	30	20	24	16	14	23	20	28	26	20	22	14	27	20
4	32	24	23	33	7	20	22	6	31	10	25	30	29	21
5	30	25	27	26	9	21	23	6	22	9	26	31	30	21
6	30	6	28	22	9	24	20	7	36	22	27	26	32	22
7	34	20	30	29	9	22	30	27	34	27	29	30	28	25
8	31	18	29	29	18	18	24	26	34	9	30	30	29	22
9	29	21	30	26	18	20	28	20	32	27	32	31	24	21

Annexe 07 : Antibiogrammes des souches de la volaille testées vis-à-vis de 14 antibiotiques.

Souches	FOX	PEN	PNV	AMC	OXA	ERY	NEO	TCY	SXT	B	GEN	CLI	ENR	VAN
1	34	24	17	33	9	6	16	7	12	17	16	16	25	22
2	13	23	23	9	8	6	23	9	28	19	27	17	26	19
3	28	26	33	26	11	28	25	7	29	18	27	18	28	22
4	26	19	27	29	6	6	19	7	30	23	28	6	25	17
5	31	19	20	29	6	6	22	6	20	19	16	6	6	17
6	29	20	23	28	6	6	20	6	12	9	29	6	6	20
7	32	18	16	28	10	6	12	6	17	13	20	6	25	20
8	32	18	16	28	10	6	12	6	17	13	20	6	23	20
9	37	22	29	21	10	6	19	8	6	19	21	11	26	19
10	26	9	10	26	23	6	23	6	18	17	19	6	20	24
11	27	8	11	29	7	6	22	6	15	15	21	6	18	23
12	29	7	25	21	6	6	19	6	31	12	26	6	20	17
13	27	6	26	20	6	6	13	7	26	13	30	7	24	22
14	30	22	30	28	6	8	16	10	29	8	23	21	25	18
15	26	18	28	30	6	27	20	18	30	17	21	27	23	17
16	24	19	30	29	18	6	22	24	31	20	25	21	35	18
17	15	6	13	14	6	6	20	6	30	19	12	29	25	18
18	29	11	20	23	12	6	18	6	9	20	13	14	6	16
19	26	9	12	24	6	6	16	6	10	20	24	26	6	17
20	28	7	13	13	11	6	18	6	27	6	26	6	6	17
21	24	9	18	19	9		16	6	26	7	25	6	6	17
22	28	13	23	20	8	6	18	6	14	6	27	25	15	18
23	28	10	21	25	6	6	24	6	24	8	27	20	10	21
24	27	9	23	13	12	6	17	6	29	6	24	23	9	17
25	27	12	23	19	12	6	15	6	28	6	24	22	12	16
26	28	13	24	22	13	6	15	6	28	6	23	23	14	17
27	29	6	30	23	11	6	17	6	30	6	26	26	6	18

28	27	11	24	20	12	6	21	16	29	6	24	21	6	16
29	30	12	26	21	12	6	16	6	31	6	26	23	15	17
30	17	6	28	11	9	6	20	6	28	6	21	25	25	18
31	26	6	29	22	10	24	27	25	30	10	26	20	23	20
32	28	12	25	21	13	24	22	9	29	7	24	21	28	17
33	25	10	22	18	9	6	15	6	29	6	23	6	27	18
34	26	10	15	18	9	6	15	6	29	6	23	6	6	18
35	25	9	21	17	10	6	15	6	27	6	13	6	9	15
36	29	14	26	31	19	10	22	6	32	22	26	28	10	25
37	31	6	30	11	6	6	21	6	34	6	30	6	6	24
38	19	7	29	27	6	6	18	6	31	17	32	28	14	20
39	18	6	24	22	6	25	21	16	31	15	29	18	6	17
40	20	6	25	21	11	22	17	25	32	21	26	24	6	18
41	30	7	26	23	12	26	17	6	34	16	27	20	6	19
42	20	9	28	24	11	22	23	9	35	18	26	16	28	19
43	31	6	27	23	12	6	17	6	28	20	24	6	28	18
44	31	11	28	25	11	24	23	11	37	19	27	19	30	20
45	19	7	24	23	11	6	19	6	24	15	26	17	29	21
46	19	11	27	25	10	23	23	10	35	19	26	15	26	21
47	20	6	22	23	12	6	16	6	30	20	23	6	26	16
48	18	7	24	21	11	6	14	6	30	20	24	6	28	17
49	19	6	25	24	12	6	16	6	32	21	26	25	6	17
50	17	8	27	25	9	23	27	7	33	18	24	17	26	19
51	21	7	26	25	12	6	17	6	34	22	26	6	27	18
52	34	13	30	40	6	6	26	12	40	24	29	6	27	30
53	28	11	26	40	16	9	28	7	25	22	35	19	30	27
54	21	6	20	41	6	42	42	8	25	24	22	24	26	24
55	19	6	26	34	6	11	17	24	35	29	30	28	26	21
56	16	10	8	30	6	25	26	15	26	17	24	25	28	18
57	32	6	24	29	6	30	28	17	33	6	27	22	28	20