

**UNIVERSITE BLIDA 1**

**Institut des Sciences Vétérinaires**

**MEMOIRE DE MAGISTER**

en Sciences Vétérinaires

Spécialité : Microbiologie Médicale des Maladies Zoonotiques

**ETUDE BACTERIOLOGIQUE SUR LE PORTAGE ASYMPTOMATIQUE  
DES STAPHYLOCOQUES DANS LES CAVITES NASALES DU  
POULET DE CHAIR**

Par

**Imene KHERROUBI**

Devant le Jury composé de :

R. KAIDI	Professeur, ISV. U. Blida 1	Président
A. BOUYOUCHEF	Professeur, ISV.U. Blida 1	Examineur
M. OUMOUNA	Professeur, U. Médéa	Examineur
M.N.MENOUERI	Maître de Conférences A, ISV. U. Blida 1	Promoteur

Blida, mai 2015

## REMERCIEMENTS

J'adresse mes vifs remerciements à mon promoteur Docteur **M.N.MENOUERI**, maître de conférences catégorie A à l'Institut des Sciences Vétérinaires de BLIDA, pour ses valeureux conseils, ses encouragements ainsi que pour les précieuses corrections qu'il m'a apportées, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes sincères remerciements s'adressent à Docteur **S.KECHIH**, Chef de service Bactériologie Médicale du Laboratoire Vétérinaire Régional de Draa Ben Khedda, de m'avoir accueilli et mis à ma disposition les conditions et le matériel nécessaire pour effectuer ma partie expérimentale au sein de son service, qu'elle trouve ici l'expression de mes sincères reconnaissances.

J'exprime toute ma gratitude aux membres du jury :

Docteur **R. KAIDI**, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires de BLIDA, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

Docteur **A. BOUYOUCEF**, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires de BLIDA, C'est un grand honneur pour moi qu'il ait accepté de juger ce travail.

Docteur **M. OUMOUNA**, Professeur à l'Université de Médéa, qui nous a fait l'honneur de bien vouloir apporter ses compétences à notre jury.

Hommages respectueux.

Mes remerciements vont également au Directeur du Laboratoire Vétérinaire Régional de Draa Ben Khedda Docteur GHENIM, toute l'équipe du laboratoire notamment du service Bactériologie Médicale Mme Djellal, Mme Imoudache, Mr Siaci, pour leur sympathie, aide et encouragements.

Je tiens à remercier Monsieur le Directeur Yebda, vétérinaires inspecteurs et tout le personnel de l'abattoir Avicole de TABOUKERT, pour m'avoir permis d'effectuer mes prélèvements au niveau de leur abattoir.

## **DEDICACE**

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, à mon mari, à mes sœurs, à mes frères, à toute ma famille et belle-famille, à tous mes amis, pour leurs encouragements et leur soutien dans les moments difficiles.

A tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à ce travail.

## TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
RESUME	
INTRODUCTION	11
1. ELEVAGE DE POULETS	14
1.1. Production avicole	14
1.2. Différents modes d'élevage	14
1.3. Les différentes races de poules	15
2. APPAREIL RESPIRATOIRE DE LA VOLAILLE	16
2. 1. Anatomie de l'appareil respiratoire de la volaille	16
2.1.1. Flores commensales	17
2.1.2. Flore normale du système respiratoire	17
3. GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS	19
3.1. Historique	19
3.2. Habitat	19
3.3. Taxonomie	20
3.4. Caractéristiques des espèces concernées	23
3.5. Facteurs de virulence	26
3.6. Quorum sensing	32
3.7. Transmission	33
3.8. Pouvoir pathogène naturel	34
3.8.1. Types d'infections chez l'animal	34
3.8.2. Types d'infections chez l'homme	36
3.9. Diagnostic de laboratoire	37
4. LES ANTIBIOTIQUES	39
4.1. Définition	39
4.2. Action des antibiotiques	39
4.3. Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire	40
4.4. Mécanismes d'action antibactérienne	40
4.5. Mécanisme d'action des antistaphylococciques	41
5. L'ANTIBIORESISTANCE	44
5.1. Définition	44
5.2. Différents types de la résistance	44
5.3. Transferts entre réservoirs de résistances	45
5.4. Mécanismes bactériens de la résistance	46
5.5. Résistance des staphylocoques	46

6. ETUDE EXPERIMENTALE	51
6.1. Objectifs	51
6.2. Matériel et méthodes	51
6.3. Analyse statistique des résultats	64
6.4. Résultats	65
6.4.1. Cultures des prélèvements	65
6.4.2. Isolement et identification	65
6.4.3. Fréquence de portage nasal asymptomatique des Staphylocoques	70
6.4.4. Antibiogramme	71
6.4.4.1. Antibiogramme des souches isolées	72
6.4.4.1.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines	75
6.4.4.1.2. Les aminosides	77
6.4.4.1.3. Les macrolides	79
6.4.4.1.4. Les quinolones	79
6.4.4.1.5. Les sulfamides	80
6.4.4.1.6. Tétracyclines	81
6.4.4.1.7. Glycopeptides	81
6.4.4.1.8. Lincosamides	82
6.5. Discussion	84
CONCLUSION	89
RECOMMANDATIONS	90
APPENDICE	91
A. Liste des abréviations	92
B. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition <i>Staphylococcus spp.</i>	93
C. Composition des milieux de culture utilisés	94
REFERENCES	96

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 2.1 : Anatomie descriptive de la poule	16
Figure 3.1 : aspect caractéristique en amas de <i>S. aureus</i>	24
Figure 3.2 : Le système du quorum sensing	33
Figure 3.3 : Bumble foot ou gros doigt chez un canard	35
Figure 3.4 : Arthrite à <i>S.aureus</i> chez un coq reproducteur	35
Figure 3.5 : les principales infections à <i>Staphylococcus aureus</i> chez l'homme	37
Figure 4.1 : principales cibles des ATB	41
Figure 6.1 : Prélèvements de tête de poulet de chair dans des sachets stériles	52
Figure 6.2 : Ecouvillonnage nasal du poulet de chair	53
Figure 6.3 : Galerie Api Staph et réactifs	58
Figure 6.4 : Mesure de D.O. à l'aide d'un densitomètre	60
Figure 6.5 : Ensemencement de la culture bactérienne à l'aide d'un écouvillon stérile	61
Figure 6.6 : Application des disques d'antibiotiques sur le milieu Müller Hinton	62
Figure 6.7 : Aspect macroscopique des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose CHAPMAN	66
Figure 6.8: Vue au microscope photonique des Staphylocoques après coloration de Gram (grossissement 10x100)	66
Figure 6.9 : <i>Staphylococcus</i> catalase positive	67
Figure 6.10 : Dnase positive chez <i>Staphylococcus aureus</i>	67
Figure 6.11: <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positive	68
Figure 6.12 : Galerie Api staph après incubation 24 h à 35C° et après ajout des réactifs	69
Figure 6.13 : Pourcentage de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus xylosus</i> isolées à partir des cavités nasales du poulet de chair	69
Figure 6.14: Fréquence de portage nasal asymptomatique des staphylocoques	70

Figure 6.15: Antibiogramme après incubation 18h à 35C°, souche sensible à tous les antibiotiques testés, présence de zone d'inhibition	71
Figure 6.16 : Antibiogramme après incubation 18h à 35C°, souche résistante à la tétracycline et érythromycine, absence de zone d'inhibition	72
Figure 6.17 : représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à la Pénicilline	75
Figure 6.18 : représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à l'Amoxicilline+Acide clavulanique et Céfoxitine	76
Figure 6.19: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à l'oxacilline	77
Figure 6.20 : représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à la néomycine	78
Figure 6.21: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à la gentamicine	78
Figure 6.22: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à l'érythromycine	79
Figure 6.23: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à l'enrofloxacin	80
Figure 6.24: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à la triméthoprime+sulfaméthoxazole	80
Figure 6.25: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à la tétracycline	81
Figure 6.26: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à la vancomycine	82
Figure 6.27: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des <i>S.aureus</i> et <i>S.xylosus</i> à la clindamycine	82
Tableau 2.1 : Flores commensales des cavités nasales et du pharynx	18
Tableau 3.1 : Classification phylogénique	21
Tableau 3.2 : Espèces et sous-espèces du genre <i>Staphylococcus</i> et hôtes associés	21

Tableau 3.3 : Quelques marqueurs biochimiques permettant de différencier <i>S. aureus</i> et <i>S.xylosus</i> .	25
Tableau 5.1 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques	46
Tableau 6.1 : Liste des antibiotiques testés	63
Tableau 6.2 : Répartition des prélèvements selon leur culture	65
Tableau 6.3 : Répartition des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> selon leur sensibilité et résistance aux ATB	73
Tableau 6.4 : Répartition des souches de <i>Staphylococcus xylosus</i> selon leur sensibilité et résistance aux ATB	74



## RESUME

L'objectif de notre étude était de réaliser dans une première étape un isolement et une identification des staphylocoques isolés à partir des cavités nasales du poulet de chair asymptomatique tout venant sacrifiés à l'abattoir Taboukert de Tizi Ouzou, et dans une seconde étape étudier la sensibilité des souches isolées aux différentes familles d'antibiotiques. Un total de 133 souches de Staphylocoques ont été identifiés et analysés pour leur sensibilité aux antibiotiques.

Les résultats de l'antibiorésistance obtenus sur nos souches des *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus xylosus* respectivement sont : la pénicilline (35,5%/47,3%), l'erythromycine (92,1%/91,2%), la néomycine (25%/0%), l'enrofloxacin (69,7%/87,7%), triméthoprim+ sulfaméthoxazole (32,9%/5,3%), tétracycline (81,6%/82,45%) et la clindamycine (68,4%/40,3%). Les résultats ont révélé que les staphylocoques d'origine aviaire pouvaient représenter un réservoir de gènes de résistance envers ces antibiotiques.

Mots clés : Staphylocoques, Portage nasal, Isolement, Identification, Antibiorésistance, Poulet de chair.

## ملخص

كان الهدف من دراستنا إجراء في المرحلة الأولى عزل و تشخيص سلالات المكورات العنقودية المعزولة على مستوى الجيوب الأنفية لدجاج اللحم بدون أعراض المذبوح في مذبح تبوقت بتيزي وزو، وفي المرحلة الثانية دراسة حساسية العزلات لعائلات مختلفة من المضادات الحيوية. وقد تم تشخيص ما مجموعه 133 سلالة من المكورات العنقودية و تم تحليل حساسية هذه السلالات للمضادات الحيوية.

النتائج التي تم الحصول عليها لمقاومة سلالات المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) و المكورات العنقودية *Staphylococcus xylosus* للمضادات الحيوية هي على التوالي: البنسلين (pénicilline) (%35.5 / %47.3)، الأريثروميسين (l'erythromycine) (%91.2 / %92.1)، النيوميسين (néomycine) (%0 / %25)، إينروفلوكساسين (l'enrofloxacin) (%69.7 / %87.7)، تريميتوبريم + سلفاميثوكسازول (triméthoprim+sulfaméthoxazole) (%5.3 / %32.9)، التتراسيكلين (tétracycline) (%81.6 / %82.45) والكليندامايسين (clindamycine) (%40.3 / %68.4).

وكشفت النتائج أن المكورات العنقودية التي مصدرها الدجاج يمكن أن تمثل مستودعا للجينات مقاومة لهذه المضادات الحيوية.

## الكلمات الدالة

المكورات العنقودية، حمل على مستوى الجيوب الأنفية ، عزل، تشخيص، مقاومة المضادات الحيوية، دجاج اللحم.

## ABSTRACT

The aim of our study was to realize a first step isolation and identification of *Staphylococci* isolated from the nasal cavities asymptomatic broiler chicken sacrificed to all comers Taboukert slaughter of Tizi Ouzou, and in a second stage study sensitivity of isolates to different families of antibiotics. A total of 133 strains of *Staphylococci* were identified and analyzed for their sensitivity to antibiotics.

The results of antibiotic resistance obtained on our strains of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus xylosus* are respectively: penicillin (35.5% / 47.3%), erythromycin (92.1% / 91.2%), neomycin (25% / 0%), enrofloxacin (69.7% / 87.7%), trimethoprim+sulfamethoxazole (32.9% / 5.3%), tetracycline (81.6% / 82.45%) and clindamycin (68.4% / 40.3%). Results indicate that the avian staphylococci could represent a reservoir of genes for resistance to these antibiotics.

Key words: *Staphylococci*, Carriage nasal, Isolation, Identification, Antibiotic resistance, Broiler chicken.

## INTRODUCTION

Ubiquitaires, les staphylocoques sont commensaux de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux.

Bien que les *staphylocoques* soient une partie de la flore humaine normale et ainsi des micro-organismes commensaux, ils sont également des microbes pathogènes opportunistes qui peuvent causer plusieurs maladies [1].

Parmi les *staphylocoques*, *S. aureus* est l'espèce la plus prédominante. Il est aussi un agent étiologique des diverses maladies humaines et animales, y compris des infections de peau, des abcès, l'intoxication alimentaire, le syndrome de choc toxique, la septicémie, l'endocardite, et la pneumonie [2,3]. *S. aureus* est l'une des causes les plus proéminentes des infections bactériennes nosocomiales et acquises par la communauté dans le monde entier [4, 5].

Bien qu'une autre espèce appartenant au groupe des staphylocoques coagulase négative, *Staphylococcus xylosus*, soit considérée comme non pathogène, quelques souches pourraient présenter un risque potentiel.

En effet, *S. xylosus* a été impliqué dans divers cas d'infections humaines telles que des pyélonéphrites aiguës, des infections dentaires et du tractus urinaire [6, 7 ,8] et d'infections animales telles que des mammites et dermites [9, 10].

Il est actuellement reconnu que l'usage des antibiotiques en production animale exerce une pression de sélection qui favorise l'émergence et la diffusion de bactéries résistantes. Cette pression de sélection peut s'exercer au niveau de la flore bactérienne commensale des animaux [11].

L'ensemble de ces bactéries commensales résistantes constitue alors un réservoir de gènes de résistance pouvant être transférés à des bactéries zoonotiques. De plus, lorsque ces bactéries résistantes d'origine animale sont transmises à l'homme, elles peuvent également transférer leurs gènes de résistance à des bactéries de la flore commensale de l'homme [12].

La résistance aux antibiotiques des Staphylocoques est également une préoccupation majeure [13]. Pratiquement toutes les souches de *S. aureus* étaient sensibles à la pénicilline G lorsque cette dernière a d'abord été introduite au début

des années 1940, mais en 1944 les premiers rapports de *S. aureus* résistant à la pénicilline ont déjà apparus, et aujourd'hui presque toutes les souches de *S. aureus* sont résistantes aux pénicillines et aminopénicillines [14].

Pour toutes ces raisons il nous a semblé utile de s'intéresser à l'étude bactériologique du portage asymptomatique du germe *Staphylococcus* au niveau des cavités nasales du poulet de chair prélevé à l'abattoir avicole Taboukert de la wilaya de Tizi Ouzou.

Notre travail a pour objectifs :

- Isoler et identifier des souches de Staphylocoques à partir des cavités nasales de poulet de chair tout venant asymptomatique.
- Déterminer la sensibilité des souches de Staphylocoques isolées vis-à-vis différentes familles d'antibiotiques.

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

# CHAPITRE 1

## ELEVAGE DE POULETS

### 1.1. Production avicole

A l'échelle mondiale, l'élevage des volailles représente un secteur très important dans la production et la consommation des produits carnés. Selon les estimations de la FAO datées de septembre 2013, la production mondiale de viande de volaille a progressé de 2.4 % en 2012, pour atteindre 104.6 MT, dans un contexte de progression annuelle de la production mondiale toutes viandes de 2.1% [15].

A l'échelle nationale, la filière avicole constitue un secteur très important. Ses produits assurent plus de 50% de la ration alimentaire moyenne en produits d'origine animale [16]. La production annuelle de poulet de chair en Algérie est de 253.000 tonnes [17].

### 1.2. Différents modes d'élevage

L'aviculture à l'échelle mondiale se divise principalement en deux modes : le système intensif moderne et le système extensif traditionnel. Il existe aussi d'autres systèmes d'élevage supplémentaires compris entre les deux types précédents, résultants de l'introduction de diverses modifications et améliorations [18], on distingue :

#### 1.2.1. Le système extensif

Il s'agit d'un système d'élevage à l'air libre, dirigé par des méthodes traditionnelles, représenté essentiellement par l'élevage familial (de basse cour) et aussi par celui des fermes. Le cheptel à faibles effectifs est constitué par des poulets locaux ; il peut y avoir d'autres volailles domestiques comestibles comprenant canards, pintades, oies, pigeons, dindons, cailles, faisans etc... [19].

#### 1.2.2. Le système intensif

Le système intensif est coûteux, plus sophistiqué en terme de bâtiments, d'alimentation et de prophylaxie des maladies [18].

En Algérie, au début des années 80, l'Etat a mis en œuvre un important programme de développement du secteur avicole, basé sur l'élevage intensif de souches exotiques. Ces dernières (ISA, Tetra...) sont régulièrement importées. La conduite de ces souches se fait en intensif avec une taille moyenne de 3000 à 5000 sujets / atelier respectivement pour le poulet de chair et les poules pondeuses [20].

### 1.3. Les différentes races de poules

Dans le monde entier, il existe plus de 300 races de poules domestiques (*Gallus domesticus*). Elles sont classées en trois catégories principales : les races purement commerciales, les races hybrides provenant de croisement et les races locales.

Les races commerciales se répartissent en fonction de l'objectif principal de leur production ;

- Ponte d'œufs, généralement des races légères élevées pour leurs œufs, les pondeuses
- Production de viande, des races plus lourdes, les poulets de chair.
- A la fois ponte d'œufs et production de viande, les races mixtes [21].

En Algérie, les races locales sont exclusivement exploitées dans les élevages traditionnels extensifs, elles sont très mal connues et sont regroupées sous l'appellation générique de populations. Elles n'ont fait l'objet ni de recensement ni de caractérisation génétique [20].



## CHAPITRE 2

### APPAREIL RESPIRATOIRE DE LA VOLAILLE

#### 2. 1. Anatomie de l'appareil respiratoire de la volaille

L'appareil respiratoire de la volaille fait partie des particularités anatomiques remarquables qui font les oiseaux (figure 2.1).

Les narines sont percées dans chaque côté du bec supérieur. Elles débouchent dans les cavités nasales étroites. Au larynx, fait suite la trachée qui, à sa terminaison, est bifurquée en deux bronches principales. Chacune d'elles pénètre dans le poumon par la face ventrale. La bronche principale se continue par la mésobronche qui porte quatre bronches secondaires. Ces dernières se résolvent en un bouquet de bronche tertiaires ou para-bronches, dont la paroi est criblée de pores qui mènent aux capillaires aériens par les bronchioles respiratoires. L'arbre aérophore se termine, non pas par des alvéoles comme chez les mammifères, mais de vastes culs-de-sac extra-pulmonaires appelés sacs aériens. Les sacs aériens sont les prolongements des mésobronches qui s'échappent des poumons pour envahir la cavité troncale, les interstices musculaires de la carcasse, les os eux-mêmes [22].

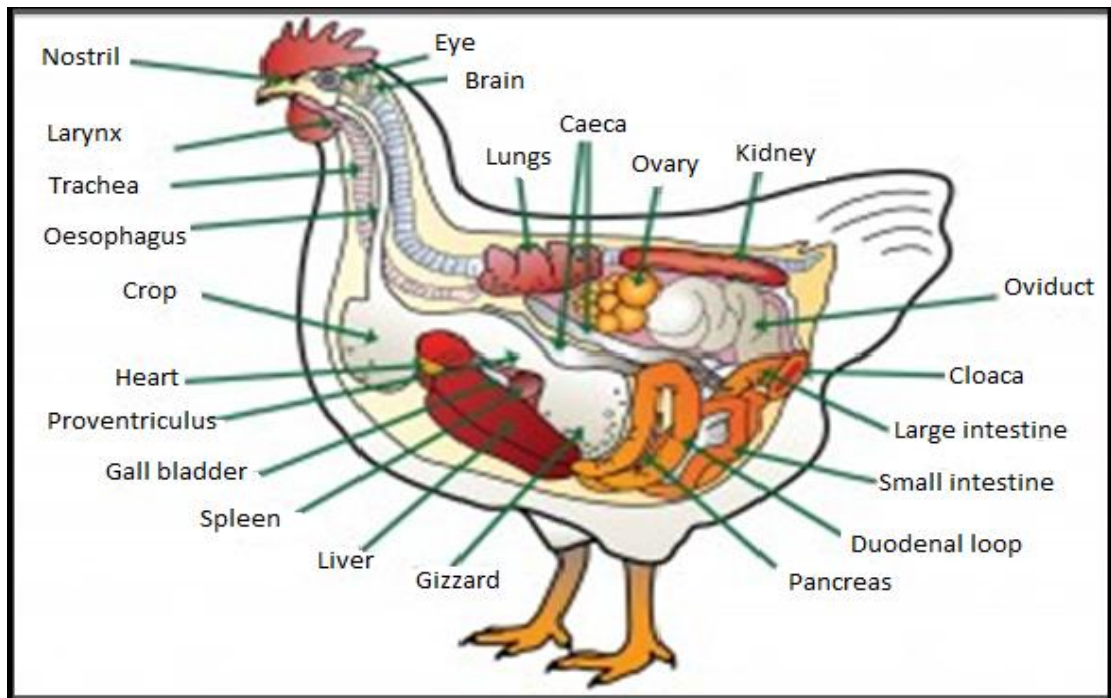


Figure 2.1 : Anatomie descriptive de la poule [23].

Au niveau du système respiratoire, une flore normale colonise la muqueuse des cavités nasales et du pharynx. Par contre les voies respiratoires inférieures sont normalement presque stériles [24,25]

### 2.1.1. Flores commensales

La flore commensale est composée par les germes résidant sur les surfaces cutanés et muqueuses du sujet sain. Un grand nombre de bactérie, de protozoaire et de champignon constituent cette flore [26].

Selon Leyral et Vierling [27], on distingue deux types de flores :

- a- Les flores commensales permanentes : dites flores résidentes qui ont tendance à se rétablir chaque fois qu'elles sont perturbées ;
- b- Les flores transitoires : constituées de bactéries peu nombreuses, non pathogènes en présence de la flore résidente, mais qui peuvent proliférer et devenir pathogènes lorsque la flore résidente est perturbée.

La composition des flores est variable en fonction des sites anatomiques, de leurs propriétés physicochimiques et des facteurs exogènes qui peuvent modifier ces dernières [24].

### 2.1.2. Flore normale du système respiratoire

La flore normale du système respiratoire colonise la muqueuse des cavités nasales et du pharynx.

Les bactéries les plus fréquemment retrouvées dans nasopharynx de diverses espèces animales sont représenté dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Flores commensales des cavités nasales et du pharynx [28].

	Flore pharyngée	Flore nasale
Commensaux habituels	Streptocoques $\alpha$ hémolytiques Streptocoques non-hémolytique Bactéries Anaérobies <i>Neisseria, Moraxella</i> Staphylocoques Corynébactéries Haemophilus	Staphylocoques Corynébactéries
Portage occasionnel	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

## CHAPITRE 3

### GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS

#### 3.1. Historique

Dès l'avènement de la microbiologie, la bactériologie en l'occurrence les staphylocoques ont été l'objet de nombreuses investigations menées par d'éminents microbiologistes à l'instar de Koch, Pasteur, Ogston et Rosenbach.

Ennemi intime et permanent depuis la nuit des temps, le Staphylocoque fut démasqué à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, l'observation au microscope faisant apparaître des « amas de grains » dans le pus de furoncles. D'abord observé par Robert Koch en 1878, il fut reconnu par Louis Pasteur deux ans plus tard [29].

Ces isolats observés et identifiés en 1879 dans des pus de furoncle et d'ostéomyélite par Pasteur comme étant "un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple, rarement par quatre, mais très fréquemment associés en petits amas". Ainsi, il les a cultivés en 1880 et disait que "l'ostéomyélite est le furoncle de la moelle épinière" [30, 31].

Plus tard ; en 1883, Alexander Ogston crée le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* [16, 31,32].

En 1884, en Allemagne Rosenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en obtenant des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide. Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies (blanches ou dorées) [33,34].

#### 3.2 .Habitat

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhino-pharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, volailles) et en particulier chez L'homme. [35, 36, 37].

Les staphylocoques ont également été isolés de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'homme (cuisine, réfrigérateur), de l'environnement hospitalier et des ateliers de préparation alimentaires et à partir de denrées alimentaires. La peau et les muqueuses de l'Homme et des animaux constituant l'habitat primaire de *S. aureus*, la présence de ce germe dans l'environnement est vraisemblablement due à une contamination par l'Homme ou les animaux [37].

### 3.3. Taxonomie

La classification des staphylocoques a connu de nombreux bouleversements. Lors de la première édition en 1923 du « Bergey's Manual of Determinative Bacteriology », les staphylocoques étaient classés dans la famille des *Streptococcaceae* puis lors de la deuxième édition en 1926, dans la famille des *Micrococcaceae*. En 1948, cette famille comprenait alors les genres *Micrococcus* et *Staphylococcus*. Ce n'est qu'en 1957 que les staphylocoques et les microcoques furent séparés sur la base de leur capacité à utiliser le glucose en anaérobiose. Cependant, ce test amena beaucoup de confusion en attribuant certaines espèces du genre *Staphylococcus* au genre *Micrococcus* [38].

En 1974, 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*. La famille des *Micrococcaceae* était alors constituée des bactéries appartenant aux genres *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Planococcus* et *Stomatococcus* [39].

Avec l'évolution des techniques génomiques, le genre *Staphylococcus* a été reclassé avec les bactéries à Gram positif dont l'ADN présente un GC% inférieur à 55. Le GC% et la composition de la paroi sont des marqueurs robustes pour séparer le genre *Staphylococcus* des autres coques à Gram positif et à catalase positive. Ainsi, la famille des *Micrococcaceae* a été remaniée et dans la seconde édition du « Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology », le genre *Staphylococcus* a été reclassé dans l'ordre des *Bacillales* et dans la famille des *Staphylococcaceae* (tableau 3.1). Le genre *Staphylococcus* devient

taxonomiquement proche des genres *Enterococcus*, *Bacillus*, *Listeria*, *Planococcus* et *Brochothrix* [40].

Tableau 3.1 : Classification phylogénique [41]



On reconnaît actuellement 51 espèces et sous espèces de staphylocoques, que l'on peut identifier grâce à leurs différents caractères phénotypiques (réactions biochimiques, structure de la paroi) et génotypiques (polymorphisme de restriction, ribotypage et autres), ce dernier étant le plus souvent réservé aux études épidémiologiques (tableau 3.2).

Les espèces sont généralement classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre : les staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme les plus pathogènes et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) [42].

Tableau 3.2 : Espèces et sous-espèces du genre *Staphylococcus* et hôtes associés [43].

Espèce/ Sous-espèce	Coagulase	Hôte ou source
<i>S. arletti</i>	-	Caprin, volaille
<i>S. aureus subsp. anaerobius</i> <i>S. aureus subsp. aureus</i>	+	Ovin Homme, animaux, environnement
<i>S. auricularis</i>	-	Homme
<i>S. capitis subsp. capitis</i> <i>S. capitis subsp. ureolyticus</i>	-	Homme Homme, primates
<i>S. caprae</i>	-	Homme, caprins
<i>S. carnosus subsp. carnosus</i> <i>S. carnosus subsp. utilis</i>	-	Produits carnés Aliments
<i>S. chromogenes</i>	-	Animaux, lait

<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i> <i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i>	-	Homme Homme, animaux
<i>S. condimentii</i>	-	Sauce au soja
<i>S. delphini</i>	+	Dauphins
<i>S. epidermidis</i>	-	Homme, animaux, environnement
<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i> <i>S. equorum</i> subsp. <i>linens</i>	-	Chevaux, bétail Surface fromage affiné
<i>S. felis</i>	-	chats
<i>S. fleurettii</i>	-	Fromage lait de chèvre
<i>S. gallinarum</i>	-	Volailles, oiseaux
<i>S. haemolyticus</i>	-	Homme, animaux domestique, environnement
<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i> <i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	- -	Homme Homme
<i>S. hyicus</i>	+	Animaux, aliments
<i>S. intermedius</i>	+	Mammifère, oiseaux, rarement Homme
<i>S. kloosii</i>	-	Animaux sauvages
<i>S. lentus</i>	-	Animaux, rarement Homme
<i>S. lugdunensis</i>	-	Homme
<i>S. lutrae</i>	+	Loutre
<i>S. muscae</i>	-	Mouches, porcs
<i>S. nepalensis</i>	-	chèvre
<i>S. pasteurii</i>	-	Homme, animaux, aliments
<i>S. pettenkoferi</i>	-	Homme
<i>S. piscifermentans</i>	-	Poisson fermenté
<i>S. pseudintermedius</i>	+	Animaux
<i>S. pulvereri</i>	-	Homme, animaux
<i>S. saccharolyticus</i>	-	Homme
<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i> <i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	- -	Animaux Homme, animaux
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i> <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	+ -	Chiens Homme
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i> <i>S. sciuri</i> subsp. <i>lentus</i> <i>S. sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i> <i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i>	- - - -	Produits carnés Animaux Rongeurs, animaux Homme, animaux

<i>S. simulans</i>	-	Homme, mammifère
<i>S. succinus subsp. casei</i>	-	Surface de fromage affiné
<i>S. succinus subsp. succinus</i>	-	ambre
<i>S. vitulinus</i>	-	Animaux, aliments
<i>S. warneri</i>	-	Homme, primates
<i>S. xylosus</i>	-	Homme, animaux, environnement

### 3.4. Caractéristiques des espèces concernées

#### 3.4.1. Caractères morphologiques

Les staphylocoques se présentent à l'examen microscopique sous l'aspect de coques à Gram positif isolés ou groupés en diplocoques ou en amas (figure 1.1). Le mode de groupement dit en « grappe » ou en « amas » est plus caractéristique après culture sur un milieu gélosé [44, 45, 46].

La disposition en amas s'explique par la division cellulaire des staphylocoques en trois plans successifs et perpendiculaires les uns aux autres, et par le fait que les cellules filles ne se séparent pas complètement de la cellule mère dont elles sont issues [47, 48].

Sur le plan individuel, ce sont des cocci qui mesurent 0,8 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre, immobiles, asporulés, parfois capsulés [33, 49].

*S. aureus* a longtemps été considéré comme une bactérie non capsulée ; en effet, la présence de capsule classique, c'est-à-dire visible en microscopie optique en présence d'encre de Chine n'a été démontrée que pour très peu de souches. En revanche, la majorité des souches isolées d'infections humaines et animales produisent des polysides capsulaires qui forment des microcapsules non visibles en microscopie optique [50].



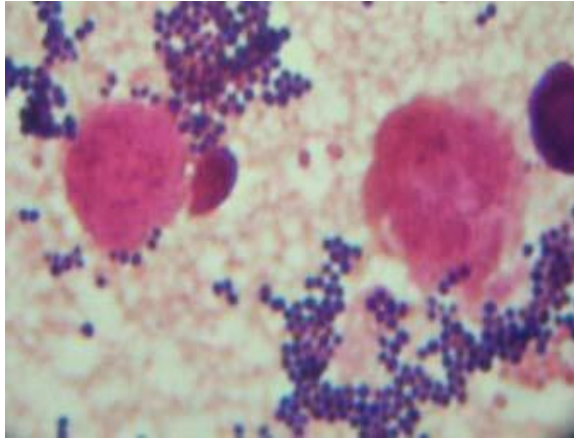


Figure 3.1 : aspect caractéristique en amas de *S. aureus* [51].

### 3.4.2. Caractères cultureux

Les staphylocoques sont en général aéro-anaérobie facultatif et poussent sur milieu ordinaire en aérobiose à l'exception de *S. saccharolyticus* et *S.aureus anaerobius* [45, 52] qui sont donc catalase négative.

Certaines souches nécessitent cependant une forte pression en CO<sub>2</sub> pour une croissance optimale ainsi que la présence d'autres métabolites tels que l'hémine et thymidine [44,53].

La température optimale de croissance est de +30 à +45°C avec un maximum à 37°C et le pH varie entre 4,8 à 9,4 avec un optimum à 7,5.

En bouillon ordinaire, la culture est rapide et les staphylocoques se multiplient en quelques heures, formant un trouble homogène ou un dépôt [45].

En milieu solide, on observe des colonies opaques, régulièrement rondes, lisses, plus ou moins bombées avec un diamètre variant de 1,5 à 4 mm [44].

En milieu gélosé au sang, on observe fréquemment une zone claire d'hémolyse (bêta hémolyse) autour des colonies. Ceci est lié au fait que certains staphylocoques, en particulier *S. aureus*, sont susceptibles de synthétiser quatre hémolysines distinctes et variables d'une souche à l'autre, et dont l'activité diffère selon le type d'hématie en cause.

A +4° C, les staphylocoques conservent leur vitalité pendant 3 mois dans le pus et pendant un an sur gélose [45].

### 3.4.3. Caractères biochimiques

Les staphylocoques possèdent une catalase à l'exception de *Staphylococcus aureus* sous espèces *anaerobius* que l'on retrouve exclusivement chez les moutons et *Staphylococcus saccharolyticus* [54].

Des études ont permis d'identifier certains marqueurs biochimiques, permettant de différencier *S. aureus* et *S.xylosus* (Tableau 3).

Tableau 3.3 : Quelques marqueurs biochimiques permettant de différencier *S. aureus* et *S.xylosus* [55, 56].

Tests	<i>S.aureus</i>	<i>S.xylosus</i>
Uréase	d	+
Réduction des nitrates	+	d
Production d'Acétoïne	+	d
Phosphatase alcaline	+	d
$\beta$ -glucosidase	+	+
$\beta$ -glucuronidase	-	d
$\beta$ -galactosidase	-	+
Arginine dihydrolase	+	-
Réduction du nitrate	+	d
Production d'acide (en aérobie) à partir de :		
D-Tréhalose	+	+
D-Mannitol	+	d
D-Mannose	+	+
D-Turanose	+	d
D-Xylose	-	+
D-Cellobiose	-	-
L-Arabinose	-	+
Saccharose	+	+
Maltose	+	+
Raffinose	-	-

Symboles : +, 90% ou plus de souches positives; d, 11-89% de souches positives ; -,90% ou plus de souches négatives.

### 3.5. Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence sont tous les éléments microbiens qui vont participer à l'expression du pouvoir pathogène d'une bactérie. Ces facteurs vont favoriser la colonisation de l'hôte, la multiplication bactérienne, permettre à la bactérie d'échapper au système immunitaire de l'hôte ou provoquer directement des dommages aux tissus.

#### 3.5.1. Facteurs de surface

##### 3.5.1.1. Protéine A

La protéine A des staphylocoques est une protéine ancrée à la paroi de la bactérie qui a initialement été décrite chez *Staphylococcus aureus*. Cette protéine de 42kDa contient 5 domaines extra-cellulaires (A à E) très homologues qui ont la capacité de fixer certains types d'anticorps. Chacun de ces domaines est, en effet, capable de fixer le fragment constant Fc $\gamma$  des immunoglobulines de classe G (ou IgG) [57].

Suite à l'interaction entre la protéine A et les IgG, le staphylocoque va se retrouver entouré d'IgG. Cependant, l'orientation des IgG n'est pas correcte (car elles ne sont pas fixées par leur fragment reconnaissant l'antigène) et les IgG ne vont pas pouvoir être reconnues par le récepteur Fc des neutrophiles ou par les facteurs du complément. La bactérie échappe ainsi à la phagocytose par les neutrophiles et à l'activation de la voie classique du complément [58].

La protéine A est aussi capable de se lier au facteur de Von Willebrand, une protéine essentielle de l'hémostase, ainsi qu'aux plaquettes sanguines. La fixation sur ces dernières favoriserait la colonisation des endothéliums par *Staphylococcus aureus* et aurait un rôle important dans la pathogénie des endocardites dues à *Staphylococcus aureus* chez l'homme [59].

##### 3.5.1.2. Adhésines de *Staphylococcus aureus*

Le clumping factor A est une protéine de liaison au fibrinogène de *Staphylococcus aureus* exprimée au cours de la phase stationnaire de la croissance bactérienne. En se liant aux chaînes  $\gamma$  du fibrinogène, les bactéries, par l'intermédiaire du clumping factor A, peuvent former des agrégats. Cette

agrégation est bien décrite in vitro mais la densité de bactérie in vivo est généralement insuffisante pour qu'ils puissent se former. En revanche, le clumping factor A permet à *Staphylococcus aureus* d'échapper à la phagocytose des neutrophiles en recouvrant la bactérie de fibrinogène et en activant le facteur I du complément, facteur qui entraîne l'inactivation des opsonines C3b. Le clumping factor A est un facteur de virulence décrit dans les modèles murins du sepsis et d'arthrite et qui intervient surtout lors de la phase de bactériémie [58].

Il existe un clumping factor B, qui est aussi une protéine de liaison au fibrinogène, décrite chez *Staphylococcus aureus*. Contrairement au clumping factor A, celui-ci est uniquement exprimé au cours de la phase de croissance exponentielle. Sa liaison au fibrinogène permet, de la même façon que le clumping factor A, d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte. Cependant, le clumping factor B possède également la capacité de se lier à la cytokératine 10, un constituant majeur des kératinocytes qui peut aussi être exprimé à la surface de ceux-ci [60]. Chez l'homme, les études ont montré que la fixation du clumping factor B à la cytokératine 10 exposée à la surface des cellules de l'épithélium nasal, fait de celui-ci le principal facteur de virulence impliqué dans la colonisation des cavités nasales par *Staphylococcus aureus* [58,61].

### 3.5.1.3. Paroi bactérienne

Le peptidoglycane est le composant majeur de la paroi des bactéries Gram positif. Chez les staphylocoques, sa structure particulière le rend insensible au lysozyme (un composant bactéricide important des défenses innées présent dans de nombreuses sécrétions et dans les cellules phagocytaires) et favorise sa survie à l'intérieur des phagosomes [58].

Lorsque *Staphylococcus aureus* est soumis à des peptides antimicrobiens comme à la surface de la peau ou à l'intérieur des phagosomes, une modification de la charge des acides teichoïques et de la membrane à lieu. Cette modification entraîne une augmentation de la charge positive de la paroi qui neutralise les charges négatives des défensines cationiques et les rend inefficaces [58]. L'acide teichoïque de la paroi bactérienne semble également être impliqué dans la colonisation des narines par *Staphylococcus aureus* [62].

De plus, la plupart des souches de *Staphylococcus aureus* expriment une microcapsule composée de polysaccharides capsulaires. Ces polysaccharides permettent de réduire l'opsonisation de la bactérie et donc la phagocytose [58].

### 3.5.2. Toxines

Les toxines sont des protéines, sécrétées par les bactéries, qui vont agir à distance du site infectieux et provoquer des syndromes variés. De nombreuses toxines peuvent être produites par les staphylocoques.

#### 3.5.2.1. Toxines exfoliatives

Les toxines exfoliatives (ET) des staphylocoques sont impliquées dans certaines infections cutanées des mammifères.

Les toxines ETA et ETB (exfoliative toxin A et B) de *Staphylococcus aureus* sont notamment mises en cause dans l'impétigo bulleux de l'homme et dans sa forme généralisée, le syndrome de la peau ébouillantée, caractérisés par la formation de vésicules et de bulles. Une toxine ETD a également été identifiée chez des hommes atteints de pyodermite profonde [63].

#### 3.5.2.2. Cytotoxines

Les staphylocoques sont capables, par l'intermédiaire de protéines sécrétées dans le milieu, de lyser des cellules de l'hôte à distance. Les capacités hémolytiques et leucotoxiques du surnageant d'une culture de *Staphylococcus aureus* sont même connues depuis plus de 100 ans [35].

##### 3.5.2.2.1. L'alpha-hémolysine ou alpha-toxine staphylococcique

L'alpha-hémolysine ou alpha-toxine staphylococcique est de nature protéique, thermostable, antigénique, induisant la formation d'anticorps neutralisants [20]. L'alpha-toxine est synthétisée par 80 à 90% des souches de *S. aureus* isolées chez l'Homme. Elle est sécrétée en fin de phase exponentielle de croissance [64]. L'hémolysine  $\alpha$  a principalement une activité hémolytique sur les érythrocytes de l'homme et du lapin et une activité cytotoxique sur les monocytes et les lymphocytes de l'homme [65].

##### 3.5.2.2.2. La bêta-toxine

L'hémolysine  $\beta$  ou toxine  $\beta$  est synthétisée chez 18% seulement des souches de *S. aureus* d'origine humaine. Elle est sécrétée en fin de phase exponentielle de croissance comme la plupart des exoprotéines. C'est une protéine de 39 kDa

constituée de 330 acides aminés. Son extrémité N terminale est clivée immédiatement après sa sécrétion [66].

Elle agit sur un grand nombre de cellules incluant les globules rouges, les globules blancs et les fibroblastes. Son activité hémolytique est remarquable par les conditions d'apparition, car elle est de type "chaud-froid": les érythrocytes soumis à son action à 37°C ne sont pas lysés sauf si on les refroidit à 4°C.

Le mécanisme du "phénomène chaud-froid" n'est pas encore élucidé: toute la sphingomyéline présente dans la membrane est bien dégradée mais elle reste stable sans hémolyse; le refroidissement brusque, ainsi que l'action d'autres phospholipases, ou des toxines alpha et delta de *S. aureus* déclencherait alors l'hémolyse.

Le rôle pathogène de cette toxine n'est pas précis, car elle est instable à l'état purifié et ses effets cytopathiques sont mal connus [47,45].

#### 3.5.2.2.3. La delta-toxine

L'hémolysine  $\delta$  ou toxine  $\delta$  est un petit peptide d'environ 3 kDa, constitué de 26 acides aminés. Elle forme une hélice alpha avec un domaine hydrophobe d'un côté et un domaine hydrophile à son opposé. Elle est synthétisée par 97% des souches de *S. aureus* en phase stationnaire de croissance. Ce peptide est capable de lyser différentes cellules dont les érythrocytes ainsi que des structures subcellulaires telles que les organelles et les protoplastes mais son activité est inhibée par la présence de phospholipides. Sa tendance à former des agrégats ainsi que sa structure en hélice alpha, font qu'elle agit comme un détergent en perturbant la membrane cellulaire [67].

#### 3.5.2.2.4. La gamma-toxine et la leucocidine de Panton-Valentine

L'hémolysine  $\gamma$  ou toxine  $\gamma$  est synthétisée chez 97% des souches de *S. aureus* alors que la leucocidine de Panton-Valentine (LPV) n'est synthétisée que chez 2% de ces souches.

La toxine  $\gamma$  et la LPV font partie de la famille de toxines synergo-hyménotropes (SHT). Ces toxines sont constituées de deux protéines non associées agissant en synergie et qui, séparées l'une de l'autre, n'ont qu'une faible activité biologique. Ces deux protéines sont connues sous les noms de composés S et F, pour Slow- et Fast-eluting proteins dans une colonne à échange d'ion. Leur mode d'action est

leur fixation à la membrane des cellules cibles puis la formation de canaux membranaires laissant passer des cations divalents. Ces cellules cibles sont les neutrophiles et macrophages ainsi que les érythrocytes pour la toxine  $\gamma$ .

Il existe quatre variants moléculaires de la toxine  $\gamma$  qui est hémolytique et leucotoxique *in vitro*. La LPV est leucotoxique et dermonécrotique mais non-hémolytique [67].

#### 3.5.2.3. Toxine du syndrome de choc toxique (TSST)

Au cours de ce syndrome on observe notamment un rash érythémateux avec ou sans desquamation [54]. Les staphylocoques responsables produisent une toxine (TSST-1) sensible aux enzymes protéolytiques, antigénique et d'une masse moléculaire de 20 000 daltons [33].

Certaines souches de *S. xylosus* sont également capables de produire la toxine TSST-1. Valle *et al.* [68] ont observé que sur 23 souches de *S. xylosus* isolées de lait, 26% produisaient la TSST-1. Deux souches de *S. xylosus* productrices de TSST-1 ont également été isolées de la peau des mains de serveurs dans un restaurant au Koweït [69].

#### 3.5.2.4. Entérotoxine staphylococciques

Les entérotoxines staphylococciques (ES) constituent un groupe de molécules hautement toxiques produits par les staphylocoques dans les aliments. Ce sont des exoprotéines de masse moléculaire compris entre 22 et 29 kDa. Leur première description remonte à 1959 [37]. Elles appartiennent à la famille des exoprotéines pyrogéniques produites par certaines souches de staphylocoques à coagulase positive et par quelques espèces de streptocoques.

Cette famille de protéines présente des propriétés biologiques communes : pyrogénicité (élévation de la température corporelle) et activation des lymphocytes T (action superantigénique).

Une souche de staphylocoques peut produire deux ou trois types d'entérotoxines en même temps [70]. La quantité de toxine produite peut être très variable [71].

Parmi les staphylocoques à coagulase positive, plusieurs espèces peuvent sécréter des ES, c'est le cas de *Staphylococcus aureus* (espèce majoritairement

retrouvée dans les épisodes toxiques) et de *Staphylococcus intermedius* dont une souche fut impliquée dans un cas d'intoxication alimentaire aux Etats-Unis [72,73]. D'après certains auteurs, quelques espèces à coagulase négative comme *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus haemolyticus* peuvent également produire des ES [74, 75, 76,77].

### 3.5.3. Enzymes

#### 3.5.3.1. La coagulase ou staphylocoagulase

La coagulase est une protéine de 60kDa qui se fixe avec la prothrombine sur un site de liaison situé en N-terminal. Elle forme avec la prothrombine un complexe nommé staphylothrombine. Ce complexe va induire une polymérisation du fibrinogène en fibrine et ainsi la formation d'un thrombus [78].

#### 3.5.3.2. La DNase thermostable

La DNase thermostable est le produit du gène *nuc*. On la nomme aussi la thermonucléase et c'est une endonucléase. Cette enzyme coupe les acides désoxyribonucléiques (ADN) en nucléotides ou polynucléotides en hydrolysant les liaisons phosphodiesters. La thermonucléase est caractéristique des souches de *S. aureus* (ainsi que deux autres staphylocoques à coagulase positive) et elle n'est pas détruite à des températures élevées (15 minutes à 100°) [79].

#### 3.5.3.3. La staphylokinase

Elle a rôle d'extension car elle permet, indirectement, aux bactéries de s'essaimer dans l'organisme en formant des localisations secondaires. Cette enzyme actionne le mécanisme de transformation du plasminogène en plasmine et provoque la dissolution du thrombus contenant les *S. aureus* et par conséquent leur dissémination. D'autres activités ont été recensées comme la neutralisation des IgG et du fragment C3b du complément évitant ainsi la phagocytose [80] ou comme la fixation aux peptides bactéricides ( $\alpha$ -defensines) des neutrophiles pour empêcher leurs propriétés défensives [81].



#### 3.5.3.4. La FAME

Une enzyme modifiant les acides gras (fatty acid modifying enzyme) est exprimée par 80% des souches de *S. aureus*. Elle semble constituer un facteur de virulence important dans les abcès par modification des lipides antibactériens de l'hôte [82].

#### 3.5.3.5. Hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile (80 kDa), agissant à pH acide, qui hydrolyse l'acide hyaluronique présent dans la matrice acellulaire du tissu conjonctif dont elle diminue la viscosité; ce qui a pour effet, de permettre la diffusion des staphylocoques dans les tissus [47, 45].

### 3.6. Quorum sensing

Le quorum sensing correspond à un phénomène de communication des bactéries qui leur permet de prendre des « décisions collectives » afin de coordonner leur action. Ce mécanisme repose sur la production de petites molécules de signalisation appelées autoinducteurs (autoinducers = AI) qui sont secrétées en permanence par les bactéries. Plus la taille de la colonie est importante, plus la concentration en molécules de signalisation est élevée. Parce que ces molécules peuvent diffuser au travers des membranes, leur concentration intra-cellulaire est la même que celle de l'environnement. Lorsque cette concentration dépasse un certain seuil, les signaux se lient à leurs récepteurs et l'expression des gènes des bactéries est alors changée et synchronisée dans tous les individus de la colonie [83].

Le quorum sensing de *Staphylococcus aureus* a beaucoup été étudié et sert de modèle pour étudier celui des autres bactéries Gram positif. Ce système est codé par le locus du gène « accessoire régulateur » (accessory gene regulator ou *agr*) qui contient quatre gènes : *agrA*, *agrB*, *agrC* et *agrD*. L'auto-inducteur est un oligopeptide nommé AIP (autoinducing peptide) codé par le gène *agrD*. La forme active de AIP a une longueur de seulement 7 à 9 acides aminés. Elle est coupée et secrétée dans le milieu extérieur par la protéine membranaire *AgrB*. La protéine *AgrC* est une kinase membranaire à laquelle se lient les AIP extra-cellulaires ce qui entraîne une autophosphorylation de *AgrC* et l'activation de la protéine *AgrA*. Cette protéine *AgrA* induit alors la transcription au niveau de sites promoteurs appelés P2 et P3 ce qui permet la production des ARNII et ARNIII (Figure 3.2).

L'ARNII contient les séquences codantes pour AgrA à AgrD et a ainsi un rôle de régulation du système. L'ARNIII est l'effecteur du quorum sensing : il régule l'expression de plus de 70 gènes dont 23 sont des facteurs de virulence connus. Plus précisément, il réduit l'expression des facteurs de virulence impliqués dans les mécanismes d'adhésion et d'échappement au système immunitaire et augmente l'expression des toxines et enzymes. Il est supposé que c'est l'activation du système *agr* qui permet le passage d'une colonie commensale à une colonie pathogène. Quatre groupes d'*agr*, produisant chacun leur propre AIP, ont été identifiés chez *Staphylococcus aureus* [84].

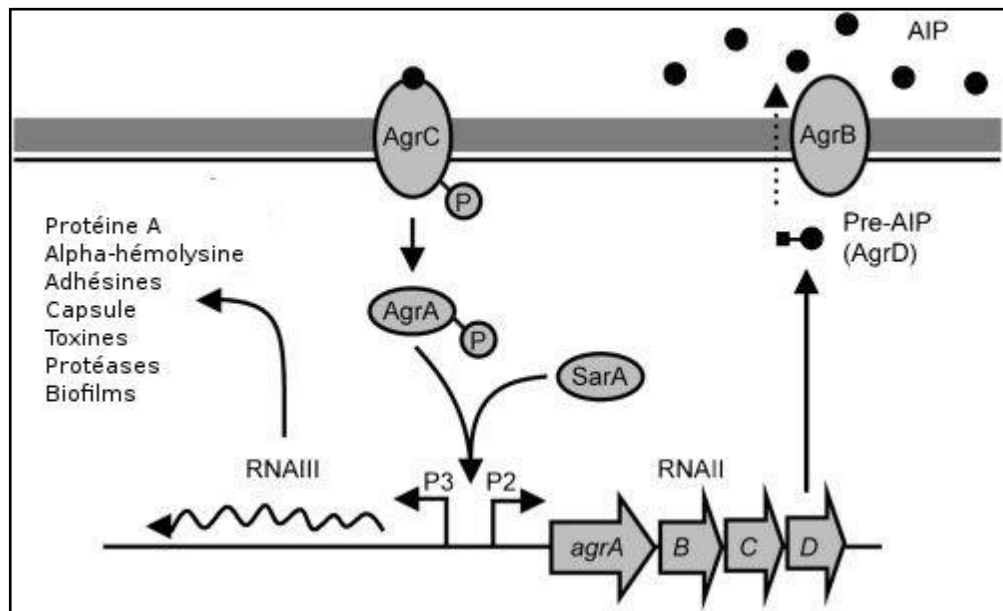


Figure 3.2 : Le système du quorum sensing [84].

### 3.7. Transmission

Avec plus de 30 % de porteurs sains, l'homme constitue le principal réservoir de *Staphylococcus aureus*. Le germe se transmet entre les personnes, principalement par contact direct, mais l'environnement peut aussi jouer un rôle [85,86]. Bien que *Staphylococcus aureus* ne soit pas particulièrement résistant dans le milieu extérieur, la transmission peut se faire par l'intermédiaire de nombreux objets ou poussières contaminés [87].

Ces modes de transmission sont responsables de la forte prévalence et de la propagation de *Staphylococcus aureus*, notamment des souches MRSA en milieu hospitalier, dans le monde [85]. Depuis une dizaine d'années, d'autres souches ont émergé et se transmettent en dehors du milieu hospitalier. Ces souches, dites communautaires, se propagent dans des milieux souvent associés à une forte concentration de personnes ou avec un défaut d'hygiène. Ainsi, des cas de propagation sont rapportés parmi des équipes sportives, dans des prisons, en milieu militaire ou, plus rarement, dans des écoles ou à l'intérieur d'un foyer [86, 85].

*Staphylococcus aureus* est également un agent de zoonose. En effet, il est établi que les *Staphylococcus aureus* responsables de mammites chez les bovins, de boiteries chez les volailles ou isolés à partir de porcs constituent des réservoirs qui peuvent éventuellement contaminer et infecter l'homme [88, 89].

### 3.8. Pouvoir pathogène naturel

#### 3.8.1. Types d'infections chez l'animal

##### 3.8.1.1. Staphylococcies cutanées, sous-cutanées et muqueuses

*S. aureus* peut être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes qui peuvent évoluer de façon isolée ou entraîner des septicémies. On distingue: le furoncle, la folliculite, l'abcès, l'anthrax, la pleurésie, la péritonite, l'ostéomyélite, la métrite, la cystite et les arthrites notamment chez les dindes, et les gallinacés (Figure 3. 3) [29].



Figure 3. 3 : Arthrite à *S.aureus* chez un coq reproducteur [90].

Chez les gallinacés, le pied gonflé (Bumble foot) (Figure 3.4) est un processus pyogranulomateux chronique, dans les tissus sous-cutanés du pied, aboutissant à des gonflements épais d'une ou plusieurs articulations [91].

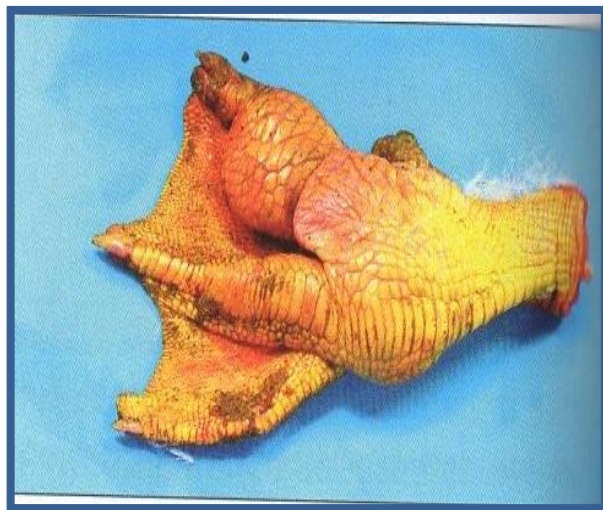


Figure 3. 4 : Bumble foot ou gros doigt chez un canard [90].

### 3.8.1.2. Septicémies

Elles peuvent être d'origine thrombo-emboliques et faire suite à une suppuration primaire ou résulter d'une contamination d'origine médicale (cathéter souillé par exemple), chez toutes les espèces animales.

Chez les agneaux, la pyémie à tiques résulte de l'inoculation par les morsures de tiques, de souches de *S. aureus* de la flore résidente de la peau, provoquant soit une toxémie mortelle, soit une maladie chronique avec formation d'abcès disséminés [92].

Chez le lapin domestique ou sauvage, la staphylococcie peut prendre une forme pyémique ou une forme cutané [91].

### 3.8.1.3. Les mammites

La mammite est une inflammation des glandes mammaires qui peut être due à une infection bactérienne qui affecte la qualité du lait ainsi que sa production. *S. aureus* est l'espèce bactérienne la plus communément impliquée dans les cas de mammites. Les SCN sont considérés comme des pathogènes opportunistes «mineurs» dans cette pathologie, cependant leur implication est en augmentation [93]. Les SCN les plus fréquemment isolés sont *S. simulans* (36%), *S. hyicus* (32%), *S. epidermidis* (23%) et *S. xylosus* (9%) [93]. Waage et al. [94] ont également isolé des SCN dans 13% des cas de mammites. Parmi les SCN, *S. simulans* était l'espèce majoritaire (54%) alors que *S. xylosus* était retrouvée dans 2,7% des cas. En 2003, Malinowski et al. [95] ont isolé *S. xylosus* dans 2,2% des cas d'infections mammaires bovines. *S. xylosus* a été observée comme espèce majoritaire dans le lait de chèvres atteintes de mammites [96], ainsi que dans le lait de vaches saines ou atteintes de mammites [97].

### 3.8.2.. Types d'infections chez l'homme

Les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et apparaissent sous des aspects cliniques très variés (Figure 3.5).

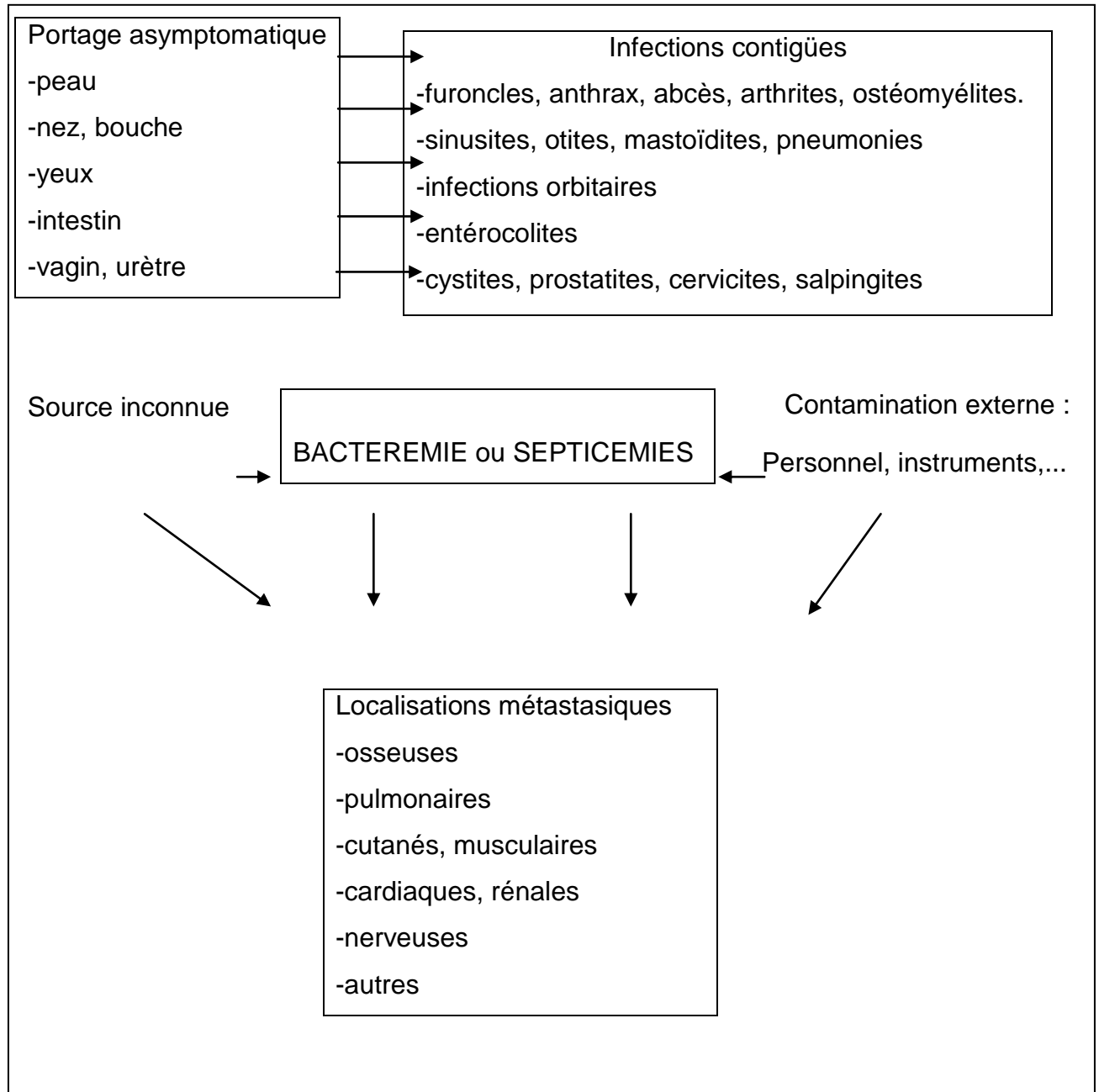


Figure 3.5 : les principales infections à *Staphylococcus aureus* chez l'homme [33].

### 3.9. Diagnostic de laboratoire

#### 3.9.1. Méthodes d'identification

##### 3.9.1.1. Méthodes phénotypiques

Les méthodes utilisées pour l'identification bactérienne sont fondées sur des caractéristiques phénotypiques ou génotypiques. Chez les staphylocoques, les méthodes phénotypiques reposent sur des tests de croissance ou sur des

caractéristiques biochimiques à l'aide de trousse d'identification conventionnelles ou commerciales [29].

Les Galeries d'identification sur critères biochimiques :

La détermination de l'espèce peut être réalisée à l'aide de galeries biochimiques d'identification miniaturisé. Ces systèmes utilisent des tests d'acidification ou d'assimilation des sucres et des tests enzymatiques.

#### 1-API STAPH

API Staph est un système standardisé, conçu dans les années 1980, permettant d'identifier 20 espèces et sous espèces de staphylocoques, et des espèces de *Micrococcus* [98].

#### 2- ID 32 STAPH

ID 32 Staph est un système standardisé permettant d'identifier 27 espèces et sous- espèces de staphylocoques, deux espèces de Microcoques et des espèces de *Kocuria* [98].

#### 3- Système VITEK 2 (bioMérieux)

Cartes ID-GPC : identification de vingt espèces ou sous espèces de staphylocoques.

#### 4- Système BD Phoenix (Becton Dickinson)

Galerias PMIC /ID 16 et PID : identification de 29 espèces ou sous espèces de staphylocoques.

### 3.9.1.2. Méthodes moléculaires

Les méthodes génotypiques, basées sur l'ADN, consistent à caractériser des traits particuliers de l'ADN chromosomique, plasmidique ou de l'ADN total de la souche à identifier. L'objectif est d'analyser des paramètres du génome et de détecter un polymorphisme de séquence d'ADN par des méthodes directes (séquençage) ou indirectes avec amplification (test PCR à l'aide d'amorces spécifiques) ou sans amplification d'ADN (hybridation).

Quelques études comparent l'efficacité des méthodes existantes (phénotypique et génotypique) et concluent généralement à une meilleure précision des méthodes d'identification moléculaire, quel que soit le ou les gènes ciblées [99].

## **CHAPITRE 4**

### **LES ANTIBIOTIQUES**

#### 4.1. Définition

Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par des micro-organismes, ayant une activité sur d'autres bactéries. Au sens large, on y inclut également les antibactériens de synthèse (produits par synthèse chimique). Leur importance est capitale dans la lutte contre les maladies infectieuses [100].

#### 4.2. Action des antibiotiques

Les progrès de la biologie cellulaire et moléculaire ont permis de préciser les voies d'actions de ces composés qui agissent sur les bactéries en interrompant une ou plusieurs voies de synthèse et /ou en déstabilisant les structures pariétales. A doses thérapeutiques ces perturbations entraînent une mort de la cellule bactérienne pour les antibiotiques bactéricides et un arrêt de la croissance pour ceux considérés comme bactériostatiques.

##### 4.2.1. L'effet bactériostatique

La bactériostase correspond à l'action d'une molécule antibiotique qui à dose thérapeutique est capable d'inhiber la croissance d'une population bactérienne sans perte de viabilité. Elle se mesure par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), plus petite concentration d'antibiotique capable d'inhiber la croissance visible de cette population [29].

##### 4.2.2. L'effet bactéricide

La bactéricidie correspond à l'action d'une molécule antibiotique qui à concentration thérapeutique est capable de provoquer la mort de la cellule bactérienne. Elle est mesurée par la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB), plus petite concentration d'antibiotique entraînant la destruction de 99,99 % d'un inoculum bactérien [29].



#### 4.3. Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire

Les antibiotiques peuvent être utilisés en médecine vétérinaire de quatre façons avec des objectifs différents [101]:

- \* usage thérapeutique : l'objectif majeur est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité.
- \* usage métaphylactique : lorsqu'une infection collective et contagieuse se déclare chez quelques animaux dans des élevages avec de grands effectifs, l'ensemble du groupe des animaux est traité. Cet usage permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes, ce qui permet un traitement collectif par voie orale. La métaphylaxie est généralement mise en oeuvre à partir d'un seuil d'atteinte des animaux au sein du lot de 10-15% de l'effectif.
- \* usage prophylactique : les antibiotiques peuvent parfois être administrés à des périodes critiques de la vie des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue. L'antibioprophylaxie est aussi utilisée lors d'opérations chirurgicales pour prévenir les infections bactériennes.
- \* facteurs de croissance : les antibiotiques peuvent être utilisés dans l'aliment à titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance et les performances des animaux, sans que les mécanismes à l'origine de l'amélioration de ces performances aient été clairement élucidés [102]. Cet usage a fait l'objet de nombreuses critiques et il est interdit au sein de l'Union Européenne depuis 2006 [103].

#### 4.4. Mécanismes d'action antibactérienne

L'activité antibactérienne des diverses substances antibiotiques est en relation avec leurs mécanismes d'action, généralement spécifique, sur les bactéries [104].

Les connaissances actuelles peuvent laisser dire que les antibiotiques sont essentiellement des inhibiteurs de diverses réactions de synthèse bactériennes.

On distingue :

- Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane (Bêta-lactamines);
- Les antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires (Polymyxine E ou colistine) ;

- Les antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques (Aminosides, Macrolides, Tétracyclines) ;
- Les antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques (quinolones) ;
- Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates (Sulfamides, Triméthoprime, associations TMP-Sulfamides) [105,106].

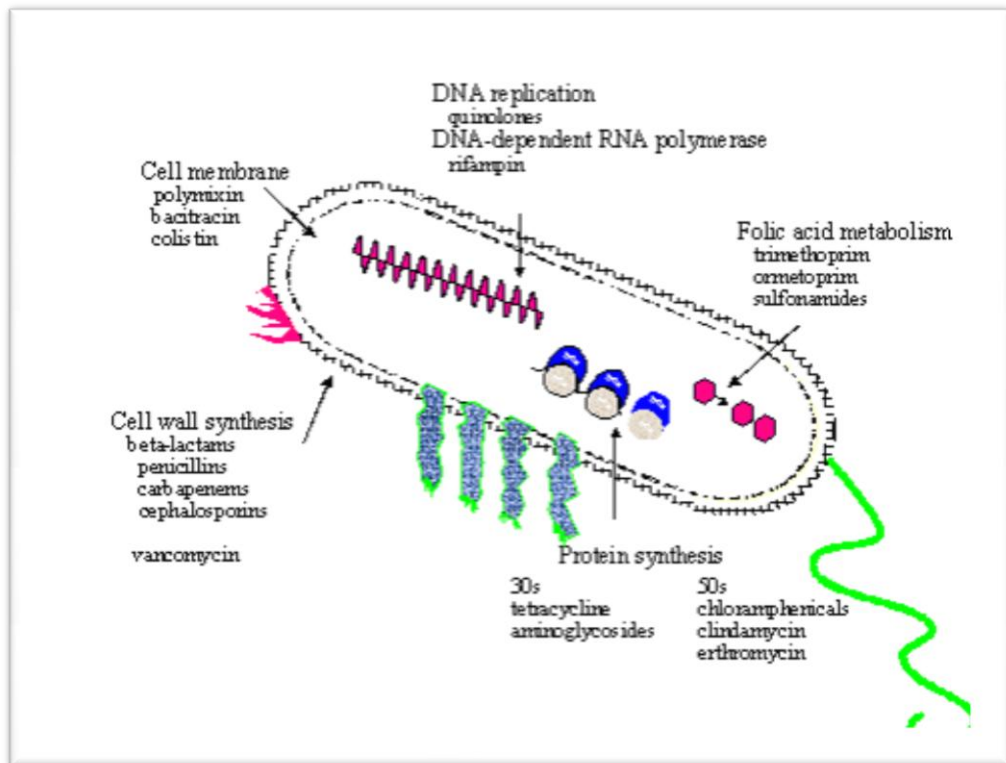


Figure 4.1 : principales cibles des ATB [107].

## 4.5. Mécanisme d'action des antistaphylococciques

### 4.5.1. Les inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane

- Les Bêta-lactamines

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 [108].

- Glycopeptides

Deux glycopeptides sont commercialisés, la vancomycine et la teicoplanine. Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane. Ils utilisent une caractéristique des précurseurs du peptidoglycane qui est de posséder un 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 [108,109].

#### 4.5.2. Les Inhibiteurs de la synthèse protéique

- Aminosides

Les aminosides inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien. Ils exercent une activité bactéricide rapide qui justifie leur association aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi (oxacilline et vancomycine) pour le traitement des infections graves [110,111].

- Les tétracyclines

La molécule traverse la membrane externe de la cellule bactérienne par diffusion passive pour être ensuite acheminée par un mécanisme de transport actif à travers la membrane cellulaire interne. Une fois à l'intérieur de la bactérie, les tétracyclines se lient de façon réversible à la sous-unité 30S ribosomale. L'effet bactériostatique des tétracyclines réside dans la réversibilité de cette liaison. Les tétracyclines inhibent la synthèse protéique en empêchant l'association de l'ARN aminoacyltransférase avec le ribosome au niveau du site accepteur du complexe ARNm-ribosome [112,113].

- Les Macrolides, Lincosamides et Streptogramines

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) appartiennent au même groupe du fait d'un mode d'action proche (inhibition de la synthèse protéique par fixation sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome bactérien) et d'une résistance fréquemment croisée entre ces antibiotiques [108].

#### 4.5.3. Les inhibiteurs des acides nucléiques

- Les quinolones

Les quinolones ont pour cible des enzymes essentielles à la survie bactérienne, les topoisomérases de type II incluant la gyrase (composée de deux sous unités, GyrA et GyrB) et la topoisomérase IV (composée de deux sous unités, ParC et ParE) [114]. Ces enzymes sont responsables du surenroulement de la molécule d'ADN (gyrase), nécessaire à son stockage sous forme compacte ou, inversement, au désenchevêtrement s'opérant lors de la traduction en ARNm (topoisomérase IV). La liaison des quinolones à leurs cibles entraîne l'arrêt de la réplication et de la transcription de l'ADN bactérien. Les fluoroquinolones sont rapidement bactéricides. *S. aureus* est naturellement résistant aux quinolones de première génération (acide nalidixique, acide oxolinique et fluméquine), mais sensible aux fluoroquinolones systémiques (ciprofloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine, ofloxacine et péfloxacine) ou urinaire (norfloxacine) [108].

#### 4.5.4. Les inhibiteurs de la synthèse des folates

- Sulfamides et triméthoprime

Les acides foliques sont impliqués dans la synthèse des acides nucléiques. En raison de leur activité anti-folique, les sulfamides et le triméthoprime interfèrent avec la synthèse des acides nucléiques et des protéines. L'association de ces deux molécules est synergique. Cette synergie est maintenue en cas de résistance isolée aux sulfamides, mais pas en cas de résistance isolée au triméthoprime [108].

## **CHAPITRE 5**

### **L'ANTIBIORESISTANCE**

#### 5.1. Définition

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 celles de la population normale [100].

#### 5.2. Différents types de la résistance

La résistance bactérienne est une propriété inconstante, et qui s'exprime différemment selon l'environnement de la bactérie et les facteurs de croissance qui s'y trouvent [115]. On distingue deux grands types de résistance :

##### 5.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque correspond à la capacité de résister à la présence d'un antibiotique pour toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien. La Société Française de Microbiologie (SFM) définit la résistance naturelle comme la caractéristique d'une espèce bactérienne qui se traduit par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la concentration critique supérieure des tests de sensibilité pour l'antibiotique concerné [29].

##### 5.2.2. Résistance acquise

On oppose à la résistance naturelle, propriété d'espèce ou de genre, la résistance acquise qui est une propriété de souche. Cette dernière correspond à

la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce [29].

Elle peut s'acquérir soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de matériel génétique exogène [104].

#### 5.2.2.1. Résistance par mutation chromosomique

Ce phénomène spontané est rare et n'explique qu'une faible partie des résistances rencontrées en clinique. L'antibiotique n'induit pas la mutation mais si celle-ci survient l'antibiotique favorise la souche résistante qui est alors sélectionnée. La diffusion de ce type de résistance est liée à la diffusion de la souche mutante.

Généralement, l'augmentation de résistance se fait progressivement, par paliers. Cependant, on peut rencontrer des cas où une seule mutation chromosomique aboutit à une élévation de résistance très importante ; par exemple, la CMI vis à vis de la streptomycine peut être multipliée par 1000 par une unique mutation chromosomique [116].

#### 5.2.2.2. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène

Ce type de résistance procède de l'acquisition de gènes de résistance par l'intermédiaire d'un plasmide ou de transposons à la faveur de 3 mécanismes d'échange possibles : conjugaison, transformation ou transposition. Généralement, on observe une augmentation brusque de résistance plutôt qu'une augmentation par paliers du niveau de résistance.

### 5.3. Transferts entre réservoirs de résistances

Il n'existe pas de barrière stricte entre l'Homme et les animaux d'élevage. Des échanges sont observés qui concernent d'une part les bactéries, et d'autre part les gènes, et notamment des gènes de résistance [117, 118]. L'extension de ces résistances est possible car les plasmides sont échangeables en totalité ou en partie avec d'autres bactéries de la même espèce, ou d'espèces différentes [117, 119]. Par conséquent le transfert concerne également le(s) gène(s) de résistance

porté(s) éventuellement par ce plasmide, qui vont conférer à des bactéries sensibles cette nouvelle propriété, ou accroître l'éventail des résistances de bactéries déjà résistantes à un ou plusieurs antibiotiques [117, 118].

#### 5.4. Mécanismes bactériens de la résistance

Les mécanismes de résistance sont variés, mais on peut les classer en trois catégories principales (Tableau 5.1) [100].

Tableau 5.1 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques [100].

Catégories	Mécanismes	Familles concernées
Inaccessibilité à la cible "blindage"	Système actif d'efflux hors de la cellule	Tétracyclines, macrolides, phénicolés, quinolones, bêta-lactamines
	Diminution de la perméabilité	Phénicolés, tétracyclines
Inactivation	Inactivation enzymatique de l'antibiotique	bêta-lactamases, estérases (macrolides), phosphorylases (aminosides, macrolides), acétyltransférases (chloramphénicol)
Esquive ou camouflage	Modification /protection de la cible (par mutation ou voie enzymatique) Court circuit de voie métabolique utilisée	Triméthoprim-sulfamides, tétracyclines, macrolides, bêta-lactamines, fluoroquinolones ...

#### 5.5. Résistance des staphylocoques

Les staphylocoques ont élaboré au cours du temps plusieurs mécanismes de défense pour lutter contre les antibiotiques qui sont utilisés pour les éradiquer [120].

##### 5.5.1. Mécanismes de résistance des Staphylocoques vis-à-vis les bêta-lactamines

Deux mécanismes principaux de résistance sont décrits, la production de pénicillinase et la modification de la cible des bêta-lactamines

### 1. Résistance à la pénicilline par production de pénicillinase

L'expression de la pénicillinase plasmidique est inductible par les bêta-lactamines et se traduit par une large dispersion des CMI de la pénicilline G et de l'amoxicilline.

L'interprétation de l'antibiogramme peut ainsi être difficile pour des CMI limites.

Par la méthode de diffusion en gélose, la détection de cette résistance se fait en utilisant un disque de pénicilline G charge à 6 µg [121].

### 2. Méricillino-résistance par modification de cible

Cette résistance est due chez *S. aureus* et chez les staphylocoques à coagulase négative à la production d'une PLP additionnelle, la PLP2a, qui se surajoute aux PLP normales de *S. aureus*. En présence de bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes), les PLP sont inhibées, sauf la PLP2a. Cette protéine est codée par le gène d'expression inductible *mecA*.

Ce gène est porté par un élément génétique mobile particulier, une cassette chromosomique appelée SCC*mec* insérée dans un locus spécifique.

L'expression de la résistance est variable en fonction des souches. Elle peut être homogène et dans ce cas, pour la souche considérée, la totalité de la population exprime la résistance à la méricilline. Elle peut être hétérogène, et dans ce cas seule une fraction de la population bactérienne va exprimer la résistance. Le niveau d'hétérogénéité varie. Certaines souches sont très hétérogènes avec seulement  $1/10^6$  bactéries exprimant la résistance. Cette résistance est donc très difficile à détecter alors que ces souches doivent impérativement être considérées comme résistantes. L'expression hétérogène de la résistance est aujourd'hui majoritaire chez les souches de *S. aureus* résistantes à la méricilline (SARM) [108].

### 3. Résistance « borderline »

Les souches « borderline » BORSA (borderline oxacillin resistant *S. aureus*) montrent une activité diminuée de l'oxacilline (ou une résistance de bas niveau) non due à la présence du gène *mecA*. Elles ont une CMI de l'oxacilline égale à 2



mg/L (sensible mais limite). Cette diminution de sensibilité est liée à l'hyperproduction de la pénicillinase touchant l'oxacilline, sans que l'on puisse la classer résistante [122].

#### 5.5.2. Mécanisme de souches de Staphylocoques de sensibilité diminuée aux glycopeptides

Ces souches ont une paroi épaissie résultant d'une réorganisation complexe du métabolisme du peptidoglycane liée probablement à des mutations dans de multiples gènes. Ces réorganisations pourraient empêcher l'accès de la vancomycine à sa cible. Une autre hypothèse non exclusive serait l'hyperproduction de précurseurs du peptidoglycane agissant comme autant de leurres pour les glycopeptides [123].

#### 5.5.3. Mécanisme de résistance des Staphylocoques aux aminosides

Les résistances aux aminosides sont surtout dues à la production par les staphylocoques d'enzymes modificatrices des aminosides appartenant à trois classes, acétyltransférases (AAC), nucléotidyltransférases (ANT) et phosphotransférases (APH) codées par des gènes acquis plasmidiques ou transposables. Chaque enzyme est dénommée en fonction de la molécule qu'elle modifie et reconnaît un certain nombre d'aminosides qu'elle modifie, ce qui se traduit par un phénotype de résistance. Quand l'aminoside modifié est bon substrat pour l'enzyme, le niveau de résistance conféré est élevé; quand l'aminoside est mauvais substrat, l'altération de son activité peut ne pas se traduire par une résistance mais par une perte de son activité bactéricide et de la synergie avec les bêta-lactamines [124]

#### 5.5.4. Mécanisme de résistance des Staphylocoques envers les tétracyclines

La résistance est souvent de type plasmidique et interfère avec le transport actif de la molécule de tétracycline à travers la membrane interne de la cellule. Il y a également des systèmes de pompes à efflux et de protéines cytoplasmiques de protection du ribosome qui sont présents [113].

#### 5.5.5. Mécanisme de résistance des Staphylocoques face aux macrolides, Lincosamides et Streptogramines

Ce mécanisme de résistance est le plus fréquent. Il est lié à la modification du ribosome due à la méthylation de l'adénine 2058 de l'ARN ribosomal 23S. Ce groupement méthyle empêche alors toute fixation de l'antibiotique sur sa cible. Cette base étant un site de fixation commun aux macrolides, lincosamides et streptogramines B, la résistance affectera ces trois groupes. Les gènes codant une méthylase sont nommés *erm* (erythromycin ribosome methylase) [125].

#### 5.5.6. Mécanismes de résistance des Staphylocoques face aux quinolones

Le principal mécanisme de résistance est dû à l'apparition de mutations ponctuelles dans la ou les cibles des quinolones (gyrase et topoisomérase IV) [114].

Ces mutations siègent le plus souvent dans une courte région conservée appelée QRDR (quinolone resistance determining region). Les quinolones n'arrivent alors plus à se fixer à leurs cibles [108].

#### 5.5.7. Mécanisme de résistance des Staphylocoques envers la combinaison triméthoprim/sulfaméthaxazole

La résistance aux sulfonamides chez les *S. aureus* est souvent le résultat d'une surproduction d'acide p-aminobenzoïque. Cette surproduction serait due à une mutation d'origine chromosomale sur le gène *sulA* [126]. La résistance au triméthoprim est quant à elle liée à la production de dihydrofolate réductase ayant une affinité réduite pour l'antibiotique et codée par les gènes *drfA* et *drfB*. Le gène *drfA* est situé sur le transposon *Tn4003* faisant partie d'un plasmide de grande taille [126].

# ETUDE EXPERIMENTALE

## Chapitre 6

### ETUDE EXPERIMENTALE

#### 6.1. Objectifs

Le portage nasal des Staphylocoques a été démontré comme un facteur prédisposant à la survenue d'infections notamment des infections à *Staphylococcus aureus*.

L'émergence de résistance dans la flore commensale des animaux a des conséquences potentielles en santé animale, et en santé humaine lorsque ces bactéries sont transmises à l'homme.

Dans ce contexte les objectifs de notre étude sont :

Dans une première étape faire une recherche du portage asymptomatique des staphylocoques à partir des cavités nasales du poulet de chair prélevés à l'abattoir Taboukert de Tizi Ouzou, et dans une seconde étape faire une étude de la sensibilité des souches isolées aux différentes familles d'antibiotiques.

#### 6.2. Matériels et méthodes

La présente étude a été conduite du mois de Juillet 2013 au mois de décembre 2013 et s'est déroulée en deux étapes :

##### 6.2.1. 1<sup>ère</sup> Etape : Sur le terrain

###### 6.2.1.1. L'échantillonnage

Notre échantillonnage a été réalisé au niveau de l'abattoir avicole de TABOUKERT qui a accepté volontairement de participer à l'étude.

Cet abattoir est une filiale d'un groupe avicole du centre. Elle est mise en exploitation en mars 1994 sous le nom d'ORAC (office régional avicole du centre). Il se situe à environ six (06) kilomètres du chef lieu de la Daïra de Tizi Rached, wilaya de Tizi Ouzou. D'une superficie de quatre (04) hectares environ et

a pour principale activité l'abattage des poulets de chair avec capacité de production de 7 350 Tonnes de Poulet/an.

D'autre part il existe au sein de cette unité d'autres activités non de moindre importance telle que la transformation des viandes et dérivés (le cachir, le pâté...etc.).

#### 6.2.1.2. Prélèvements

Nous avons effectué nos prélèvements au cours de plusieurs visites, et cela pour toucher différents lots d'abattage de poulet de chair provenant d'élevages différents (sachant que l'âge moyen d'abattage est entre 45 et 60 jours).

Les prélèvements de têtes sont effectués sur des poulet tiré au hasard.

Au total, au cours des différentes visites nous avons effectué 307 prélèvements de tête de poulet de chair.

A l'abattoir tous les prélèvements ont été effectués par le même opérateur (figure 6.1).

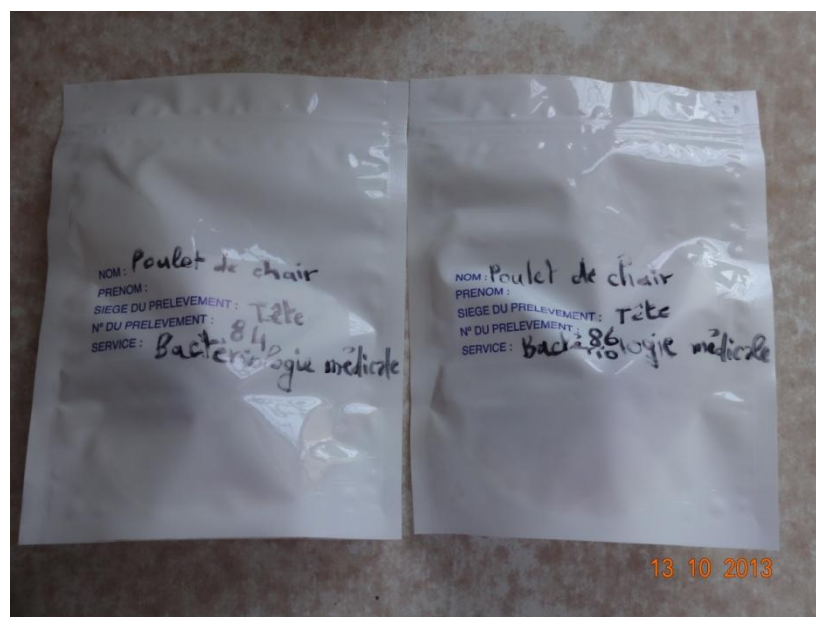


Figure 6.1 : Prélèvements de tête de poulet de chair dans des sachets stériles  
[Photo personnelle].

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignements.

#### 6.2.1.3. Transport et conservation des prélèvements

Une fois prélevés, les échantillons sont placés dans une glacière à une température voisine à +4 °C, puis acheminés au laboratoire, arrivés au laboratoire, l'analyse bactériologique est entamée le jour même.

#### 6.2.2. 2<sup>ème</sup> Etape : Au laboratoire

Après la réalisation des prélèvements, les différentes étapes de l'étude bactériologique ont été réalisées au niveau du service Bactériologie du Laboratoire Vétérinaire Régional de Draa-Ben-Khedda.

Le laboratoire de bactériologie est équipé de tout le matériel nécessaire pour la réalisation des différentes étapes d'étude bactériologique de l'identification à l'antibiogramme.

##### 6.2.2.1. Prélèvements nasaux

L'écouvillonnage nasal a été fait le jour même du prélèvement au niveau du laboratoire.

L'écouvillonnage nasal a été réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile. Le même écouvillon a été utilisé pour les narines droite et gauche. Le prélèvement a été effectué en enfonçant l'écouvillon dans la narine et en faisant des mouvements en vrilles dans la narine au moins 3 fois (figure 6. 2).

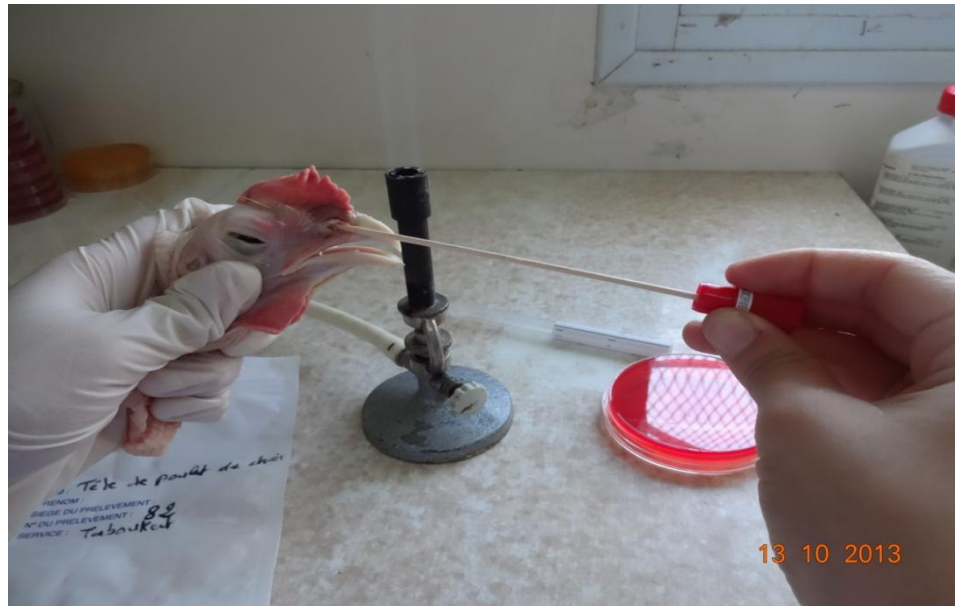


Figure 6.2 : Ecouvillonnage nasal du poulet de chair [Photo personnelle].

#### 6.2.2.2. Méthode d'analyse bactériologique pour la recherche des Staphylocoques

Les échantillons sont soumis à la méthode classique (utilisée couramment au laboratoire).

##### 6.2.2.2.1 Ensemencement

Les écouvillons nasaux sont ensemencés directement sur milieu Chapman. C'est un milieu hypersalé à 7,5% de NaCl et 1% de mannitol et contenant du rouge de phénol (indicateur de pH), il permet principalement la croissance des espèces du genre *Staphylococcus* au détriment des autres bactéries contenues dans un produit pathologique.

##### Incubation

Les boîtes de pétri sont mises à incuber 24 à 48 heures à 37 °C.

##### 6.2.2.2.2 Purification

Après la période d'incubation, les colonies sont ensemencées, sur le milieu adéquat (milieu de Chapman), selon leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques, celles qui présentent un aspect caractéristique à celui des

staphylocoques sont réisolées à l'aide d'une pipette Pasteur, et sont ensemencées en stries selon la méthode des quatre cadrants de telle manière à obtenir des colonies bien isolées en culture pure.

#### 6.2.2.2.3. Identification

L'identification est basée sur des caractères morphologiques et biochimiques par les méthodes conventionnelles et de galeries standardisées.

##### 6.2.2.2.3.1. Examen macroscopique des colonies

Sur le milieu de Chapman (milieu sélectif), les colonies de staphylocoques sont de taille variable (1 à 3 mm) circulaires, opaques, légèrement bombées ou aplaties. La pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune au jaune orangé.

##### 6.2.2.2.3.2. Examen bactérioscopique

###### La coloration de Gram

Une goutte prélevée à partir d'une suspension bactérienne (une colonie prélevée à partir d'une culture pure dans quelques gouttes d'eau distillée stérile) est mise sur lame, séchée puis colorée à l'aide de la coloration de Gram. Cette dernière permet de classer les bactéries après observation au microscope sous l'objectif à immersion (grossissement 10X100), suivant leur affinité pour les colorants (violets de gentiane et fuchsine) en :

- Bactéries Gram positif : qui résistent à la décoloration par l'alcool acétone (5%) et gardent une coloration violette.
- Bactéries Gram négatif : qui sont décolorées par l'alcool acétone (5%) et présentent une teinte rose sous l'effet de la fuchsine.

Elle permet aussi de classer les bactéries en fonction de leur morphologie en :

- Coques ou cocci.
- Bacilles.
- Coccobacilles.



La coloration de Gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur milieu de Chapman, pour confirmer la présence de cocci Gram + en diplocoques et en grappes de raisin.

#### 6.2.2.2.3.3. Etude biochimique

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de caractères biochimiques spécifiques aux staphylocoques.

##### 1. Recherche de la catalase

La catalase est une oxydoréductase qui intervient, chez les procaryotes, dans les mécanismes de résistances à la bactéricidie par le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Le test classique de la catalase consiste à déposer quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène à 3% (10volumes) sur des colonies (de préférence après 18 à 24 heures d'incubation) ou sur un frottis bactérien sur lame.

La formation immédiate de bulles d'oxygène témoigne de la présence d'une catalase.

##### 2. Recherche de la désoxyribonucléase (DNase)

La DNase est une enzyme qui dégrade l'ADN. Elle est principalement recherchée pour *S. aureus*.

##### Réalisation

On ensemence la souche à étudier en strie épaisse sur la gélose ADN en partant d'un bouillon de 24 heures ou d'une colonie isolée ; après 18 heures d'incubation à 37° C, la gélose est inondée avec une solution d'acide chlorhydrique 1M. Si un halo clair apparaît autour de la strie au bout de 5 à 10 minutes, la recherche est positive.

##### 3. Recherche de la coagulase libre

L'activité de la coagulase de *Staphylococcus aureus* sur le plasma de lapin a été prise comme un critère principal pour différencier les espèces de genre

*Staphylococcus* à coagulase positif des autres espèces du genre *Saphylococcus* à coagulase négatif (SCN).

#### Mode opératoire

##### a) Préparation du plasma

-Prélever exactement 10 ml de solvant (oxalate de sodium) à l'aide d'une pipette stérile.

-Additionner stérilement ces 10 ml de solvant directement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé (BIO-RAD).

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

##### b) Préparation de l'échantillon

- A partir d'une culture de la souche à étudier, réaliser une subculture en bouillon cœur cerveau (BHIB) ou en bouillon nutritif ordinaire. Incuber la culture 18 heures à 37°C.

-Mélanger dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma reconstitué et 0,5 ml de la culture. Incuber le mélange à 37°C pendant 24 heures.

##### c) Résultats attendus

Les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 24 heures. La prise en masse du plasma est généralement totale, au point que le tube peut être retourné. Un caillot moins compact visible avant la 24<sup>ème</sup> heure doit être considéré comme positif.

#### Contrôle qualité du test

La souche de contrôle est l'espèce: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### 4. Confirmation à l'aide de la galerie API Staph (bioMérieux)

API Staph est un système standardisé permettant l'identification de 23 espèces bactériennes appartenant aux genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données [127].

## Principe

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés (Figure 6.3).

Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans l'API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

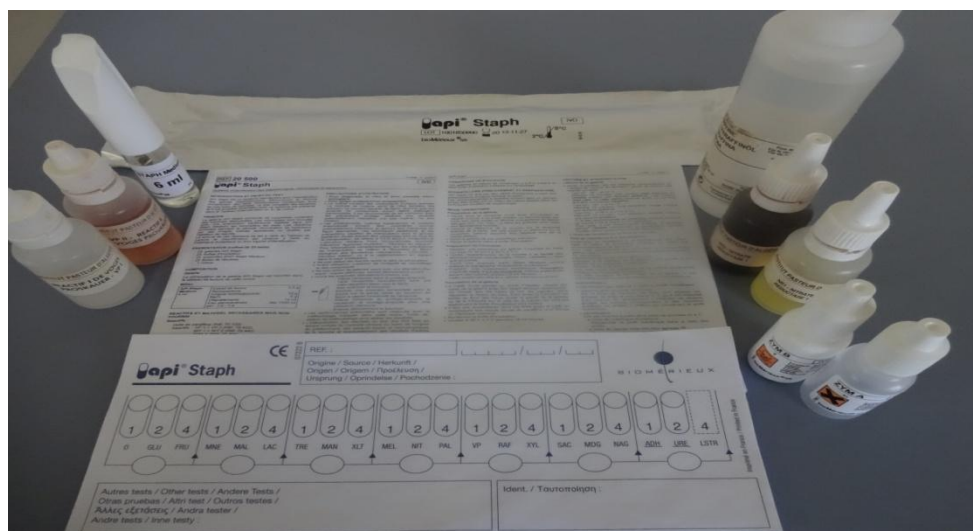


Figure 6.3 : Galerie Api Staph et réactifs [Photo personnelle].

## Echantillons (prélèvements et préparation)

La galerie API Staph ne doit pas être utilisée directement à partir des produits d'origine clinique ou autre.

Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

## Mode opératoire

### Préparation de la galerie

-Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée ou toute autre eau sans additif ou dérivées susceptibles de libérer des gaz (CO<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub>...) dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

#### Préparation de l'inoculum

- Réaliser une préculture sur gélose au sang pendant 24 heures à  $36 \pm 2$  °C.

- Ouvrir une ampoule API Staph Medium.
- Préparer une suspension bactérienne homogène d'opacité égale à 0,5 de McFarland avec les cultures jeunes (18-24heures).

Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

#### Inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile remplir les tubes de la galerie API Staph Mediumensemencé.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et Urée en complétant les cupules avec l'huile de paraffine.

Refermer la boite d'incubation

- Incuber à  $36 \pm 2$  °C pendant 18-24 heures.

#### Lecture et interprétation de la galerie

Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant une goutte de chacun des réactifs suivants :

- Réaction de Voges Proskauer : VP 1 et VP 2
- recherche d'une nitrate réductase : NIT 1 et NIT 2
- recherche d'une phosphatase alcaline : ZYM A et ZYM B

Attendre 10 minutes pour la lecture :

Pour la réaction de Voges Proskauer, une coloration violette ou rose franche indique une réaction positive et une coloration rose pale ou incolore indique une réaction négative.

Pour la nitrate réductase une réaction rouge indique une réaction positive.

Pour la phosphatase alcaline une coloration violette indique une réaction positive.

L'interprétation est obtenue à partir du profil numérique à 7 chiffres et l'identification se fait à l'aide du logiciel d'identification.

#### 6.2.2.2.4. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

La pratique de l'antibiogramme est indispensable à la surveillance épidémiologique de la sensibilité des bactéries pathogènes [128].

La méthode utilisée est celle de la diffusion de l'antibiotique sur gélose à partir de disques d'antibiotiques selon les normes NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) et recommandée par l'OMS [129].

##### Technique

##### Milieu

- Gélose Mueller Hinton, coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm.
- Les géloses sont séchées avant l'emploi

##### Inoculum

- A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine 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 être équivalente à 0,5 Mc Farland (figure 6.4) ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625nm.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.



Figure 6.4 : Mesure de D.O. à laide d'un densitomètre [Photo personnelle].

## Ensemencement

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

L'ensemencement se fait en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées (Figure 6.5). L'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. A la fin de l'ensemencement, l'écouvillon est passé sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.



Figure 6.5 : Ensemencement de la culture bactérienne à l'aide d'un écouvillon stérile [Photo personnelle].

### Application des disques d'antibiotiques

6 disques d'antibiotiques sont déposés par boîte de pétri de 90 mm de diamètre, espacés de 24 mm centre à centre. Après l'application, chaque disque d'antibiotique est pressé à l'aide d'une pince pour s'assurer de son application. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé (figure 6.6).

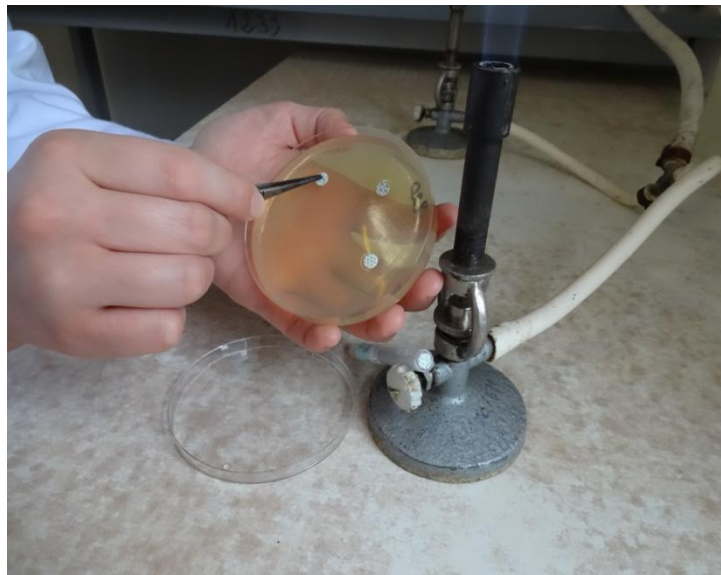


Figure 6.6 : Application des disques d'antibiotiques sur le milieu Müller Hinton  
[Photo personnelle].

### Incubation

- 18 heures à 35°C.
- La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

### Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture (appendice B).
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

NB : Souches de contrôle de qualité : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tableau 6.1 : Liste des antibiotiques testés

Antibiotiques testés	Charge des disques
B-Lactamines :	
Pénicilline	10UI
Oxacilline	1 µg
Céfoxitine	30 µg
Amoxicilline+acide clavulanique	20/10 µg
Pénicilline + Novobiocine	10UI/30 µg
Aminosides :	
Gentamycine	10 µg
Néomycine	30 µg
Macrolides :	
Erythromycine	15 µg
Quinolones :	
Enrofloxacin	5 µg
Tétracyclines :	
Tétracycline	30 µg
Lincosamides :	
Clindamycine	2 µg
Sulfamides :	
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg
Glycopeptides :	
Vancomycine	30 µg



## Recherche de la résistance de *Staphylococcus sp.* à l'oxacilline

### Test de diffusion du disque de céfoxitine (30µg)

#### Technique

La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl pénicillines (oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30µg) dans les conditions standards.

#### Lecture

La lecture du diamètre d'inhibition doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse.

Pour *Staphylococcus aureus* :

- Si le diamètre de la céfoxitine est  $\leq 19$ mm, la souche est dite résistante à l'oxacilline.
- Si le diamètre de la céfoxitine est  $\geq 20$ mm, la souche est dite sensible à l'oxacilline.

Devant tout problème d'interprétation, faire un test de confirmation par la technique du screening à l'oxacilline (Test MRSA).

Pour *Staphylococcus* coagulase négative :

- Si le diamètre de la céfoxitine est  $\leq 24$ mm, la souche est dite résistante à l'oxacilline.

Devant tout problème d'interprétation faire une détermination de la CMI à l'oxacilline.

### 6.3. Analyse statistique des résultats

Les résultats d'analyse bactériologique ont été saisis et analysés avec le logiciel WHONET 5.6, puis transféré vers l'Excel pour la confection des graphiques.

## 6.4. Résultats

### 6.4.1. Cultures des prélèvements

Sur 307 prélèvements analysés, 133 se sont révélés positifs (développement bactérien), soit un taux de 43,32 %, alors que 56,68% sont négatifs.

Nous avons considéré comme « positif » les prélèvements qui après culture sur milieu CHAPMAN montrent un développement des colonies qui présentent les caractéristiques macroscopiques caractéristiques des staphylocoques.

Le résultat des cultures des prélèvements est présenté dans le tableau 6.2.

Tableau 6.2 : Répartition des prélèvements selon leur culture

Culture	Nombre	Pourcentage
Positive	133	43,32%
Négative	174	56,68%
Total	307	100%

### 6.4.2. Isolement et identification

#### Aspect des colonies

Après incubation de 24 – 48 h à 37 °C, Sur gélose de Chapman, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté (figure 6.7), sinon les colonies sont de couleur blanche. Ces colonies sont arrondies, lisses, opaques, à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre.

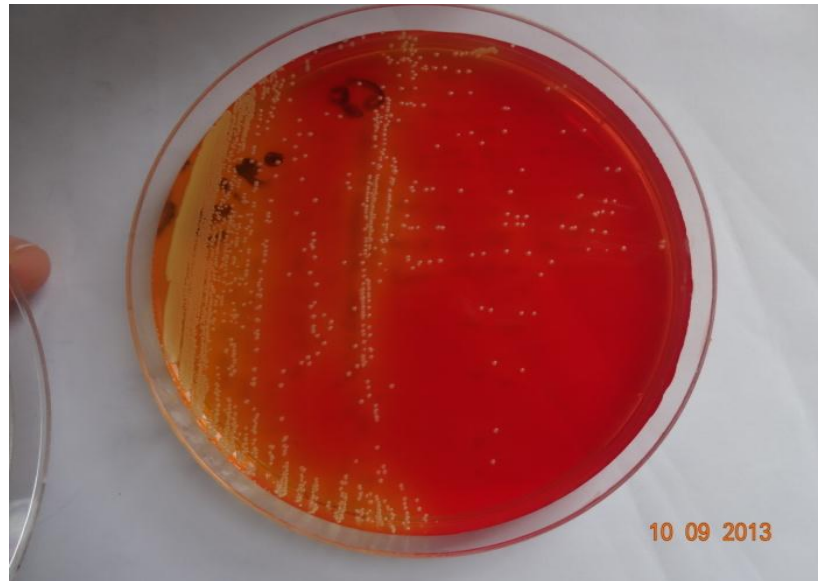


Figure 6.7 : Aspect macroscopique des colonies de *Staphylococcus aureus* sur gélose CHAPMAN [Photo personnelle].

### Bactérioscopie

La coloration de Gram a mis en évidence des cocci Gram positif isolés ou en diplocoques, en courtes chaînettes ou le plus souvent regroupés « en grappe de raisin » (figure 6.8).

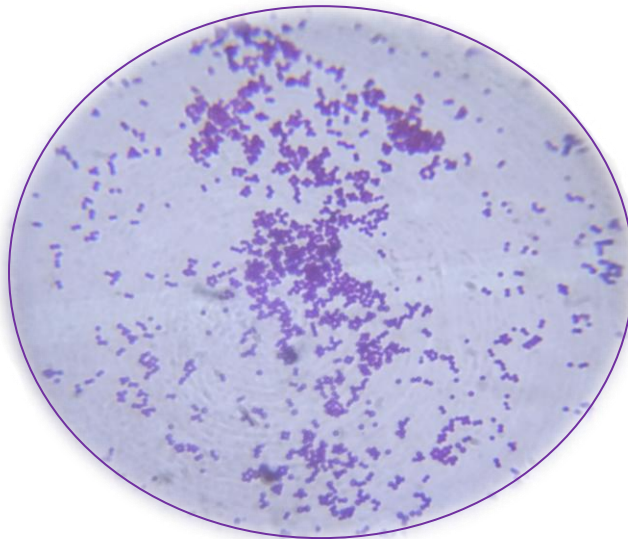


Figure 6.8: Vue au microscope photonique des Staphylocoques après coloration de Gram (grossissement 10x100) [Photo personnelle].

### Catalase

Une réaction positive se traduit par un dégagement de bulles d'oxygène, la bactérie possède l'enzyme appelée catalase, elle est donc catalase positive (figure 6.9).



Figure 6.9 : *Staphylococcus* catalase positive [Photo personnelle].

### DNase

La lecture se fait sur un fond noir après ajout HCl. Lorsque l'ADN est hydrolysé, un halo clair est visible au pourtour de la strie, le reste de la boîte reste opaque : la souche est dite DNase positive (figure 6.10).

L'absence de zone claire autour de la strie : la souche est dite DNase négative.

Les souches de *Staphylococcus aureus* sont DNase positives.

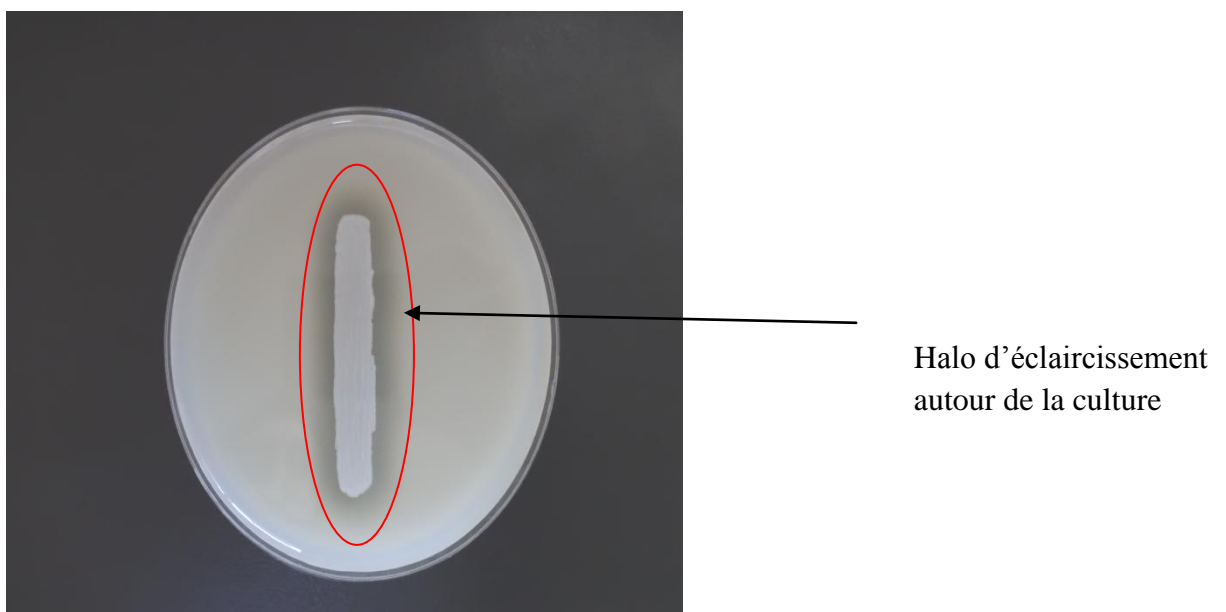


Figure 6.10 : Dnase positive chez *Staphylococcus aureus* [Photo personnelle].

## Coagulase

Les souches de *S. aureus* provoquent la coagulation du plasma de lapin (figure 6.11) .Les souches sont dites coagulase positives.



Figure 6.11: *Staphylococcus aureus* coagulase positive [Photo personnelle].

## Galerie Api Staph

Les staphylocoques fermentent plusieurs sucres, sur la figure 6.12, l'utilisation des sucres se traduit par le virement de couleur rouge vers le jaune. Le virage de couleur du rose pâle vers le rouge indique la réduction des Nitrates en nitrites et le virage du jaune vers rouge violet désigne la présence d'Arginine Dihydrolase(ADH) et de l'Uréase(URE). Pour la production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer) par *S.aureus* se traduit par couleur violet-rose.

L'identification est faite à l'aide de logiciel d'identification Apiweb, en entrant manuellement le profil à 7 chiffre.



Figure 6.12 : Galerie Api staph après incubation 24 h à 35C° et après ajout des réactifs [Photo personnelle].

L'étude bactériologique nous a permis d'isoler 133 souches qui se sont avérées des cocci à Gram positif, immobiles, aéro-anaérobies facultatives possédant une catalase, dont 76 souches ont une coagulase et une DNase; ce qui a permis de les assigner à l'espèce *Staphylococcus aureus*, tandis que 57 souches sont dépourvues de coagulase, sont identifiées par plaque Api staph en espèce *Staphylococcus xylosus*.

Cette identification a révélé une prédominance de l'espèce *Staphylococcus aureus*, avec un pourcentage de 57%, par rapport aux staphylocoques à coagulase négative qui représentent 43% du total des souches isolées, (figure 6.13).

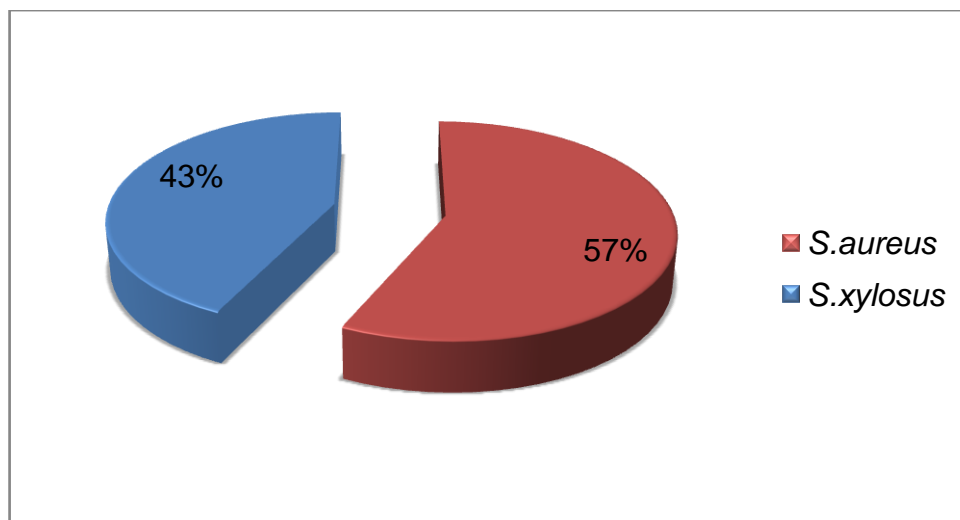


Figure 6.13 : Pourcentage de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus xylosus* isolées à partir des cavités nasales du poulet de chair.

#### 6.4.3. Fréquence de portage nasal asymptotique des Staphylocoques

Nous avons isolé 76 souches de *Staphylococcus aureus*, soit un taux de portage de 24,75% sur la totalité des prélèvements examinés, ainsi que 57 souches de *Staphylococcus xylosus*, soit un taux de portage de 18,5% sur la totalité des prélèvements examinés.

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 6.14).

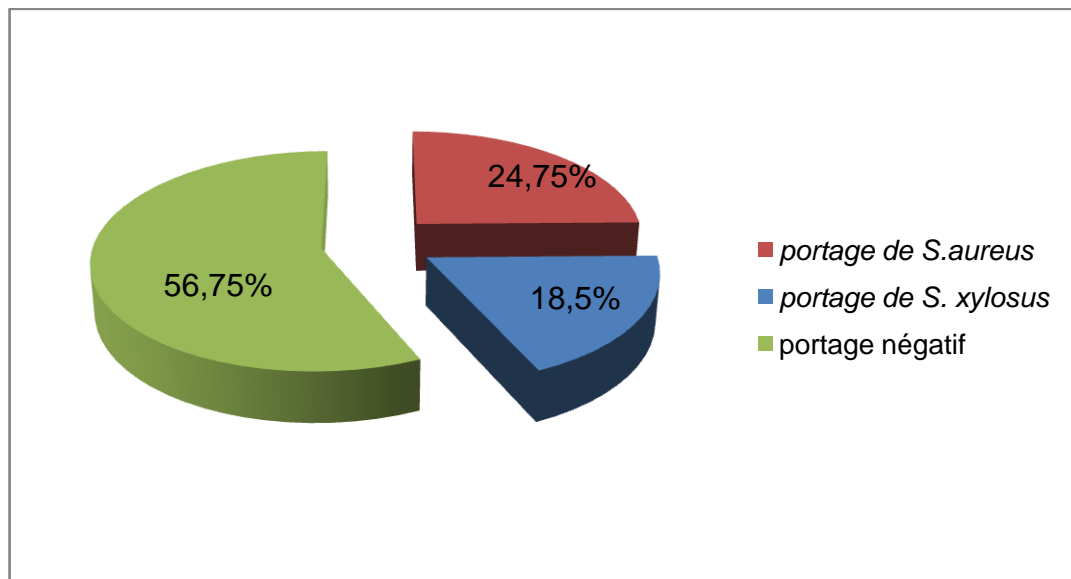


Figure 6.14: Fréquence de portage nasal asymptotique des staphylocoques.

#### 6.4.4. Antibiogramme

Treize antibiotiques sont testés sur chacune des 76 souches de *Staphylococcus aureus* et 57 souches de *Staphylococcus xylosus* selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique en gélose à partir de disques imprégnés d'antibiotiques selon les recommandations du NCCLS (figures 6.15, 6.16).

Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition des souches avec ceux des valeurs critiques figurant dans la table de lecture (annexe)

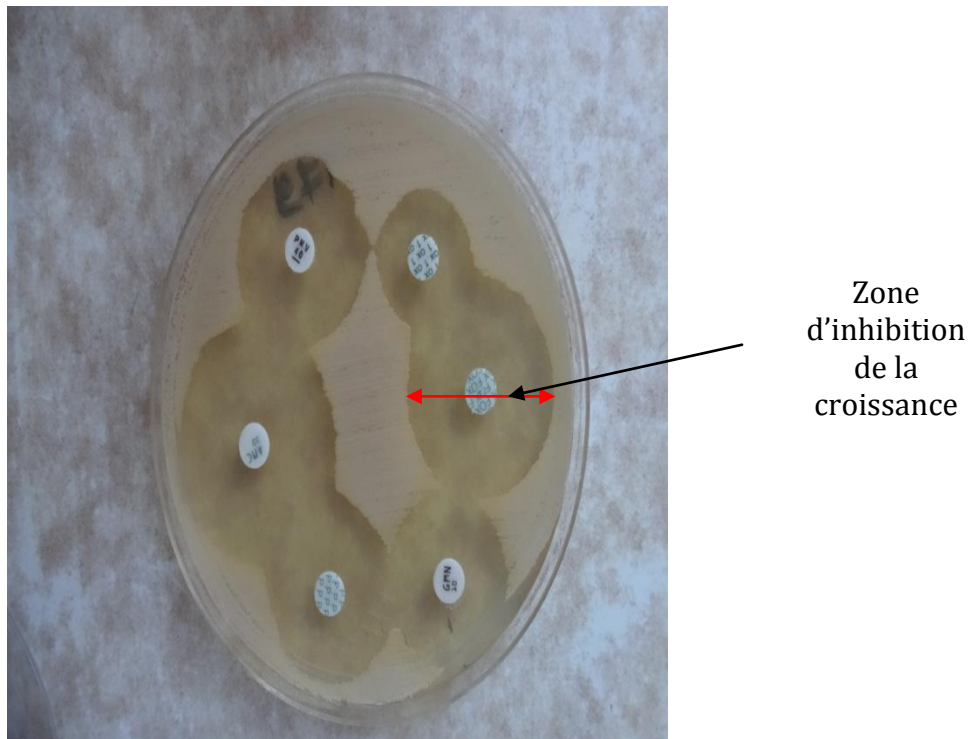


Figure 6.15: Antibiogramme après incubation 18h à 35C°, souche sensible à tous les antibiotiques testés, présence de zone d'inhibition [Photo personnelle].



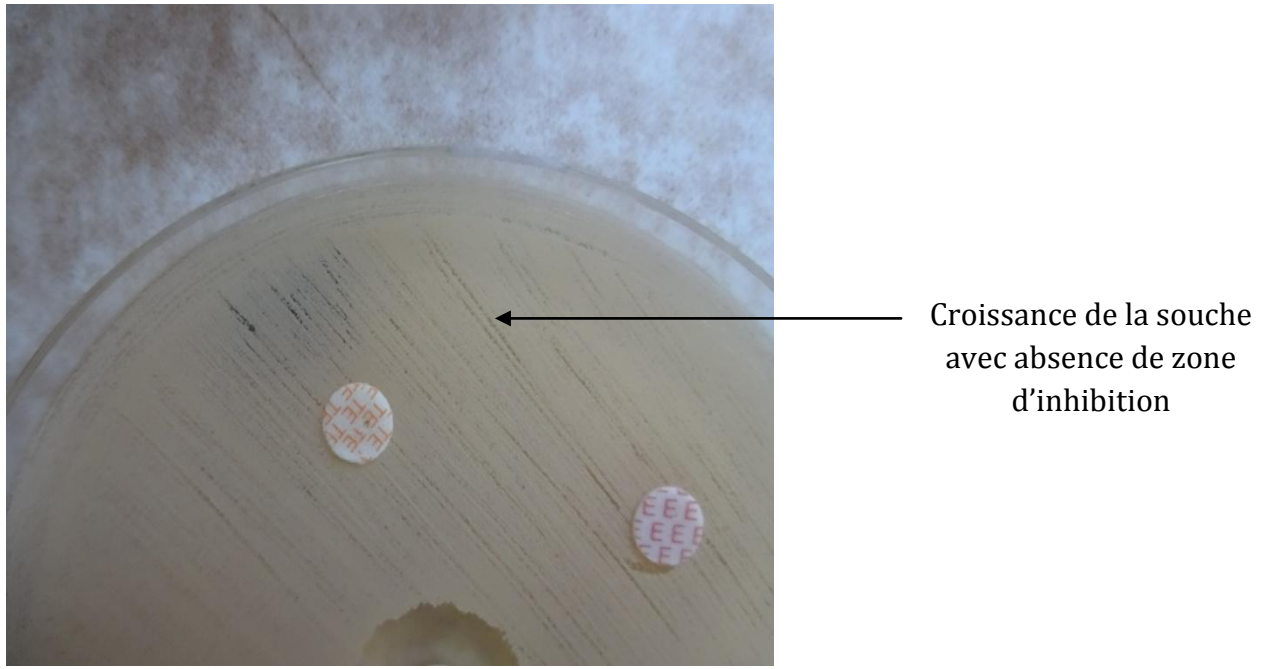


Figure 6.16 : Antibiogramme après incubation 18h à 35C°, souche résistante à la tétracycline et érythromycine, absence de zone d'inhibition [Photo personnelle].

#### 6.4.4.1. Antibiogramme des souches isolées

Le tableau 6.3 montre les résultats des pourcentages de sensibilités et résistances des souches de *Staphylococcus aureus* isolées lors de notre étude :

Tableau 6.3 : Répartition des souches de *Staphylococcus aureus* selon leur sensibilité et résistance aux ATB

Antibiotiques	Nbre de souches résistances	P (%)	Nbre de souches intermédiaires	P (%)	Nbre de souches sensibles	P (%)
Pénicilline	27	35,5	0	0	49	64,5
Pénicilline +Novobiocine	0	0	0	0	76	100
Amoxicilline +Acide clavulanique	0	0	0	0	76	100
Oxacilline	0	0	14	18,4	62	81,6
Céfoxitine	0	0	0	0	76	100
Erythromycine	70	92,1	2	2,6	4	5,3
Néomycine	19	25	6	7,9	51	67,1
Gentamicine	0	0	0	0	76	100
Enrofloxacin	53	69,7	12	15,8	11	14,5
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	25	32,9	7	9,2	44	57,9
Tétracyclines	62	81,6	5	6,6	9	11,8
Vancomycine	0	0	0	0	76	100
Clindamycine	52	68,4	12	15,8	12	15,8

Nous constatons dans le tableau 6.3 que les souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à l'érythromycine (92,1%), tétracycline (81,6%), enrofloxacin (69,7%), clindamycine (68,4%), pénicilline (35,5%), triméthoprime +sulfaméthoxazole (32,9%) et néomycine (25%), alors que 100% des souches sont sensibles à la pénicilline +novobiocine, amoxicilline+acide clavulanique, céfoxitine, gentamicine et vancomycine.

Le tableau 6.4 montre les résultats des pourcentages de sensibilités et résistances des souches de *Staphylococcus xylosus* isolées lors de notre étude :

Tableau 6.4 : Répartition des souches de *Staphylococcus xylosus* selon leur sensibilité et résistance aux ATB

Antibiotiques	Nbre de souches résistances	P(%)	Nbre de souches intermédiaires	P (%)	Nbre de souches sensibles	P (%)
Pénicilline	27	47,3	0	0	30	52,7
Pénicilline +Novobiocine	0	0	2	3,5	55	96,5
Amoxicilline +Acide clavulanique	0	0	0	0	57	100
Oxacilline	1	1,75	2	3,5	54	94,75
Céfoxitine	0	0	0	0	57	100
Erythromycine	52	91,2	0	0	5	8,8
Néomycine	0	0	22	38,6	35	61,4
Gentamicine	0	0	0	0	57	100
Enrofloxacin	50	87,7	4	7	3	5,3
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	3	5,3	4	7	50	87,7
Tétracyclines	47	82,45	1	1,75	9	15,8
Vancomycine	0	0	0	0	57	100
Clindamycine	23	40,3	5	8,8	29	50,9

Nous constatons dans le tableau 6.4 que les souches de *Staphylococcus xylosus* sont résistantes à l'érythromycine (91,2%), enrofloxacin (87,7%), tétracycline

(82,45%), pénicilline (47,3%), clindamycine (40,3%), triméthoprim +sulfaméthoxazole (5,3%) et oxacilline (1,75%), alors que 100% des souches sont sensibles à l'amoxicilline+acide clavulanique, céfoxitine, gentamicine et vancomycine.

Ces résultats d'antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus xylosus* sont regroupés et représentés sous forme d'histogrammes.

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

Les résultats mettent en évidence 27 souches de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline, soit un taux de résistance de 35,5%.

On a noté également 27 souches de *Staphylococcus xylosus* résistante à la pénicilline, mais le taux de résistance est plus élevé que *S. aureus* avec une fréquence de 47,3% (figure 6.17).

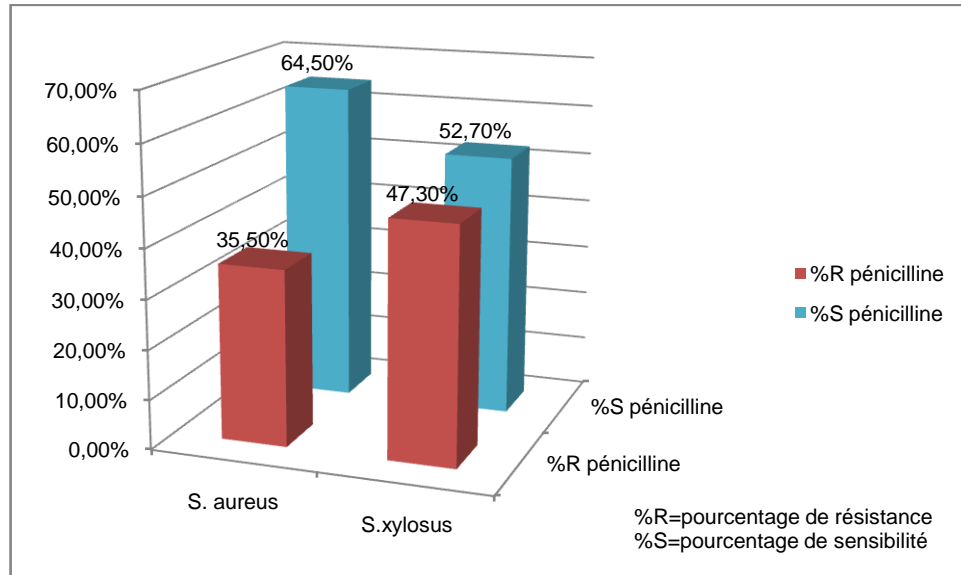


Figure 6.17 : représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à la Pénicilline.

Pour Pénicilline+Novobiocine, Amoxicilline+Acide clavulanique et Céfoxitine aucune souche de *Staphylococcus aureus* ni de *Staphylococcus xylosus* n'a présenté de résistance vis à vis ses antibiotiques (figure 6.18).

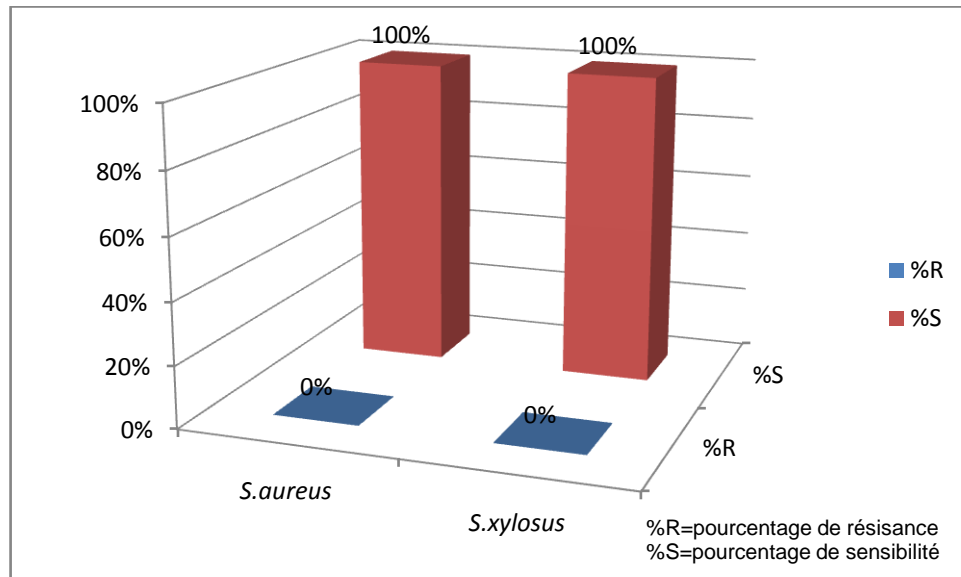


Figure 6.18 : représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à l'Amoxicilline+Acide clavulanique et Céfoxitine.

Pour l'oxacilline on a noté que :

Aucune souche de *Staphylococcus aureus* n'a montré de résistance à l'oxacilline.

Une souche de *Staphylococcus xylosus* est résistante à l'oxacilline avec un taux de 1,75 % (Figure 6.19).

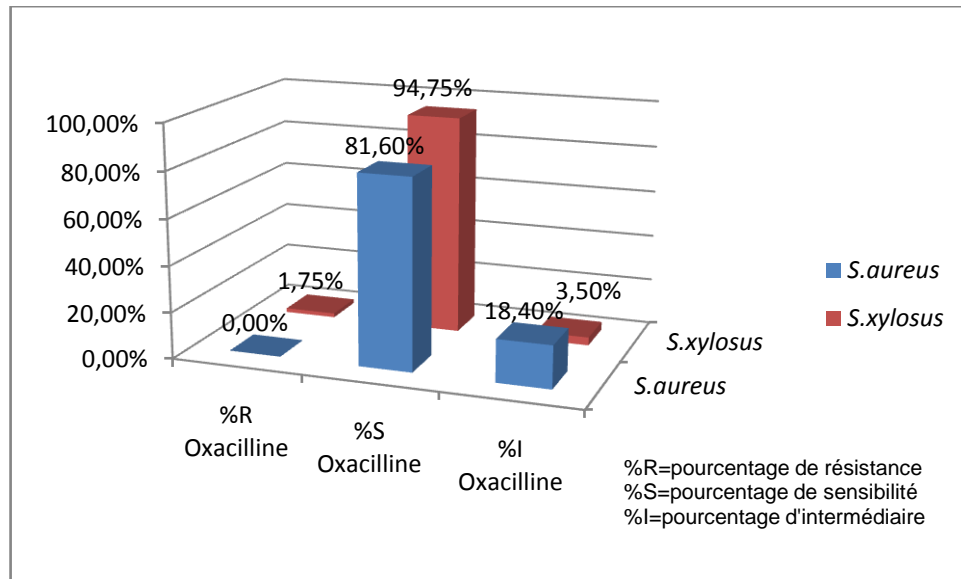


Figure 6.19: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à l'oxacilline.

#### 6.4.4.1.2. Les aminosides

La sensibilité des souches isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de deux molécules de cette famille d'antibiotiques, que sont la néomycine (Figure 6.20) et la gentamicine.

L'étude des 76 souches de *Staphylococcus aureus* isolées de poulet de chair détermine un taux de résistance à la néomycine de 25%.

Les 57 souches de *Staphylococcus xylosus* ont montré un taux nul de résistance à cet antibiotique.

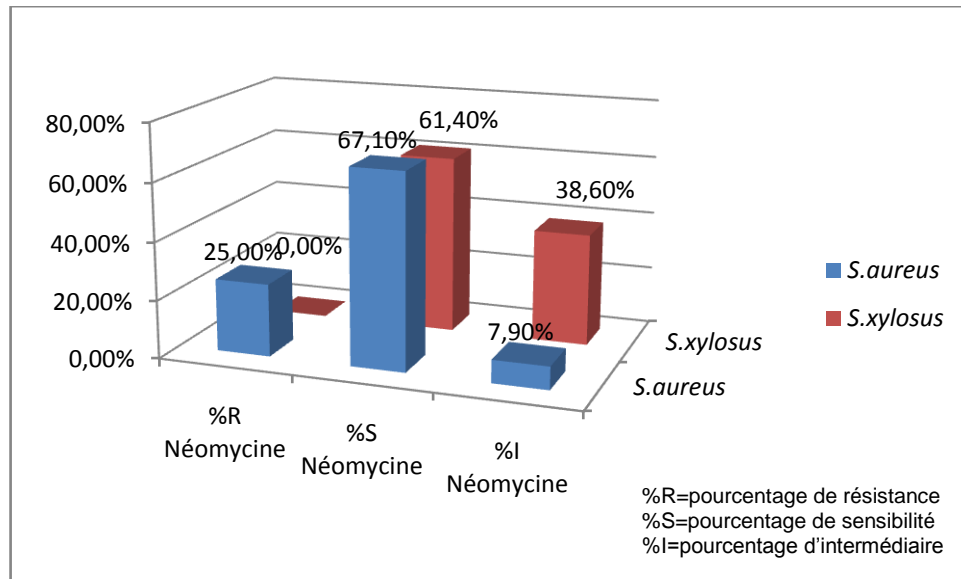


Figure 6.20 : représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à la néomycine.

Pour la gentamicine, nous constatons dans notre étude un pourcentage nul de résistance à cet ATB pour toutes les souches de *S.aureus* et de *S.xylosus*, donc une sensibilité de 100% (Figure 6.21).

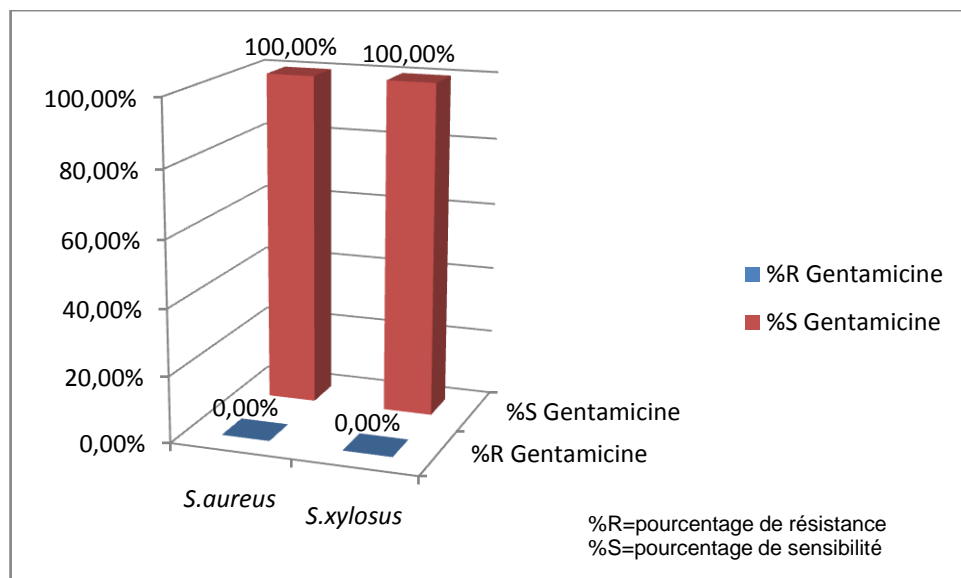


Figure 6.21: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à la gentamicine.

#### 6.4.4.1.3. Les macrolides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est l'érythromycine.

Les résultats indiquent une forte résistance vis-à-vis cette molécule, avec un taux le plus élevé de 92,1% pour *Staphylococcus aureus* et de 91,2% pour *Staphylococcus xylosum* (Figure 6.22).

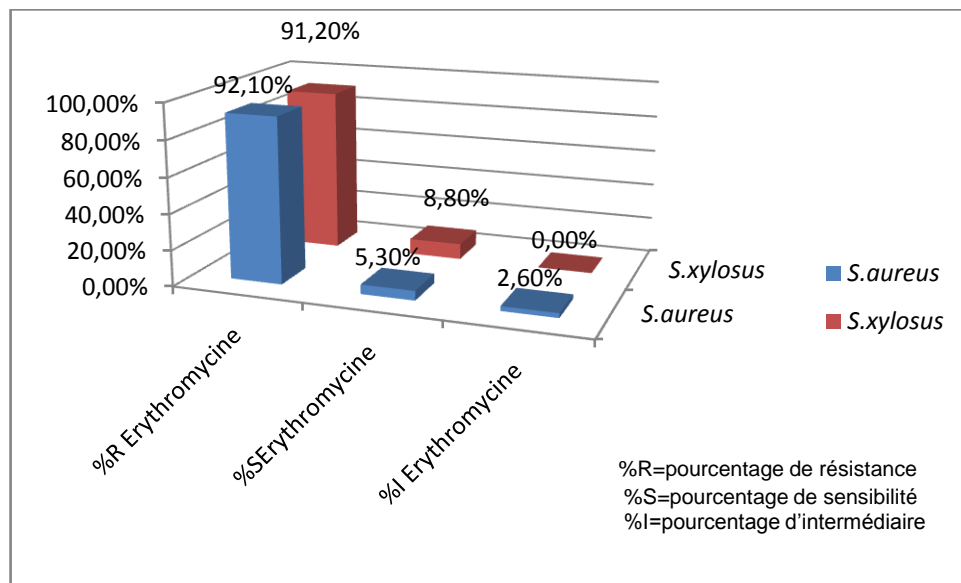


Figure 6.22: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosum* à l'érythromycine.

#### 6.4.4.1.4. Les quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'enrofloxacin, quinolone de troisième génération (Figure 6.23).

Pour les souches de *Staphylococcus aureus* le taux de résistance est de 69,7%. Pour les souches de *Staphylococcus xylosum* le taux de résistance est de 87,7%.



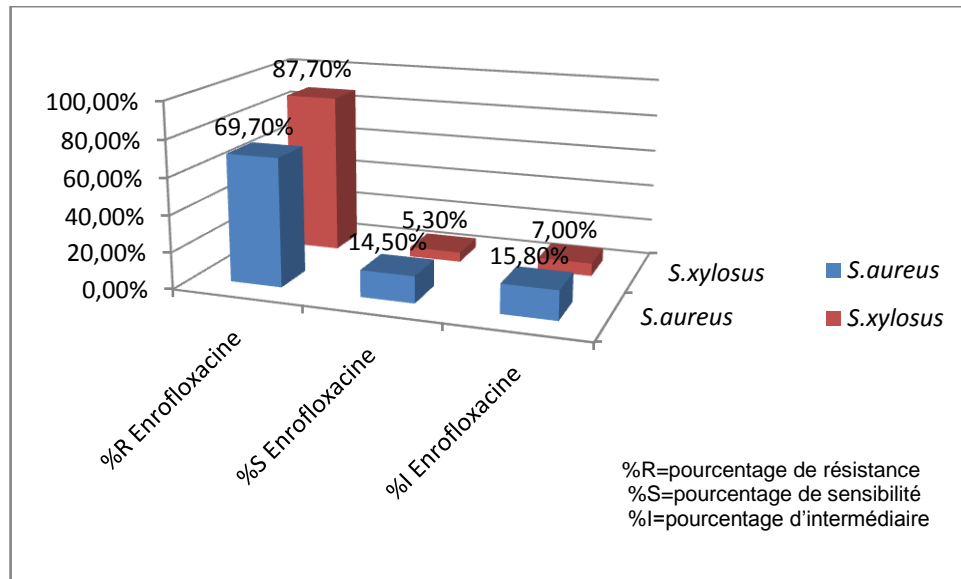


Figure 6.23: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à l'enrofloxacin.

#### 6.4.4.1.5. Les sulfamides

Pour cette famille d'antibiotique, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprime /sulfaméthoxazole, nos résultats indiquent un taux de résistance vis-à-vis de cette association, de 32,9 % pour *S.aureus* et 5,3% pour *S.xylosus* (Figure 6.24).

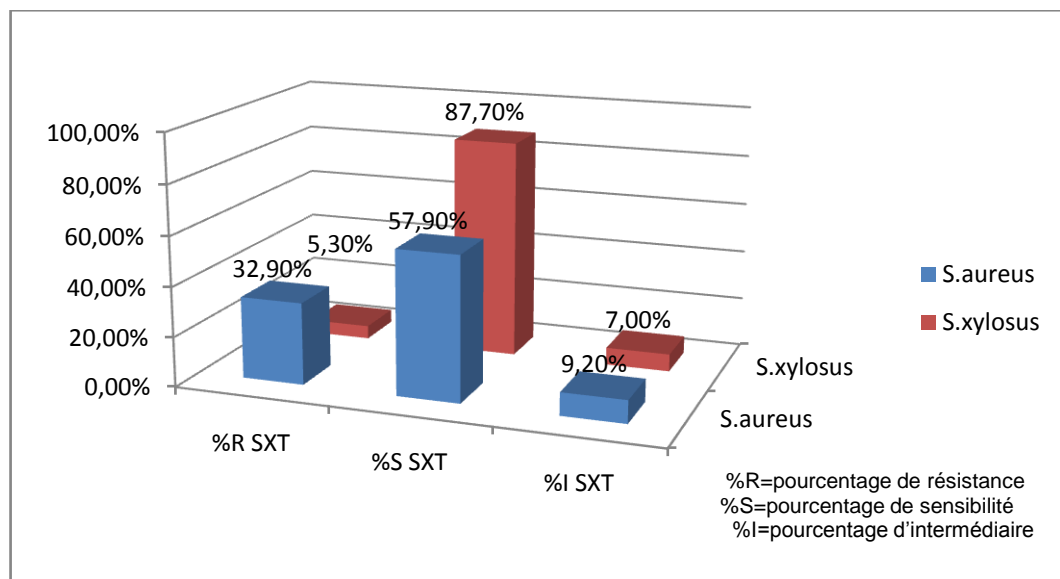


Figure 6.24: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à la triméthoprime+sulfaméthoxazole.

#### 6.4.4.1.6. Tétracyclines

Pour cette famille d'anti-infectieux,

Les souches de *S.aureus* ont présenté un taux de résistance de 81,6% vis-à-vis la tétracycline.

Les souches de *S.xylosus* ont montré un taux de résistance de 82,45% vis-à-vis la tétracycline (figure 6.25).

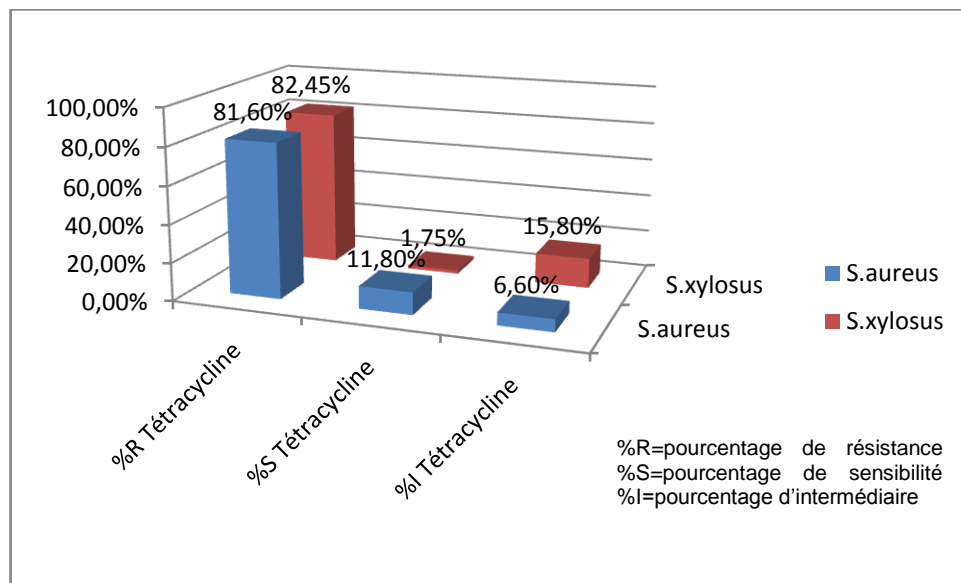


Figure 6.25: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à la tétracycline.

#### 6.4.4.1.7. Glycopeptides

La résistance aux glycopeptides est déterminée par l'utilisation de la vancomycine.

Nous n'avons noté aucune souche résistante à la vancomycine, soit un taux de sensibilité de 100% (figure 6.26).

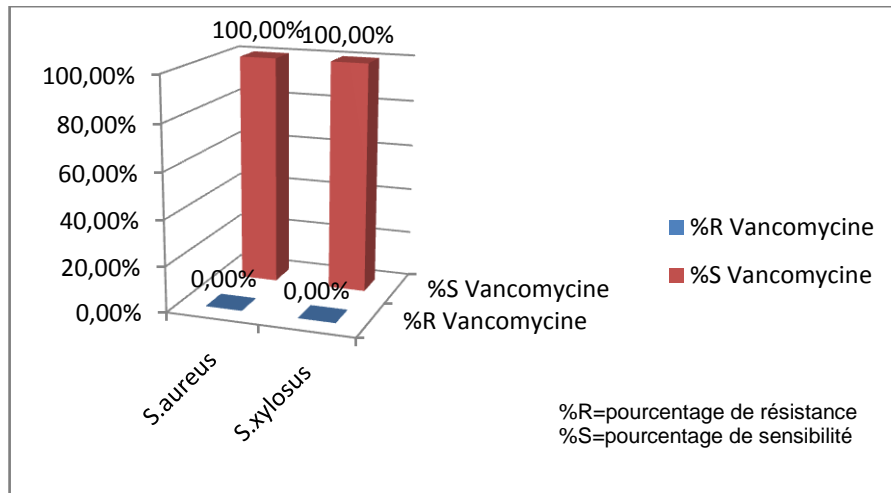


Figure 6.26: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à la vancomycine.

#### 6.4.4.1.8. Lincosamides

La sensibilité de nos souches est testée vis-à-vis de la Clindamycine,

Les souches de *S.aureus* ont un taux de résistance de 68,4%, alors que les souches de *S.xylosus* ont un taux de résistance de 40,3% (figure 6.27).

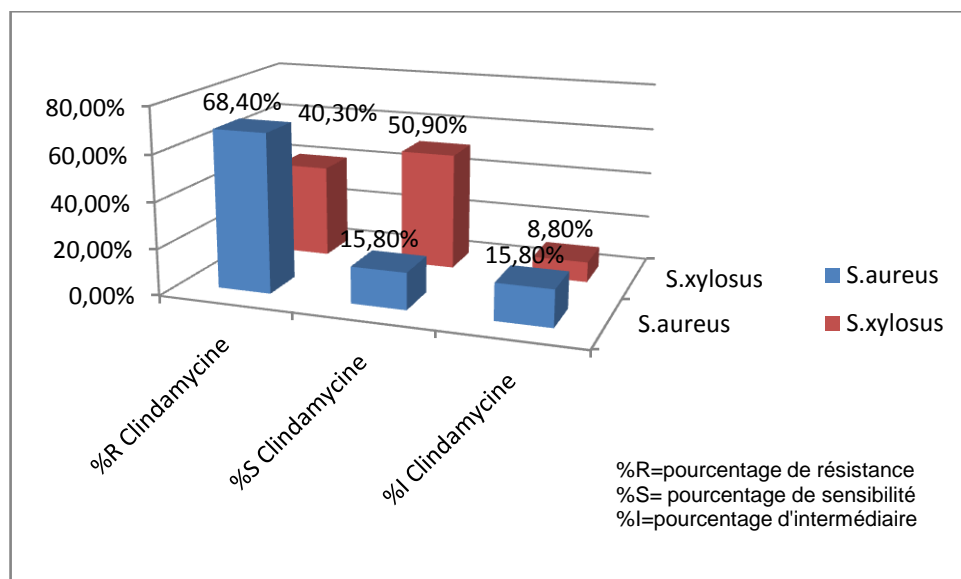


Figure 6.27: représentation graphique des pourcentages de résistance et sensibilité des *S.aureus* et *S.xylosus* à la clindamycine.

L'analyse de ces résultats fait ressortir que les souches de *S.aureus* et *S.xylosus* ont présenté des taux de résistances importants envers l'érythromycine, tétracycline, enrofloxaciné et clindamycine.

L'amoxicilline+acide clavulanique, gentamicine et vancomycine sont actives sur la totalité des souches de *S.aureus* et *S.xylosus*.

La céfoxitine est active sur toutes les souches de *S.aureus* et *S.xylosus* que nous avons isolés par conséquents il y a absence de souches de staphylocoques méthicillino-résistances.

## 6.5. Discussion

Sur un total de 133 prélèvements bactériologiquement positifs isolés à partir des cavités nasales des poulets de chair asymptomatiques, soit un taux de 43,3 % de positivité, nous avons isolé 76 souches de *Staphylococcus aureus*, soit un taux de portage de 24,75% sur la totalité des prélèvements examinés.

Ces résultats s'expliquent par le fait que *Staphylococcus aureus* est un commensal de la peau et des muqueuses, notamment de la muqueuse nasale, chez l'homme et la plupart des animaux à sang chaud [130].

Ce taux de portage de *Staphylococcus aureus* au niveau des cavités nasales du poulet de chair (24,75%) est inférieur à celui obtenu par une étude similaire en Algérie faite par BENRABIA et al. (2011) [131], où le pourcentage de portage de *Staphylococcus aureus* retrouvé était de l'ordre de 89,33 %.

Au Nigeria SULEIMAN et al. (2013) [132], ont obtenu un taux supérieur de celui de notre étude avec un pourcentage de portage de 54% des souches de *Staphylococcus aureus* chez poulet de chair.

Les autres 57 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, ont été identifiées à l'espèce *S. xylosus* par galerie Api staph, soit un taux de portage de 18,5% sur la totalité des prélèvements examinés.

Dans une étude Canadienne publiée en 2012 par VELA et al. [133], 84 souches de *S. xylosus* soit un pourcentage de 54.9%, étaient isolé à partir des bioaérosols dans un poulailler de poulets de chair, ce qui pourrait expliquer leur présence dans les cavités nasales de la volaille.

Cependant, on ne sait que trop peu, que les staphylocoques sont naturellement présents dans notre alimentation et que de nombreux produits fermentés d'origine animale en contiennent. Certaines espèces participent activement au processus de fermentation et présentent un intérêt technologique. *Staphylococcus xylosus*

est l'espèce la plus couramment utilisée comme ferment en co-culture avec des bactéries lactiques ou un autre staphylocoque, *Staphylococcus carnosus*.

Des souches de *S. xylosus* sont rajoutées comme microflore de surface pour les viandes séchées et les fromages dits «à caractère» comme le Munster. Les propriétés technologiques de cette espèce sont diverses. Cette bactérie joue un rôle majeur dans le développement de la flaveur et de la couleur des produits fermentés. Elle synthétise des arômes via une activité lipolytique et le catabolisme des acides aminés. Ses propriétés anti-oxydantes permettent de limiter le rancissement. Son activité nitrate réductase joue un rôle fondamental dans le développement de la couleur rouge des produits carnés fermentés [134].

En fait, la difficulté rencontrée dans cette étude réside dans la fréquence réduite de travaux sur le portage nasal des staphylocoques chez poulet de chair afin de faire une comparaison avec nos résultats.

Pour la situation du portage nasal des staphylocoques chez d'autres animaux sains, le taux du portage varie d'une espèce à l'autre.

L'étude de MENOUEI et *al.* (1988) [135] en France rapportent un nombre de 32 souches de *Staphylococcus aureus* soit une fréquence de portage de 3%, isolées à partir des cavités nasales de l'agneau de bergerie. VAUTOR et *al.* (2005) [136] la prévalence du portage nasal des *Staphylococcus aureus* est de 29 % chez des brebis.

Une étude sur l'analyse de la flore nasale de la chèvre réalisée en France par RICHARD et *al.* (1989) [137] rapportent un nombre de 10 souches de *Staphylococcus aureus* et 2 souches de *Staphylococcus xylosus* isolées par écouvillons nasaux.

SELVA et *al.* (2008) [138] Signalent chez le lapin un taux de portage nasal de *Staphylococcus aureus* de 56%.

Dans une étude à Hong Kong par BOOST et *al.* (2008) [139], le niveau du portage nasal des *S. aureus* chez les chiens est de l'ordre de 8,8%.

Chez l'homme, le taux de portage nasal asymptomatique de *Staphylococcus aureus* est variable en fonction de la population étudiée, un taux de 18,3% est enregistré par GHERNAOUT [140], à Tlemcen dans une population de 512 patients explorés (opérés et non opérés). A Boufarik, le taux de portage est estimé de 15,5% dans une population humaine de 264 individus ne souffrant d'aucune pathologie infectieuse (GOUIZI [141]), Au Liban, le taux de portage est estimé de 39% chez des travailleurs dans le secteur alimentaire (HAMZE et al. [142]) et de 30,7% en milieu scolaire (BEYROUTHY et al. [143]). D'autre part, un taux de 40,8% est enregistré en Brésil dans une population d'étudiants universitaires [144], et 44,45% au Maroc dans une population des hémodialysés (SOULY et al. [145]). Le taux de portage est de l'ordre de 45,5% chez le personnel soignant hospitalier à Abidjan (AKOUA-KOFFI et al. [146]).

L'étude de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées a montré un taux de résistance important à l'érythromycine, en effet, nous enregistrons le plus fort pourcentage qui est de 92,1%. Ce taux est proche de celui obtenu par BENRABIA et al. en 2011 [131] (96,25%), et de celui de SULEIMAN et al. (2013) [132], au Nigeria (100%),

Un taux important de résistance est observé pour d'autres familles d'antibiotiques, notant 81,6% vis-à-vis la tétracycline, 69,7% vis-à-vis l'enrofloxacin et 68,4% vis-à-vis la clindamycine.

Notre taux de résistance vis-à-vis la tétracycline est proche de celui retrouvé par BENRABIA et al. [131] qui est de 92,75%.

La persistance et l'augmentation croissante de cette résistance à la tétracycline sont attribuées, en partie, à l'usage intempestif de cette famille d'antibiotiques à large spectre, mais également à leur incorporation systématique dans l'alimentation des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine, et à doses souvent sub-thérapeutiques, en prophylaxie ou dans le but de stimuler la croissance et d'améliorer le rendement. Cette dernière possibilité est évoquée il y a plus de 50 ans, comme cause probable de l'apparition des souches résistantes [147].

Pour l'enrofloxacin notre taux de résistance (69,7%) est inférieur à celui obtenu (86,25%) par BENRABIA *et al.* [131]. Tandis que notre taux de résistance à la clindamycine (68,4%) est proche de celui obtenu au Nigeria (51,9 %) par SULEIMAN *et al.* [132].

Concernant la famille des  $\beta$ -lactamines, nos souches de *Staphylococcus aureus* ont montré des résistances vis-à-vis la pénicilline seulement avec un taux de 35,5% qui est inférieure à 48,25% retrouvé par BENRABIA *et al.* [131].

Pour l'oxacilline et la céfoxitine nous n'enregistrons aucune résistance sur les 76 souches de *S. aureus* étudiées. Ce résultat est contradictoire relativement à celui avancé par BENRABIA *et al.*, [131], qui soulignent un taux de résistance à l'oxacilline de 10% et 10,5% à la céfoxitine.

Céfoxitine est utilisé pour la recherche de la résistance à la méthicilline. Dans les résultats que nous avons obtenus il y'a absence de souches de *S. aureus* méthicillino-résistants contrairement à BENRABIA *et al.* [131], qui ont rapporté un taux de 10,5% des *S. aureus* méthicillino-résistants isolés des cavités nasales des poulets de chair asymptomatiques.

Nous observons dans notre étude pour les souches de *S. aureus* un pourcentage nul de résistance à la gentamicine, ces résultats sont analogues à l'étude au Nigeria de SULEIMAN *et al.* [132]. Cependant BENRABIA *et al.* [131], rapporte une forte résistance avec un taux de 66%.

L'absence de résistance des souches de *S. aureus* à la gentamicine est due à la non utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles puisque cet antibiotique est suspendu de l'homologation, mais selon RAHAL *et al.* [148], il reste comme test au laboratoire dans le cadre de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

La vancomycine s'est avérée très efficace contre toutes les souches de *S. aureus* avec 100% de sensibilité. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par BENRABIA *et al.* [131].



La vancomycine a été fidèle à sa réputation de molécule anti-staphylococcique, chez l'homme elle représente toujours l'un des traitements les plus probants face aux infections à *S. aureus* résistant à la méthicilline.

Concernant les souches de *S.xylosus* isolées, nous avons enregistré des résistances importantes comme avec les souches de *S. aureus* envers l'érythromycine (91,2%), l'enrofloxacin (87,7%), tétracycline (82,45%) et la clindamycine (40,3%), ces résistances sont plus importantes à ceux trouvés par VELA et *al.* [133], dont l'étude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques a montré que (11.9%) sont résistants à l'érythromycine et 21.4% sont résistants à la tétracycline.

Ces taux de résistance importants, des souches de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus xylosus* isolées à partir des cavités nasales du poulet de chair asymptomatique, à ces antibiotiques sont probablement la conséquence de la très importante prescription de ces antibiotiques, donc il y a une sélection de souches résistantes.

## CONCLUSION

De cette étude, il ressort que les poulets de chair portent au niveau de leurs cavités nasales des Staphylocoques en absence de symptômes.

L'analyse bactériologique a permis d'isoler deux espèces staphylococciques, avec en tête de liste *Staphylococcus aureus* avec un taux de 24,75%, et *Staphylococcus xylosus* avec un taux de 18,5%.

*Staphylococcus aureus* est une bactérie coagulase positive commensale de l'épithélium nasal mais c'est aussi une bactérie pathogène opportuniste des animaux et de l'homme causant plusieurs pathologies.

L'espèce *Staphylococcus xylosus*, est pratiquement défini comme un *Staphylococcus* coagulase négative non pathogène, puisque elle est un des principaux ferments utilisé en salaison et dans la fabrication des fromages mais quelques souches de *S. xylosus* sont liées à des infections opportunistes des animaux et de l'homme.

Lors de notre étude des taux importants sont observés pour l'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de plusieurs molécules d'antibiotiques, l'érythromycine (92,1%), l'enrofloxacin (69,7%), tétracycline (81,6%) et la clindamycine (68,4%), existant dans le commerce de manière légale, les rendant ainsi inefficaces dans la lutte contre les Staphylocoques.

La résistance bactérienne aux antibiotiques constitue une menace pour la médecine moderne parce qu'elle progresse plus rapidement que le développement de nouveaux antibiotiques.

## RECOMMANDATIONS

Les porteurs sains des *Staphylococcus aureus*, constituent non seulement un réservoir pour ces bactéries, mais surtout une source de leur dissémination dans l'environnement. De ce fait, afin de contrôler la diffusion de ces souches de *S.aureus*, notamment les souches résistantes aux antibiotiques dans notre environnement, nous formulons les recommandations suivantes :

- Le respect des règles d'hygiène au niveau des élevages afin d'éviter toute contamination ;
- Organiser l'utilisation des antibiotiques chez les animaux en rendant leur prescription obligatoire par le vétérinaire ;
- Fournir des instructions à l'intention des vétérinaires afin de réduire l'utilisation abusive et erronée des antibiotiques par le vétérinaire ;
- La formation et la sensibilisation des éleveurs sur l'utilisation rationnelle des antibiotiques;
- Des travaux plus importants et plus approfondis sont nécessaires pour comprendre l'évolution de ces antibiorésistances.

En perspectives de ce travail, il serait intéressant de pouvoir approfondir l'aspect génétique de cette résistance tout en explorant les mécanismes intervenant dans la régulation de la résistance.

# APPENDICE

## APPENDICE A

### LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique

agr: accessory gene regulator

AIP: Autoinducing Peptide

ARN: Acide ribonucleique

ATCC: American Type Culture Collection

ES : Entérotoxine Staphylococcique

FAME : Fatty Acid Modifying Enzyme

Fc : Fragment constant

Hcl : Acide chlorhydrique

I :Intermédiaire

IgG : immunoglobuline de classe G

kDa : kilodalton

LPV : Leucocidine de Panton-Valentine

µg: microgramme

mm: millimètre

MRSA : *Staphylococcus aureus* Résistant à la méticilline

NaCl: Chlorure de sodium

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymerase Chain Reaction

PLP : Protéines Liant les Pénicillines

R : Résistant

S : Sensible

SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative

S : *Staphylococcus*

TSST : Toxic Shock Syndrom Toxin

UI : Unité Internationale

% : Pourcentage

≥ : supérieur ou égale

≤ : inférieur ou égale

## APPENDICE B

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques	charge	abréviation	diamètre	
			résistant	sensible
Pénicilline	10UI	PEN	≤28	≥29
Pénicilline+Novobiocine	10UI/30 µg	PNO	≤14	≥18
Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10 µg	AMC	≤19	≥20
Oxacilline <i>S.aureus</i> <i>S.C.N</i>	1 µg	OXA	≤10 ≤17	≥13 ≥18
Céfoxitine*	30 µg	FOX	≤21	≥22
Erythromycine	15 µg	ERY	≤13	≥23
Néomycine/ Kanamycine	30 µg	NEO/K	≤13	≥18
Gentamicine	10 µg	GEN	≤12	≥15
Enrofloxacin	5 µg	ENR	≤16	≥23
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	SXT	≤10	≥16
Tétracyclines	30 µg	TCY	≤14	≥19
Vancomycine	30 µg	VAN	-	≥15
Clindamycine	2 µg	CLI	<14	≥21

## APPENDICE C

Composition des milieux de culture utilisés en g/l d'eau distillée.

### Milieu d'isolement

#### Gélose Chapman

Tryptone .....	5 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	70 g
Peptone bactériologique.....	10 g
Mannitol.....	10 g
Rouge de phénol.....	0.05 g
Agar.....	18 g
pH = 7.4±0.1	

#### Gélose à l'ADN

Tryptose.....	20 g
Acide désoxyribonucléique.....	2 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	12 g
pH= 7.3±0.2	

### Milieu d'enrichissement

#### Bouillon Coeur-cervelle (BRAIN HEART INFUSION BROTH)

Infusion de cœur de bœuf.....	5 g
Infusion de cervelle de veau.....	12.5 g
Glucose.....	2 g
Peptone.....	10 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphatase disodique.....	2.5 g
pH=7.4±0.2	

Milieu pour antibiogramme

Mueller Hinton

Hydrolysate acide de caséine.....	17.5g
Extrait de viande .....	3g
Amidon.....	1.5g
Agar .....	16g
pH=7.3	



## REFERENCES

1. Malachowa, N., DeLeo, F.R., “Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*”, *Cell. Mol. Life Sci* 67(18), (2010), 3057–3071.
2. De Leo, F.R., Chambers, H.F., “Reemergence of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era”, *J Clin Invest*, 119 (9), (2009), 74-246.
3. Van Belkum, A., “Staphylococcal colonization and infection: homeostasis versus disbalance of human (innate) immunity and bacterial virulence”, *Curr Opin Infect*, 19(4), (2006), 339–344.
4. Chambers, H.F., De Leo, F.R., “Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era”, *Nat Rev Microbiol* 7(9), (2009), 41–62.
5. Weems, J.J., “The many faces of *Staphylococcus aureus* infection. Recognizing and managing its life-threatening manifestations”, *Postgrad Med*. 110(4), (2001), 6-35.
6. Orrett, F.A. and Shurland, S.M., “Significance of coagulase-negative staphylococci in urinary tract infections in a developing country”, *Connecticut Medicine* 62, (1998), 199-203.
7. Esper, R.C., Morales, M.T. and Ruiz, S.S., “*Staphylococcus xylosus*: una bacteria emergente”, *Rev Med Hosp Gen Mex*. 63, (2000), 107-111.
8. Siqueira, J.F.J. and Lima, K.C., “*Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus xylosus* in a secondary root canal infection with persistent symptoms: a case report”, *Australian Endodontic Journal: J Austr Soc Endodontology Inc*. 28, (2002), 61-63.
9. Almeida, R.A. and Oliver, S.P., “Interaction of coagulase-negative *Staphylococcus* species with bovine mammary epithelial cells”, *Microb Pathog*. 31, (2001), 205-212.

10. Won, Y.S., Kwon, H.J., Oh, G.T., Kim, B.H., Lee, C.H., Park, Y.H., Hyun, B.H. and Choi, Y.K., "Identification of *Staphylococcus xylosus* isolated from C57BL/6J Nos2(tm1Lau) mice with dermatitis", *Microbiol Immunol.* 46, (2002), 629-632.
11. Sunde, M., Fossum, K., Solberg, A. and Sorum, H., "Antibiotic resistance in *Escherichia coli* of the normal intestinal flora of swine", *Microb Drug Resist* 4, (1998), 99 -289.
12. Phillips, I., Casewell, M., Cox, T., De Groot, B., Friis, C., Jones, R., Nightingale, C., Preston, R. and Waddell, J., "Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data", *J Antimicrob Chemother* 53:28-52. Salyers, A. A., Gupta, A., and Wang, Y., 2004. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends Microbiol* 12, (2004), 6-412.
13. Jones, R.N., "Resistance Patterns Among Nosocomial Pathogens Trends Over the Past Few Years", *Chest.* Feb; 119 (2 Suppl), (2001), 397-404.
14. Rice, LB., "Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria", *Am J Infec control.* 34, (2006), 9-11.
15. FAO., "Situation de la production et des marchés avicoles", (2013), 2.
16. Abbas, K., " Eléments de situation des productions animales et du secteur avicole en Algérie", INRA, Algérie, (1996) ,2.
17. Ministère de l'agriculture et du développement rural., "Avant projet d'une charte de qualité et pacte de croissance encadrant et engageant les activités des professionnels de la filière avicole pour la structuration et la modernisation de l'aviculture nationale", Algérie, (2012) ,6.
18. Permin, A. et Hansen, J. W., "Epidémiologie, le diagnostic et le contrôle des parasites de volaille", *FAO de santé animale Manuels* 4, Rome, Organisation des nations unies (FAO), Italy, (1998).

19. Njue, S.W., Kasiiti, J.L., Macharia J.M., Garcheru, S.G., Mbugua, H.C.W., "Health management improvements of family poultry production in Africa: survey results from Kenya", In EL-Yuguda, I.S., Ngulde, M.B., Abubakar, Baba S.S. (2007). Indices de santé, de conduite et de production des poulets villageois dans des communautés rurales sélectionnées de l'Etat de Borno (Nigeria). *Aviculture Familiale* Vol.17, N.1-2, (2002).
20. Feliachi, K., Kerboua, M., Abdelfettah, M., Ouakli, K., "Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales: Algérie", Commission Nationale AnGR, Ministère de l'agriculture et du développement rural, (2003), 32-33.
21. Eekeren, N.V., Maas, A., Saatkamp, H.W., Verschuur, M., "L'élevage des poules à petite échelle", Fondation Agromisa et CTA, Wageningen, Pays bas, quatrième édition, (2006), 8.
22. Koyabizo Ahonziala, Y.F., "La poule, l'aviculture et le développement", L'Harmattan, Paris, (2009), 7.
23. <http://www.poultryhub.org/physiology/body-systems/digestive-system/>.
24. Gehanno, P., Léophonte, P., Mouton, Y., " La colonisation microbienne des voies respiratoires", Ed. John Libbey Eurotext, Paris, (1995), 11-16.
25. Hugard, L., "Hygiène et soins infirmier", 2<sup>e</sup> édition, Groupe Liaison S A, Paris, (2003), 16-17.
26. Meyer, A ; Deiana, J. et Bernard A., "Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés", Doin editeurs Groupe Liaisons SA, France, (2004), 423.
27. Leyral, G., Vierling, E., "Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité des aliments", 4<sup>e</sup> édition Rueil-Malmaison : Doin, Bodreaux, CRDP d'Aquitaine, (2007), 66-67.
28. [www.themedicalteamwork.be](http://www.themedicalteamwork.be). ( Consulté le 12 février 2014).

29. Loir, L.Y. et Gautier, M., "Staphylococcus aureus", Monographie de microbiologie, Lavoisier, Paris, (2010), 1-113.
30. Breche, P., Gaillard, J. and Simonet M., " Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie, Bactéries des infections humaines", Flammarion Médecine-Sciences, Paris, (1988), 267-277.
31. Spicer, W.J., " Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie ", Flammarion Médecine-Sciences, Paris, (2003), 28-29.
32. Stephen, H.G., Hawkey, M.P., "Principles and practice of clinical bacteriology", 2<sup>e</sup> edition, John Wiley and Sons, Birmingham, (2006), 73-86.
33. Avril, J.L., Dabarnet, H., Denis, F., Onteil, H., " Bactériologie clinique ", 2<sup>e</sup> édition Ellipses, Paris, (1992), 9-30.
34. Kartick, Sambanthamoorthy., " Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation", The University of Southern Mississippi, edition UMI Microform , USA,(2007), 20-24.
35. Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., Fitz Patrick, E.S., Fanning, S., Hartigan, P.J., "*Staphylococcus* species", Veterinary Microbiology and Microbial Disease, 2<sup>e</sup> edition, Wiley-Blackwell, USA, (2011), 179.
36. Grosjean, J., Clave, D., Archambaud, M., Pasquier, C., "Bactériologie et Virologie pratique", DE BOECK, 2<sup>ème</sup> édition, Belgique, (2011), 73-78.
37. Bergdoll, M.S., "Staphylococcal intoxications", In: Riemann, H., Bryan, FL., Food-borne infections and intoxications, Academic press New York, (1979), 443-494.
38. Pulverer, G., Peters, G., Schumacher-Perdreau, F., "Coagulase-negative staphylococci ", *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]*. 264, (1987), 1-28.

39. Bascomb, S., Manafi, M., "Use of enzyme tests in characterization and identification of aerobic and facultative anaerobic Gram-positive cocci", *Clin. Microbiol. Rev.* 11, (1998), 318-340.
40. Euzeby, J.P., "Staphylococcaceae", (2010), consulté sur: <http://www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.html>.
41. Delarras, C., "Surveillance Sanitaire et Microbiologique des Eaux", 2<sup>e</sup> édition, Lavoisier, Paris, (2010) ,144.
42. Hennekinne, J.A., "Nouvelles approches pour la caractérisation des toxifinfections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive ", Paris, (2009),16.
43. Stepan, J., Pantucek, R., Doskar, J., "Molecular diagnostics of clinically important staphylococci", *Folia Microbio*, 49, 4, (2004), 353-386.
44. Novick, R.P., "Staphylococci", *Microbiology*, 4 th ed., New York, (1990), 539-560.
45. Fleurette, J., "Staphylococcus et Micrococcus", Dans le Minor L., Veynon M., *Bactériologie Médicale*, Flammarion Médecine-Sciences, 2<sup>e</sup> édition, Paris, (1990) ,773-794.
46. Kloos, W. E., Lambe J. R. D. W., "*Staphylococcus*". In: *Manual of Clinical Microbiology*, 4 th ed. *Am. Soc. For Microbiology*, Washington DC, (1981), 222-235.
47. EL Kouri, D., Pottier, M.A., Trewick, D., Le Gallou, F., Baron, D., and Potel, G., " Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques", *Encycl Méd Chir, Maladies Infectieuses*, Elsevier, Paris, (1998) ,8.
48. Couture, B., "Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical", *Bactériologie médicale Vigot*, Paris, (1990), 15-32.

49. Garnier, F., DENIS, F., "Cocci à Gram positif", In Ploy, M.C., Denis, F., Martin, C., Bingen, E., Quentin, R., Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles, 2<sup>e</sup> édition, Elsevier Masson, Paris, (2011), 288.
50. Sutra, L., " Manuel de Bactériologie Alimentaire ", Polytechnica, Paris, (1998), 53-80.
51. Davido, B., "Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré", thèse de doctorat en médecine, Paris, (2010) ,14.
52. DE Buyser, M.L., "Les staphylocoques coagulase-positifs", Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Lavoisier, (1996), 305-312.
53. Beraud, J., "Le technicien d'analyses biologiques ", guide théorique et pratique, Lavoisier, Paris, (2004), 966-968.
54. Brun, Y., Bes, M. et Vandenesch, F., "*Staphylococcus*", Dans le Freney, J., Renaud, F., Leclercq, R. et Riegel, P., Précis de Bactériologie Clinique, 2<sup>e</sup> édition ESKA, Paris,(2007), 812.
55. Kloos, W.E.et Bannerman,T.L., "Staphylococcus and Micrococcus", (1999), 276.
56. Kloos, W. E. and Schleifer, K. H., "Genus IV. *Staphylococcus*", In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore, (1986), 1013-1035.
57. Graille, M., Stura, E.A., Corper, A.L., Sutton, B.J., Taussig, M.J., Charbonnier, J.B. ET Silverman, G.J., "Crystal structure of a *Staphylococcus aureus* protein A domain complexed with the Fab fragment of a human IgM antibody: structural basis for recognition of B-cell receptors and superantigen activity", Proceedings of

the National Academy of Sciences of the United States of America, (2000), 5399-5404.

58. Foster, T.J., "Colonization and infection of the human host by staphylococci: adhesion, survival and immune evasion", *Veterinary Dermatology*, 20, (2009), 456-470.

59. O'seaghda, M., Schooten, C.J., Kerrigan, S.W., Emsley, J., Silverman, G.J., Cox, D., Lenting, P.J. ET Foster T.J., "*Staphylococcus aureus* protein A binding to von Willebrand factor A1 domain is mediated by conserved IgG binding regions", *The FEBS Journal*, 273, (2006), 4831-4841.

60. O'brien, L.M., Walsh, E.J., Massey, R.C., Peacock, S.J. ET Foster T.J., "*Staphylococcus aureus* clumping factor B (ClfB) promotes adherence to human type I cytokeratin 10: implications for nasal colonization", *Cellular Microbiology*, 4, (2002), 759-770.

61. Walsh, E.J., Miajlovic, H., Gorkun O.V. ET Foster T.J., "Identification of the *Staphylococcus aureus* MSCRAMM clumping factor B (ClfB) binding site in the alphaC-domain of human fibrinogen", *Microbiology* 154, (2008), 550-558.

62. Weidenmaier, C., Kokai-Kun, J.F., Kulauzovic, E., Kohler, T., Thumm, G., Stoll, H., Gotz, F. ET Peschel, A., "Differential roles of sortase-anchored surface proteins and wall teichoic acid in *Staphylococcus aureus* nasal colonization", *International Journal of Medical Microbiology: IJMM*, 298, (2008), 505-513.

63. Nishifuji, K., Sugai, M. ET Amagai, M., "Staphylococcal exfoliative toxins: molecular scissors of bacteria that attack the cutaneous defense barrier in mammals", *Journal of Dermatological Science*, 49, (2008), 21-31.

64. Bhakdi, S., Fussle, R., Tranum, J.J., "Staphylococcal alpha-toxin: oligomerization of hydrophilic monomers to form amphiphilic hexamers induced through contact with deoxycholate detergent micelles", *Proc Natl Acad Sci* 78 (9), USA, (1981), 5475-5479.

65. Vandenesch, F., Lina, G. ET Henry, T., “*Staphylococcus aureus* Hemolysins, bicomponent Leukocidins, and Cytolytic Peptides: A Redundant Arsenal of Membrane- Damaging Virulence Factors”, *Front Cell Infect Microbiol*, 2, (2012), 12.
66. Walev, I., Weller, U., Strauch, S., Foster, T., Bhakdi, S., “Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*”, *Infect Immun* 64 (8), (1996), 2974-2979.
67. Gras, D., “Étude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidosiques et *Staphylococcus aureus*”, Université de Reims Champagne-Ardenne, (2006), 50-51.
68. Valle, J., Vadillo, S., Piriz, S. and Gomez-Lucia, E., “Toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) production by staphylococci isolated from goats and presence of specific antibodies to TSST-1 in serum and milk”, *Applied and Environmental Microbiology* 57, (1991), 889- 891.
69. Udo, E.E., Al-Bustan, M.A., Jacob, L.E. and Chugh, T.D., “ Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci in restaurant workers from Kuwait City may be a potential cause of food poisoning”, *Journal of Medical Microbiology* 48, (1999), 819-823.
70. Balaban, N., Rasooly, A., “Staphylococcal enterotoxins”, *Int J Food Microbiol* 61, (2000), 1-10.
71. Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., Zucca, J., “ Aspect microbiologique de la sécurité alimentaire et de la qualité des aliments”, *Microbiologie Alimentaire*, Lavoisier TEC & DOC, Tome 1, France, (1996), 106-119.
72. Becker, K., Keller, B., Von-Eiff, C., “Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus intermedius*”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, (2001),5551-5557.



73. Khambaty, F.M., Bennett, R.W., Shah, D.B., "Application of pulse field gel electrophoresis to the epidemiological characterization of *Staphylococcus intermedius* implicated in a food-related outbreak", *Epidemiol. Infect.* 113, (1994), 75-81.
74. Bautista, L., Gaya, P., Medina, M., Nunez, M., "A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci", *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 2, (1988), 566-569.
75. Cunha Mde, L., Calsolari, R.A., Junior, J.P., "Detection of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin 1 genes in *Staphylococcus*, with emphasis on coagulase negative staphylococci", *Microbiol. Immunol.* 51, 4, (2007), 381-390.
76. Veras, J. F., Do Carmo, L. S., Tong, L. C., Shupp, J. W., Cummings, C., Dos Santos, D. A., Cerqueira, M. M., Cantini, A., Nicoli, J. R., Jett, M., "A study of the enterotoxigenicity of coagulase-negative and coagulase-positive staphylococcal isolates from food poisoning outbreaks in Minas Gerais, Brazil", *Int. J. Infect. Dis.*, 12, 4, (2008), 410-415.
77. Zell, C., Resch, M., Rosenstein, R., Albrecht, T., Hertel, C., Gotz, F., "Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures", *Int. J. Food Microbiol.*, 127, 3, (2008), 246-251.
78. Kawabata, S., Morita, T., Iwanaga, S., Igarashi, H., "Staphylocoagulase-binding region in human prothrombin", *J Biochem.* 97(1), (1985), 325-331.
79. Delarras, C., "Microbiologie pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire", Éditions Tec & Doc - EM Inter – Lavoisier, Paris, (2007), 476.
80. Foster, T.J., "Immune evasion by staphylococci", *Nat Rev Microbiol.*, 3 (12), (2005), 948-958.
81. Bokarewa, M.I., Jin, T., Tarkowski, A., "*Staphylococcus aureus*; Staphylokinase", *Int J Biochem Cell Biol.*, 38 (4), (2006), 504-509.

82. Katayama, Y., Ito, T., Hiramatsu K., "A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome *mec* encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*", *Antimicrob Agents Chemother*, 44, (2000), 1549-1555.
83. Boyen, F., Eeckhaut, V., Van, I.F., Pasmans, F., Ducatelle, R. and Haesebrouck, F., "Quorum sensing in veterinary pathogens: mechanisms, clinical importance and future perspectives", *Veterinary Microbiology*, 135, (2009), 187-195.
84. Antunes, L.C.M., Ferreira, R.B.R., Buckner, M.M.C. and Finlay, B.B., "Quorum sensing in bacterial virulence", *Microbiology*, 156, (2010), 2271-2282.
85. Stefani, S., Chung, D.R., Lindsay, J.A., Friedrich, A.W., Kearns, A.M., Westh H. and Mackenzie, F.M., "Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonization of typing methods", *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39, (2012), 273-282.
86. Leekha, S., Diekema, D.J. and Perencevich, E.N., "Seasonality of staphylococcal infections", *Clinical Microbiology and Infection: the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18, (2012), 927-933.
87. Davis, M.F., Iverson, S.A., Baron, P., Vasse, A., Sillbergeld, E.K., Lautenbach E. and Morris, D.O., "Household transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other staphylococci", *The Lancet Infectious Diseases*, 12, (2012), 703-716.
88. Fitzgerald, J.R., "Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin, evolution and public health threat", *Trends in Microbiology*, (2012), 192-198.
89. Leonard, F.C., Markey, B.K., "Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals", *Veterinary Journal*, London, England, (2008), 27-36.

90. Guérin, J.L., Balloy, D., Villate, D., "Maladies des volailles", 3<sup>e</sup> édition, éditions France Agricole, Paris, (2012), 144.
91. Biberstein, E.L. and Hirsh, D.C., "Staphylococci", veterinary Microbiology, Blackwell Science, Malden, USA, (1999), 115-119.
92. Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E. et al., "Staphylococcus species", Veterinary Microbiology and Microbial disease, Blackwell Science, Oxford, UK, (2002), 43-48.
93. Forsman, P., Tilsala-Timisjarvi, A. and Alatossava, T., "Identification of staphylococcal and streptococcal causes of bovine mastitis using 16S-23S rRNA spacer regions", Microbiology 143, (1997), 3491-3500.
94. Waage, S., Mork, T., Roros, A., Aasland, D., Hunshamar, A. and Odegaard, S. A., "Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers", Journal of Dairy Science.82, (1999), 712-719.
95. Malinowski, E., Klossowska, A., Kaczmarowski, M. and Kuzma, K., "Prevalence of intramammary infections in pregnant heifers", Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 47, (2003), 165-170.
96. Contreras, A., Corrales, J. C., Sanchez, A. and Sierra, D., "Persistence of subclinical intramammary pathogens in goats throughout lactation", Journal of Dairy Science80, (1997), 2815-2819.
97. Ben Hassen, S., Messadi, L. and Ben Hassen, A., "Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite", Annales de Médecine Vétérinaire 147, (2003), 41-47.
98. Delarass, C., "Staphylococcus, Micrococcus et ex-Micrococcus", France, (2007), 357-385.

99. Layer, F., Ghebremedhin, B., Moder, K.A., Konig, W., Konig, B., "Comparative study using various methods for identification of *Staphylococcus* species in clinical specimens", J. Clin. Microbiol., 44, (2006), 2824-2830.
100. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa)., "Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine", (2006), 10, 53, 54.
101. Schwarz, S., Kehrenberg, C. and Walsh, T.R., "Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production", Int J Antimicrob Agents 17, (2001), 7-431.
102. Dibner, J.J., Richards, J.D., "Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action", Poult Sci 84, (2005), 43-634.
103. Soulsby, L., "Antimicrobials and animal health: a fascinating nexus", J Antimicrob Chemother 60 Suppl 1: I, (2007), 8-77.
104. Gogny, M., Puyt, J.D., Pellerin, J.L., "Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire : Antibactériens et antiseptiques", Edition Point vétérinaire, France, (1999).
105. Duval, J., "Classification et mécanisme d'action des agents antibactériens", Bactériologie médicale, France, (1989), 273-296.
106. Adam, Y., Boudet-Dalbin, R., Brion, J.D., Buxeraud, J., Castel, J., "Traité de chimie thérapeutique", Volume 2, Médicaments antibiotiques, Editions Médicales Internationales, (1992), 3-122.
107. Petignat, C., "Staphylocoque doré méticillino résistant MRSA", Unité hygiène prévention et contrôle de l'infection, (2006), 16.
108. Daurel, C., Leclercq, R., "L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*", Revue francophone des laboratoires, Elsevier Masson SAS, (2008), 81-90.

109. Daum, R.S., Gupta, S., Sabbagh, R., Milwski, W.M., "Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates with decreased susceptibility to vancomycin and teicoplanin : isolation and purification of a constitutively produced protein associated with decreased susceptibility", J Infect Dis. 166, (1992), 72-106.
110. Tankovic, J.J., Aubry, D.H. et Leclercq, R., "Résistance aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*", MMéd Mal Infect. Spécial, (1997), 16-207.
111. Bismuth, H., "Aminosides et bactéries à Gram-positif", In: Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E., Antibiogramme, ESKA, Paris, (2006), 25-205.
112. Giguère, S., "Tetracyclines and glycyclines", Antimicrobial therapy in veterinary medicine, 4th ed., Arnes Blackwell publishing, (2006), 231-240.
113. Chopra, I., Roberts, M., "Tetracycline antibiotics: mode of action applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance", Microbiol Mol Biol Rev 65(2), (2001), 232-260.
114. Hooper, DC., "Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci", Lancet Infect Dis 2, (2002), 8-530.
115. Peyret, M., "Mécanismes de résistance aux antibiotiques", In : Freney, J., Renaud, F., Hansen, W., Manuel de Bactériologie Clinique, Vol. 1, 2ème édition Elsevier, Paris, (1995), 413-430.
116. Prescott, J.F., "Antimicrobial drug resistance and its epidemiology, in Antimicrobial therapy in veterinary medicine", J.F.B. Prescott, J. D., Walker, R. D., Editor Iowa State University Press, (2000), 27-49.
117. Bories, G., Louisot, P., "Rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale", (Février 1998).

118. Velge, P., Cloeckaert, A and Barrow, P., "Emergence of *Salmonella* epidemics: the problem related to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes", *Veterinary Research*, 36 (3), (2005), 267-288.
119. Richard, Y., Guillot, J.F., Lafont, J.P., Chaslus-Dancla, E., Oudar, J., "Antibiothérapie : Antibiorésistance et écologie microbienne", *Revue de la Médecine Vétérinaire* 133 n° 3, (1982), 153-167.
120. Dupont, H., "Infections à Staphylocoques", Editions scientifiques et médicales, Elsevier SAS et SFAR, (2000), 30.
121. Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie, "Communiqué 2008", Société française de microbiologie, Paris, France, (2008), <http://www.sfm.asso.fr/>.
122. Drugeon, H., "β-lactamines et staphylocoques", In: Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E., *Antibiogramme*, ESKA, Paris, (2006), 24-117.
123. Hiramatsu, K., "Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* a new model of antibiotic resistance", *Lancet Infect Dis* 1, (2001), 55-147.
124. Bismuth, R., Caillon, J., "Staphylocoques", In Courvalin, P., Goldstein, F., Philippon, A., Sirot, J., *Bactéricidie, aspects théoriques et thérapeutiques*, Paris, (1990), 187-212.
125. Leclercq, R., "Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications", *Clin Infect Dis* 15, (2002), 92-482.
126. Werckenthin, C., Cardoso, M., Martel, J.L., Schwarz, S., "Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus* and canine *Staphylococcus intermedius*", *Vet Res* 32 (3-4), (2001), 341-362.

127. Wwww. mediclim. ro : 81. (Consulté le 05 septembre 2013).
128. Fauchère, J.L., “L’antibiogramme”, Bactériofiches, Techniques en Bactériologie clinique, Edition ellipses, Paris, (1997), 31.
129. Rahal, K., Benslimani, A., Tali-Maamar, H., Missoum, M.F.K., Kechih-Boumar, S., Ammari, H., “Standardisation de l’antibiogramme à l’échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) ”, 6ème édition, (2011), 11.
130. Lina, G., Etienne, J., Vandenesch, F., “Les infections et syndromes toxiques à *Staphylococcus aureus*”, In : Mege, J., Revillard, J., Raoult, D., Immunité et infections-Concepts immunologiques et perspectives thérapeutiques, Paris, (1997), 129-140.
131. Benrabia, I., Oumouna, M., Kechih, S., “Dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) chez la dinde et le poulet de chair: portage et risque zoonotique”, Mémoire de magistère en Sciences Vétérinaires, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d’El-Harrach-Alger, (2011), 77-97.
132. Suleiman, A., Zaria, LT., Grema, H.A. and Ahmadu, P., “Antimicrobial resistant coagulase positive *Staphylococcus aureus* from chickens in Maiduguri, Nigeria”, Sokoto Journal of Veterinary Sciences Volume 11 (Number 1), Nigeria, (2013), 53.
133. Vela, J., Hildebrandt, K., Metcalfe, A., Rempel, H., Bittman, S., Topp, E. and Diarra, M., “Characterization of *Staphylococcus xylosus* isolated from broiler chicken barn bioaerosol”, Canada, (2012), 1.
134. Dordet, E.F., “*Staphylococcus xylosus* : Cartographie du génome et diversité génétique”, Thèse de doctorat en Science des Aliments, Université Blaise Pascal, France, (2007), 11, 41.

135. Menoueri, N., Richard, Y., Brunet, J., Oudar, J., "Flore bactérienne aérobie et aéro anaérobie des cavités nasales de l'agneau de bergerie", *Ann Rech Vét* 1988 19, France, (1988), 175-180.
136. Vautor, E., Abadie, G., Guibert, J.M., Chevalier, N., Pépin M., "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in dairy sheep", *Veterinary Microbiology*, Elsevier 106 (3-4), France, (2005), 9-235.
137. Richard, Y., Borges, E., Favier, C., Oudar, J., "Flores nasale et pulmonaire de la chèvre ", *Ann Rech Vét* 1989 20, France, (1989), 269-276.
138. Selva, L., Viana, D., Penadés, J.R., Corpa, J.M., "*Staphylococcus aureus* nasal carriage in rabbits", Espagne, (2008), 1079-1082.
139. Boost, M.V., O'donoghue, M.M., James, A., "Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners", *Epidemiol Infect.* 136(7), (2008), 953–964.
140. Ghernaout-Benchouk, S., "Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* : son rôle dans l'infection du site opératoire", Thèse de Doctorat En Sciences Médicales, Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, (2013), 125.
141. Gouizi, F., "Portage nasal asymptomatique des *Staphylococcus aureus* chez l'homme et leurs profils de résistance aux Antibiotiques", Mémoire de Master II en biologie, Université de Blida, 36.
142. Hamzé, M., Naja, M., Mallat, H., "Analyses biologiques réalisées chez des travailleurs dans le secteur alimentaire au nord du Liban", *La revue de Santé de la Méditerranée orientale*, Vol.14, No 6, (2008) ,1425-1434.
143. Beyrouthy, R., Hamzé, M., Hleis, S., Mallat, H., Dabboussi, F., "Panton-Valentine leukocidin producing *Staphylococcus aureus* nasal carriage, in North-Lebanon", *Médecine et maladies infectieuses*, Elsevier Masson SAS, France, (2005), 5.



144. Garcia, L.B., Prates, K. A., Torres, A.M., Sueli Fumie Yamada Ogatta S.F.Y., Cardoso, C.L., Tognim, M.C.B., “Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in university students”, Elsevier Editora Ltda, Braz J Infect Dis. 14(3), (2010), 316-318.
145. Souly, K., Ait el kadi, M., Lahmadi, K., Biougnach, H., Boughaidi, A., Zouhdi, M., Benasila, S., Elyoussefi, Z., Bouattar, T., Zbiti, N., Skalli, Z., Rhou, H., Ouzeddoun, N., Bayahia, R. and Benamar, L., “Epidemiology and prevention of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in hemodialyzed patients”, *Medecine et maladies infectieuses* 41, EMC Elsevier Masson SAS, France, (2011), 469-474.
146. Akoua-Koffi, C., Dje, K., Touré, R., Guessennnd, N., Acho, B., Faye-ketté, H., Loukou, Y.G., Dosso, M., “Portage nasal de *Staphylococcus aureus* méticillino résistant chez le personnel soignant hospitalier à Abidjan”, *Médecine tropicale* 64.2, Côte d’ivoire, (2004), 205-207.
147. Abdennebi, E.H., “Antibactériens en médecine vétérinaire”, Actes Editions, Maroc, (2006), 303.
148. Rahal, K., Aboun, A., Ammari, H., Belouni, R., Benslimani, A., Missoum, M.F.K., Tali Maamar, H., “Standardisation de l’antibiogramme en médecine vétérinaire selon les recommandations de l’OMS”, 4eme édition, (2008), 13.