

Sommaire

Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures
Résumé

Introduction

Synthèse bibliographique

1
Page

1. Le genre <i>Staphylococcus</i>	3
1.1. Historique	3
1.2. Habitat	3
1.3. Position taxonomique et classification	5
2. L'espèce <i>Staphylococcus aureus</i> : agent pathogène	8
2.1. Caractères morphologiques	8
2.2. Caractères biochimiques	9
2.3. Caractères culturels	10
2.4. Pouvoir pathogène de <i>S. aureus</i>	11
2.4.1. Facteurs de virulence	11
2.4.1.1. Composants de surface	12
2.4.1.2. Facteurs d'invasion et d'adhésion	13
2.4.1.3. Substances élaborées par <i>S. aureus</i>	14
2.5. Types d'infections	19
2.5.1. Infections suppuratives	19
2.5.2. Infections toxiques staphylococciques	20
3. Notion génétiques de <i>S. aureus</i>	21
3.1. Génome	21
3.2. Support génétique de la virulence	22
4. Résistance aux antibiotiques des <i>S. aureus</i>	22
4.1. Origine de l'antibiorésistance	23
4.2. Mécanismes de l'antibiorésistance	24
4.2.1. Résistance à la pénicilline	24
4.2.2. Résistance à la méticilline	24
4.2.3. Résistance aux aminosides	25
4.2.4. Résistance aux glycopeptides	26
4.2.5. Résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramine (MLS)	27
4.2.6. Résistance aux fluoroquinolones	29
4.2.7. Autres résistances	30
4.3. Evaluation de l'antibiorésistance	30
4.3.1. Méthodes de test de la sensibilité bactérienne	30

Matériel et méthodes

1. Rappel sur les objectifs	34
2. Durée et lieu de l'étude	34
3. Matériel	34
3.1. Matériels utilisés	34
3.2. Produits utilisés	34
3.3. Nature des échantillons	35
4. Méthodologie	35

4.1. Méthode de prélèvement	35
4.1.1. Viande fraîche	35
4.1.2. Lait de vache cru	35
4.1.3. Lait de vache pasteurisée conditionné	36
4.1.4. Pâtisseries	36
4.1.5. Plats cuisinés	36
4.2. Transport et conservation des échantillons	36
4.3. Traitement des échantillons	37
4.4. Préparation des échantillons	37
4.5.1. Prise d'essai, suspension mère	37
4.5.2. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	38
4.5.2.1. Isolement	38
4.5.2.2. Caractéristiques des colonies	38
4.5.2.3. Purification des souches isolées	38
4.5.3. Identification biochimique	39
4.5.3.1. Identification du genre	39
4.5.3.1. Identification de l'espèce	39
4.5.4. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	41
4.5.4.1. Antibiogramme	41
4.5.4.2. Antibiotiques testés	41
4.5.4.3. Application des disques d'antibiotiques	42
4.5.5. Recherches complémentaires obligatoires de la résistance de <i>S. aureus</i>	42
4.5.5.1. Recherche de la résistance de <i>Staphylococcus spp.</i> à l'oxacilline	42
4.5.5.2. Recherche de la bêta lactamase (test du trèfle)	43
4.5.5.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	44

Résultats et discussion

1. Prélèvements	46
2. Cultures des prélèvements	46
3. Taux d'isolement de <i>Staphylococcus spp</i> à partir des cultures positives	46
4. Identification de l'espèce <i>S. aureus</i>	49
5. Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon la nature des prélèvements	51
6. Test de sensibilité aux antibiotiques	54
6.1. Les souches SARM (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline)	56
6.1.1. Fréquence	56
6.1.2. Répartition des souches SARM en fonction du prélèvement	57
7. Résistance des SARM aux autres antibiotiques	61
7.1. Fréquence de la résistance	61
7.2. Phénotype de résistance des SARM	61
8. Les souches SASM (<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méthicilline)	64
8.1. Fréquence	64
8.2. Répartition des SASM en fonction du prélèvement	64
8.3. Résistances des SASM aux autres antibiotiques	64
8.4. Phénotype de résistance des SASM	68
8.5. Mécanisme de résistance des souches SASM	71
Conclusion	72
Références bibliographiques	74
Annexe	

Résumé

Occurrence et profil d'antibiorésistance

des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires

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

Objectifs : Estimer la prévalence des *S. aureus* dans différents aliments et évaluer leurs sensibilités vis-à-vis de 20 antibiotiques.

Méthodes : L'isolement de *S. aureus* a été effectué à partir de différents produits alimentaires. L'identification des souches a été réalisée par le test de coagulase et l'API staph. Le profil de résistance des isolats a été étudié par rapport à leur sensibilité à une vingtaine d'antibiotiques par la technique standard de diffusion de l'antibiotique en gélose. L'évaluation des CMI, a été effectuée par la technique de dilution en milieu solide pour l'oxacilline, et par E-test pour la tétracycline et le chloramphénicol.

Résultats : Sur les 107 échantillons analysés, 56 (52,33%) étaient contaminés par *S. aureus* avec une incidence élevée dans le lait cru de vache (70 %), les plats cuisinés (55%) et les viandes crues (50%). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré des isolats SARM présentant un taux de résistances 100% à l'acide nalidixique, 87,03% à la bacitracine, 62,96% à la pénicilline G, 35,15% à la fosfomycine, 29,62% à l'acide fusadique, 25,92% à l'érythromycine, 18,51% à la kanamycine, 14,81% à la tétracycline, 5,55% à la spiramycine et lincomycine. Au total, nous avons noté 26 différents phénotypes de résistance dont 45 souches avaient une résistance à au moins trois antibiotiques. Deux souches SARM (3,57%) étaient détectées. Le caractère multirésistant des deux SARM est confirmé par une résistance à toutes les bêta lactamines, aux macrolides où le profil de résistance est de phénotype MLS_B constitutif pour les deux souches ainsi, aux aminosides avec le phénotype K pour l'une et le phénotype KT pour l'autre. Aucune résistance parmi nos isolats vis-à-vis de la vancomycine, le chloramphénicol, la gentamycine et la pristamycine.

Conclusion : la prévalence élevée et la multirésistance des *S. aureus* est devenue remarquablement répandue dans les aliments. Cela nécessite la mise en œuvre d'une stratégie active, efficace où la sécurité microbiologique des aliments doit être garantie afin d'éviter la propagation de résistance aux antimicrobiens par ces micro-organismes.

Mots clés: *Staphylococcus aureus*, occurrence aliments, résistance aux antibiotiques, E-test, CMI.

ترددات ونمط المقاومة المتعددة للمكورات العنقودية

الذهبية (*Staphylococcus aureus*) في الأطعمة الغذائية

العديد من الدراسات التي تمت بشأن المكورات العنقودية الذهبية تبرر بالدور الكبير الذي تلعبه هذه البكتيريا في الأمراض المعدية للإنسان و الحيوان. ظهور المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية تعد مشكلة رئيسية للصحة في العالم بسبب الترددات المتزايدة والتي تتسبب في مآزق علاجية في المستقبل القريب.

الأهداف: تقدير معدل انتشار المكورات العنقودية الذهبية في مختلف الأطعمة وتقييم حساسيتها لعشرون مضاد حيوي.

الطريقة: عزل المكورات العنقودية الذهبية لمختلف المنتجات الغذائية حيث يتم تحديد السلالات العنقودية باختبار التخثر و API العنقودية.

تحليل النمط الظاهري للسلالات المعزولة بواسطة اختبار الحساسية للمضادات الحيوية عن طريق تقنية انتشار المضاد الحيوي في الوسط الصلب. تم تقييم CMI بواسطة اختبار التخفيف في الوسط الصلب للـ oxacilline و اختبار

E- test للـ chloramphénicol , tétracycline.

النتائج: في 107 عينة تم تحليلها 56 (52.33%) كانت مصابة بالمكورات العنقودية الذهبية مع تسجيل نسبة عالية في حليب البقرة الخام (70%) ، الأطعمة المعدة (55%) واللحوم النيئة (50%) وقد أظهرت دراسة الحساسية للمضادات الحيوية ، 54 سلالات حساسة للـ methicilline (SASM) بترددات مقاومة (100%) للـ acide nalidixique ، (87.03%) للـ bacitracine ، (62.96%) للـ pénicilline G ، (35.15%) للـ fosfomycine ، (25.92%) للـ erythromycine ، (18.51%) للـ kanamycine ، (14.81%) للـ tetramycine ، (5.55%) للـ lincomycine و spiramycine.

وجد 26 نمط ظاهري مختلف و45 سلالة مقاومة على الأقل لثلاثة (03) مضادات حيوية. تم تسجيل سلالتين (3.75%) من المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للـ mithicilline (SARM) تم التأكد من مقاومة هاتين السلالتين لكل من عائلة les betalactamines ، بالنسبة للنمط الظاهري لعائلة les macrolides سجل النمط الظاهري MLS_B تأسيسي لكل من السلالتين، بالنسبة لعائلة les aminosides سجل النمط الظاهري K بالنسبة لسلالة واحدة و KT للأخرى. لم يتم تسجيل أي مقاومة بالنسبة للـ chloramphénicol ، vancomycine ، gentamycine و pristamycine من قبل السلالات المعزولة.

الخلاصة: إن ارتفاع معدل انتشار المكورات العنقودية الذهبية المتعددة المقاومة أصبح على نطاق واسع في الأطعمة وهذا بشكل ملحوظ. مما يتطلب تنفيذ استراتيجية نشيطة، حيث يجب ضمان سلامة الأغذية من أجل منع إنتشار مقاومة المضادات الحيوية من قبل هذه الكائنات الحية الدقي

الكلمات المفتاحية: المكورات العنقودية الذهبية ، الغذاء ، مقاومة المضادات الحيوية ، اختبار CMI•E-test .

Abstract

Occurrence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from various foods

Many studies on *Staphylococcus aureus* take an important part in human and veterinary infectious diseases. The resurgence of multiple resistances to antimicrobial agents constitutes a major problem on public health in the world causing and increasing therapeutic impasses in the near future.

Aims: To estimate the prevalence of *Staphylococcus aureus* in various foods and evaluating their sensitivity against 20 antibiotics screws.

Methods: The isolation of *Staphylococcus aureus* was performed from various food products. Identification of strains was carried out by the coagulase test and the API Staph. Phenotypic analysis of isolates was tested for their sensitivity (twenty antibiotics) by the standard technique of diffusion of the antibiotic agar. The evaluation of MIC was done by the dilution technique on solid medium for oxacillin, and E-test for tetracycline and chloramphenicol.

Results: In 107 samples analyzed, 56 (52.33%) were infected with *Staphylococcus aureus* with a high incidence in raw cow's milk (70%), prepared foods (55%) and raw meats (50%). The study of the sensitivity to antibiotics has shown isolates SASM with a rate of 100% resistant to acid nalidixique, 87.03% to bacitracin, 62.96% to penicillin G, 35.15% to fosfomycin, 29.62% to fusadique acid, 25.92% to erythromycin, kanamycin 18.51%, 14.81% to tetracycline, 5.55% to spiramycin and lincomycin. In total, we found 26 different resistance phenotypes and 45 strains were resistant to at least three antibiotics. Two MRSA strains (3.57%) were detected and the character of the two multiresistant MRSA was confirmed. This resistance is crossed with all betalactams and their resistance profile to macrolides is constitutive MLSB phenotype of the two strains to aminoglycosides (one strain phenotype is K and the other KT phenotype). There is none resistance to vancomycin, chloramphenicol, gentamicin and pristamycine among our isolates.

Conclusion: the high prevalence and multiple resistances of *S. aureus* became remarkably widespread in food. This requires the implementation of an active strategy where microbiological food safety must be ensured in order to prevent the spread of antimicrobial resistance by these microorganisms.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, foods, milk, meats, Antimicrobial resistance, E-test, CMI technique

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie fondamentale et appliquée à l'université d'Esénia ORAN et au laboratoire d'hygiène et pathologies animales à l'université d'IBN KHALDOUN Tiaret.

Je remercie Monsieur KIHAL Mabrouk, Professeur à l'Université d'Oran, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je tiens à remercier toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire et plus particulièrement au directeur de ma thèse Monsieur SAIDI Nourddine que je remercie infiniment d'avoir accepté de m'encadrer.

Je souhaite également exprimer ma profonde reconnaissance et mes remerciements à Monsieur AGGAD Hebib, co-directeur de la thèse, qui a accepté de m'accueillir dans son équipe pour préparer ma thèse, pour sa constante disponibilité et ses conseils.

Je remercie également Mm BENLAHCEN et Mr HADADJI d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je ne saurais oublier tout le personnel du Laboratoire d'hygiène et pathologie animales sans oublier le personnel du laboratoire de microbiologie appliquée.

En fin à tout personne qui à participer de loin ou de près à l'élaboration de ce projet.

Liste des abréviations

ADN:	Acide DésoxyribonNuccléique
Agr :	accessory gene regulator
ARNr :	Acide ribonucléique
ATCC :	American Type Culture Collection
CASFM :	Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CC:	Culture Contaminée
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm :	centimètre
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
°C :	Degré Celsius
g :	gramme
IgG :	Immunoglobuline G
ISO:	International Organisation for standarization
kDa :	Kilo dalton
ml :	millilitre
mm :	millimètre
NA :	Norme Algérienne
Nb:	Nombre
NCCLS:	National Committee for Clinical Laboratory Standard
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
Pb :	paire de base
Peni:	Pénicilline
PLP:	Protéines Liant la Pénicilline
PM :	Poid Moléculaire
PSE :	Peptone,Sel, Eau
SARM:	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline
SASM:	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méthicilline
spp :	species pluralis (latin)
subsp:	subspecies
TSST-1:	Toxic Shock Syndrome Toxin -1
UI:	Unité Internationale
µg :	microgramme
β-lactamines:	bêta-lactamines

Liste des figures

-Synthèse bibliographique-

- Figure 1** : Observation microscopique des Staphylocoques 9
Figure 2 : Facteurs de virulence de *S.aureus*.....11

-Résultats et discussion-

- Figure 3**: Répartition globale des prélèvements selon leur nature.....47
Figure 4: Aspect des colonies de *S. aureus* sur milieu Baird Parker48
Figure 5: Aspect des colonies de *S. aureus* sur milieu Chapman.....48
Figure 6: Mise en évidence de la coagulase libre chez les staphylocoques.....50
Figure 7: en évidence de la DNase chez les staphylocoques.....50
Figure 8: Mise en évidence des caractères biochimique par API STAPH.....51
Figure 9: Répartition des souches de *S. aureus* en fonction des prélèvements.....52
Figure10: Test de la recherche de la résistance à l'oxacilline chez *S. aureus*.....56
Figure 11: Résultat de la microdilution sur milieu solide vis-à-vis de l'oxacilline....58
Figure 12 : La CMI de SARM vis-à-vis de la Tétracycline.....62
Figure 13: La CMI de SARM vis-à-vis du Chloramphénicol.....62
Figure 14 : Répartition des SASM en fonction des prélèvements.....65
Figure 15: Fréquence de résistance des SASM aux antibiotiques.....66
Figure 16: La CMI d'une souche SASM.....68
Figure 17: Souche SASM présentant une multirésistance.....70
Figure 18 : Production de β -lactamase chez *S. aureus* (Test de trèfle).....70

Liste des tableaux

-Synthèse bibliographique-

Tableau 1 : Présentation des espèces qui constituent le genre <i>Staphylococcus</i>	6
Tableau 2 : Les principaux caractères permettant de différencier les espèces et les sous espèces du genre <i>Staphylococcus</i> produisant ou pouvant produire une coagulase.....	7
Tableau 3 : Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux aminosides.....	26
Tableau 4 : Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux macrolides et apparentés.....	29

-Résultats et discussion-

Tableau 5 : Répartition des prélèvements selon leur nature.....	47
Tableau 6 : Répartition des prélèvements selon leur culture.....	47
Tableau 7: Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i>	50
Tableau 8: Répartition des souches de <i>S. aureus</i> en fonction des prélèvements.....	52
Tableau 9 : Sensibilité des isolats de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....	55
Tableau 10: Répartition des souches SARM en fonction des prélèvements.....	58
Tableau 11 : Phénotype de résistance des SARM vis-à-vis des macrolides.....	63
Tableau 12: Phénotype de résistance des SARM vis-à-vis des aminosides.....	63
Tableau 13 : Répartition des SASM en fonction des prélèvements.....	65
Tableau 14 : Fréquence de résistance des SASM aux antibiotiques.....	66
Tableau 15: Phénotypes de résistance des souches SASM aux antibiotiques.....	69
Tableau 16 : Phénotype de résistance des SASM vis-à-vis des macrolides.....	71
Tableau 17 : Phénotype de résistance des SASM vis-à-vis des aminosides.....	71

Liste des annexes

Annexe I : Composition des milieux de culture.

Annexe II :- Antibiotiques testés sur les souches de *S. aureus*.

- Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus*.
- Préparation de la gamme de concentrations d'antibiotiques en milieu solide.
- Valeurs critiques des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Introduction

Introduction

Les aliments ne peuvent jamais être entièrement sûrs. La sécurité alimentaire est toujours menacée par de nombreux agents pathogènes responsables d'une variété de maladies. (Beleneva, 2011).

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

À ce jour, 250 différentes maladies d'origine alimentaire sont décrites et les bactéries sont les agents responsables de deux tiers des épidémies de ces maladies (Bhatia et Zahoor, 2007). Parmi les bactéries prédominantes impliquées dans ces maladies, *Staphylococcus aureus*, reconnu dans le monde entier comme un important agent pathogène polyvalent à l'homme et l'animal, provoquant ainsi une grande variété de maladies, allant de la sévérité de l'intoxication alimentaire (McCormick *et al.*, 2001; Le Loir *et al.*, 2003), le syndrome du choc toxique, à des infections moins graves, comme les furoncles (Lowy, 1998).

En dépit de sa pathogénicité, *S. aureus* est également hébergé dans les narines de 20-30% de personnes en bonne santé, alors qu'environ 60% de la population héberge le micro-organisme par intermittence (Kluytsman *et al.*, 1997).

S. aureus est présent de même sur la peau et les muqueuses des animaux producteurs de denrées alimentaires, tels que les ruminants où il est fréquemment associé aux mammites subcliniques conduisant à la contamination du lait et ses dérivés (Jablonsky et Bohach, 1997).

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

L'utilisation répandue d'antibiotiques a accentué l'émergence de souches multirésistantes, ce qui rend plus difficile son éradication. La multi-résistance de *S. aureus* est assez commune dans les milieux hospitaliers et les fermes (Livermore, 2000; Sakoulas et Moellering, 2008) ; où elle fut détectée chez les animaux (Lee, 2003) et les aliments comme la viande (Normanno *et al.*, 2007; Pesavento *et al.*, 2007), le lait et ses produits (Gundogan *et al.*, 2006 ; Peles *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2009) ainsi que les produits de la pêche (Beleneva, 2011).

Pour ces nombreuses raisons, cette bactérie de nos jours fait l'objet d'une étude pointilleuse dans des domaines multidisciplinaires tels: la biologie moléculaire, biologie cellulaire, phylogénie, génétique évolutive, etc.

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

Une telle situation nous a convaincu à étudier l'état actuel de ce microorganisme, étant donné qu'en Algérie, peu de publications sont réalisées sur ce sujet, surtout dans le domaine alimentaire.

Dans ce travail on a réalisé une analyse phénotypique des souches de *S. aureus* isolées de différents aliments durant une période de 8 mois au niveau du laboratoire d'hygiène et de pathologies animales de l'Université de Tiaret et du laboratoire de microbiologie fondamentale et appliquée, Université d'Oran.

La prévalence croissante de *S. aureus* multirésistant aux médicaments, et qui limite les options thérapeutiques disponibles pour le traitement des infections associées à ce pathogène est devenue une question préoccupante dans le monde entier. Par conséquent, la détermination de la sensibilité ou de la résistance des souches aux antibiotiques est très importante sur le plan clinique et économique. Cependant les souches isolées étaient caractérisées en fonction de leur résistance à un panel d'antibiotiques puis la concentration minimale inhibitrice était évaluée via deux méthodes : la technique des E-test et celle de la dilution sur milieu gélosé.

L'étude réalisée sera principalement centrée sur ses deux groupes de *S. aureus* : les souches résistantes à la méthicilline SARM et les souches sensibles à la méthicilline ou SASM.

L'objectif de cette étude consiste donc à :

- isoler et identifier des souches de *S. aureus* dans différents aliments ;
- étudier la résistance des souches de *S. aureus* vis-à-vis de certaines familles d'antibiotiques ;
- déterminer la distribution des souches SARM et SASM dans les aliments, ainsi que le pourcentage de résistance aux antibiotiques;
- mettre en évidence le caractère multirésistant des souches selon leur profil de sensibilité aux familles d'antibiotiques ;
- évaluer la CMI.

Etude bibliographique

1. Le genre *Staphylococcus*

1.1. Historique

Les premières descriptions des staphylocoques (bactéries en forme de coques) isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (Fasquelle, 1974 ; Karthik, 2007).

Plus tard; en 1883, Ogston crée le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* (Spicer, 2003 ; Breche, 1988 ; Stephen et Hawkey, 2006).

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) (Avril *et al.*, 1992 ; Karthik, 2007).

En 1885, Zopf a placé Les staphylocoques et les microcoques dans le genre *Micrococcus*, séparés par la suite par Flugge, Evans, Bradford et Niven (1955) qui classent les cocci anaérobies facultatifs et aérobies dans le genre *Staphylococcus* et *Micrococcus*, respectivement. Cette classification est basée sur leur action vis-à-vis de la gélatine et le test d'oxydation –fermentation du glucose. Une nette distinction basée sur la composition de l'ADN entre les deux genres a été proposée par Silvestri et Hillen (1965). Le pourcentage en bases G+C de l'ADN des microcoques est de 63-73%, comparé à ce lui des staphylocoques 30-39%, indiquant qu'il n'existe pas de relation entre les deux genres (Stephen et Hawkey, 2006).

1.2. Habitat

Il s'agit de germes ubiquitaires, les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (Quinn *et al.*, 2011 ; Nagase *et al.*, 2002).

Chez l'homme, les staphylocoques en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore résidente cutanée de nombreux individus qui sont des «porteurs asymptomatiques».

Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière de colonisation, empêchant l'implantation de bactéries de la flore transitoire (Wylie *et al.*, 2005 ; Hirsh *et al.*, 2004).

Cependant, l'habitat préférentiel de *S. aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. Il existe 3 statuts de portage nasal de *S. aureus* : Environ 20% de la population est porteuse de manière permanente (porteurs persistants), environ 60% sont porteurs de manière intermittente, avec des souches qui varient au cours du temps, et 20% ne sont pratiquement jamais porteurs (Flandrois, 1997 ; Eveillard, 2007). La distinction entre porteurs permanents et intermittents est importante. En effet, les porteurs permanents ont une densité bactérienne plus élevée et un risque plus important d'infection. De plus, les techniques de typage moléculaire ont montré que les porteurs persistants sont souvent colonisés avec la même souche alors que les porteurs intermittents sont colonisés, à différents moments, avec des souches génétiquement différentes (Vandenbergh *et al.*, 1999).

Les mécanismes impliqués dans le portage nasal sont encore mal compris. Ils font intervenir des facteurs liés à l'hôte, des facteurs bactériens et des facteurs environnementaux (Kluytmans *et al.*, 1997; Nouwen *et al.*, 2001).

Les souches de *S. aureus* sont présentes également sur les membranes muqueuses du tractus respiratoire ainsi que le tractus urogénital et comme flore transitoire dans le tractus digestif (Quinn *et al.*, 2011). Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, tels que la dessiccation (ils survivent plusieurs mois dans des produits pathologiques desséchés), aux variations de température (ils résistent 2 h à 55° C, voire 1 h à 60° C), au choc osmotique (salinité de l'eau) et résistent encore mieux en milieux albumineux (Breche *et al.*, 1988).

Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières (l'air), l'eau et dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) (Shimeld et Rodgers, 1999).

1.3. Position taxonomique et classification

Selon la classification de Garrity *et al* (2007) ; Le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des Firmicutes constitué de quatre classes : *Clostridia*, *Mollicutes*, *Bacilli*, *Togobacteria*. La classe des *Bacilli* est constituée de deux ordres: *Bacillales* et *Lactobacillales*, dont chacun est divisé en quatre familles; *Staphylococcaceae* constitue la 4^{ème} famille des *Bacillales*, celle-ci comprend un seul genre: *Staphylococcus* (GC% 30-39%). Le genre *Staphylococcus* occupe une place très importante en pathologie humaine et animale.

La taxonomie du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs grâce au développement du séquençage d'ARNr 16S, on distingue plus de quarante espèces de *Staphylococcus* dont 24 sous espèces comme il est indiqué dans le tableau 1 (Alomar, 2007). Un certain nombre d'entre elles sont trouvées chez l'homme, d'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (viandes, produits laitiers, etc...) (Avril *et al.*, 1992 ; Quinn *et al.*, 2011).

Parmi les espèces retrouvées chez l'homme, trois espèces occupent une place privilégiée *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*, les autres sont rarement impliquées en pathologie humaine. Le genre *Staphylococcus* est séparé en deux groupes sur la base de la présence de la coagulase (Alomar, 2007).

Le groupe des *Staphylococcus* à coagulase négative avec 33 espèces dont la majorité ne présente pas de risque sanitaire telles que *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus sciuri* isolés de lait ou de fromage (Morea *et al.*, 1999 ; Blaiotti *et al.*, 2004). D'autres espèces telles que *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* sont impliquées dans les infections nosocomiales (Freney *et al.*, 1999).

Le groupe des *Staphylococcus* à coagulase positive est constitué de 7 espèces identifiées à *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus delphini*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus lutrae*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus schleiferi* (tableau 2). Celles-ci peuvent être impliquées dans des infections humaines (Avril *et al.*, 1992 ; Quinn *et al.*, 2011).

Tableau 1 : Présentation des espèces du genre *Staphylococcus* (Krieg et Holt, 1984).

Espèces	présence en produits alimentaires	Risque ou intérêt
Staphylococcus a coagulase positive		
<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	Lait, fromage, viande	Pathogène
<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	Lait	
<i>S. delphini</i>	Lait	
<i>S. hyicus</i> subsp. <i>chromogenes</i>	Lait	
<i>S. hyicus</i> subsp. <i>hyicus</i>	Lait	
<i>S. intermedius</i>	Lait, fromage, viande	
<i>S. lutrae</i>		
<i>S. pseudintermedius</i>		
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	Lait	
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	Lait	
Staphylococcus coagulase négative		
<i>S. arlettae</i>	Lait	
<i>S. auricularis</i>	Lait, fromage, viande	
<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	Lait, viande	
<i>S. capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i>	Lait	
<i>S. caprae</i>	Lait, viande	
<i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	Saucisson, Mozzarella	Ferment
<i>S. carnosus</i> subsp. <i>utilis</i>	Lait	
<i>S. caseolyticus</i>		
<i>S. chromogenes</i>		
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	Lait, fromage	
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticus</i>		
<i>S. condimentii</i>		
<i>S. epidermidis</i>	Lait, fromage, Saucisson	Ferment
<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>	Lait, fromage, Saucisson	
<i>S. equorum</i> subsp. <i>linens</i>	Lait, fromage	
<i>S. felis</i>		
<i>S. fleurettii</i>	Lait, fromage	
<i>S. gallinarum</i>	Fromage	
<i>S. haemolyticus</i>	Lait, viande	
<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	Lait	
<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>		
<i>S. kloosii</i>		
<i>S. lentus</i>	Lait, fromage	
<i>S. lugdunensis</i>	Lait	
<i>S. muscae</i>		
<i>S. nepalensis</i>		
<i>S. pasteurii</i>	Saucisson	
<i>S. piscifermentans</i>	Poisson	
<i>S. pulvereri</i>	Saucisson	
<i>S. saccharolyticus</i>		
<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	Lait, fromage, Saucisson	
<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>		
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i>	Lait	
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>	Lait, fromage	
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i>		
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>lentus</i>	Lait	
<i>S. simiae</i>		
<i>S. simulans</i>	Lait	
<i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>		
<i>S. succinus</i> subsp. <i>Succinus</i>	Saucisson	
<i>S. vitulinus</i>	Saucisson	
<i>S. warneri</i>	Lait, saucisson	
<i>S. xylosum</i>	Lait, fromage, viande, saucisson	Ferment

Tableau 2 : principaux caractères permettant de différencier les espèces et les sous espèces du du genre *Staphylococcus* produisant ou pouvant produire une coagulase (Fuente *et al.*, 1985 ; Devriese *et al.*, 2005 ; Alomar , 2007).

<i>Souches</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
Catalase	+	-	+	+	+	+	+	+
Clumping factor	+	-	-	-	d	-	-	-
Croissance en aérobie	+	-	+	+	+	+	+	+
Pigmentation possible des colonies	+	-	-	-	-	-	-	-
Réduction des nitrates	+	-	+	+	+	+	+	+
DNase thermostable	+	+	-	+	+	+	+	+
Hémolyse	+	+	+	-	d	+	+	+
Production d'acétyl-méthyl-Carbinol (VP)	+	-	-	-	-	-	+	+
béta -galactosidase	-	-		-	+	+	+	d
D-galactose*	+	-	Nd	+	+	+	+	+
D-mannitol*	+	-	+	-	d	+	+	d
Saccharose *	+	+	+	-	+	Nd	+	Nd
D-tréhalose *	+	-	-	+	+	+	+	d
D-ribose*	+	-		+	+		+	-
D-xylose*	-	-	-	-	-	+	-	-
Resistance à 8µg/ml d'acriflavine	+	Nd	-	-	-	-	-	-
Résistance à la Polymixine B	+	Nd	-	+	-	-	-	-

+: >90% des souches positives; -: >90% des souches négatives ; **d** = entre 11 et 89% des souches sont positives ; **Nd** = non déterminé ; * = Acidification en aérobiose.

1. S. aureus subsp. aureus ; 2. S. aureus subsp. anaerobius ; 3. S. delphini ; 4. S. hyicus ; 5. S. intermedius ; 6. S. lutrae ; 7. S. pseudintermedius ; 8. S. schleiferi subsp. coagulans.

2. L'espèce *Staphylococcus aureus*: agent pathogène

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* est la première cause d'infection bactérienne à travers le monde (Corne, 2004). Les infections à *S. aureus* sont très polymorphes, allant d'atteintes cutanées bénignes comme les furoncles ou les panaris à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies, les intoxications alimentaires et les infections du système nerveux central (Lowy, 1998).

2.1. Caractères morphologiques

A l'examen microscopique, les *Staphylococcus aureus* se présente sous l'aspect de cocci sphériques de 1µm de diamètre, à coloration de Gram positive, immobiles, non sporulés. La grande majorité des souches sont capsulées *in vivo* mais perdent progressivement leur capsule en culture, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudocapsule (Fauchere et Avril, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004).

Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin" (Ananthanarayan et Paniker, 2006). Alors qu'en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en générale de 3 à 5 éléments) (Le Loire *et al.*, 2003). Examinés sur lames, après avoir été isolés d'une gélose, l'aspect en mosaïque est habituel (Figure 1).

2.2. Caractères biochimiques

Toutes les souches de *S. aureus* ont un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, produisent une coagulase, une nucléase thermostable et une catalase mais pas d'oxydase (Ananthanarayan et Paniker, 2006). Les *S. aureus* sont: indole -, acétone +, uréase +, VP +, MR +, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Fasquelle, 1974 ; Le Minor et Verron, 1990 ; Freney *et al.*, 1999).

La plupart des souches sont lipolytiques produisant une zone opaque lorsqu'elles sont cultivées dans des milieux contenant le jaune d'œuf (Ananthanarayan et Paniker, 2006). La paroi cellulaire des staphylocoques est résistante au lysozyme et sensible au lysostaphine, qui clive spécifiquement les ponts pentaglycine de *Staphylococcus* spp (Le Loire *et al.*, 2003).

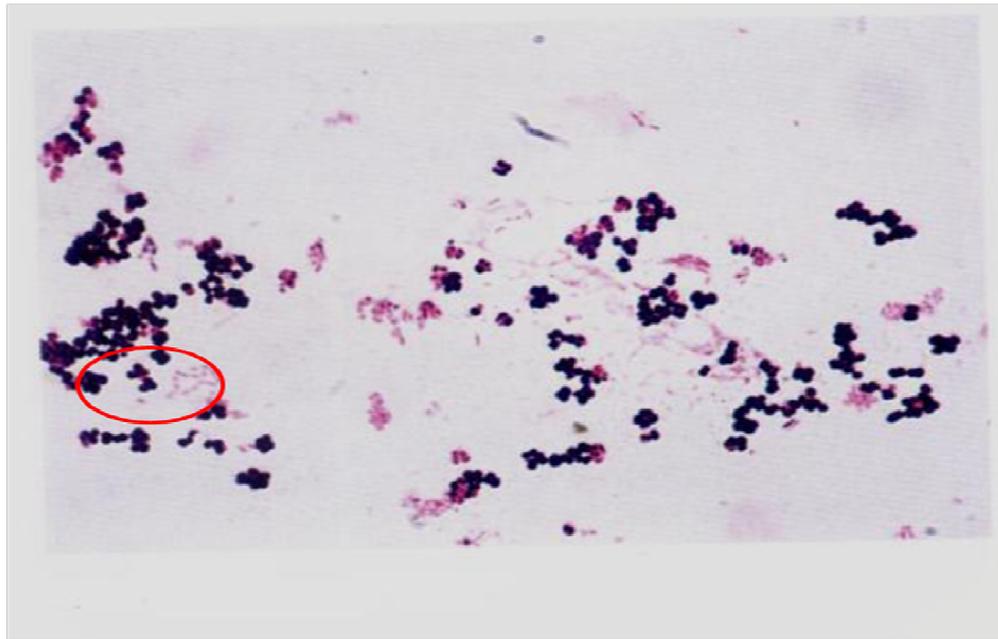


Figure 1 : Observation microscopique des Staphylocoques (Spicer ,2003)

De plus, les souches de *S. aureus* contrairement aux autres espèces produisent de l'hémolyse bêta, caractéristique utile lorsqu'on cherche à identifier un staphylocoque (Couture, 1990).

S. aureus est capable de dégrader de nombreux substrats glucidiques, protéiques et lipidiques grâce à son équipement enzymatique (Ferron, 1984).

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés (glucose, saccharose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol. (Couture ,1990 ; Guiraud et Rosec, 2004).

Cependant, la production de pigments (caractères culturels), d'hémolyse et la dégradation du mannitol; ce sont des indices auxquels on ne peut se fier pour identifier le germe de façon certaine. Il faut donc procéder à son identification par l'étude de différentes propriétés biologiques et biochimiques (Fasquelle, 1974).

Globalement, l'espèce *S. aureus* peut être différenciée des autres staphylocoques par la présence simultanée d'une coagulase libre et d'une DNase thermostable (Fauchere et Avril, 2002 ; Couture, 1990).

2.3. Caractères cultureux

Staphylococcus aureus sont des germes peu exigeants sur le plan nutritif et tolèrent de grandes variations (Guiraud et Rosec, 2004), se cultivent facilement sur milieux usuels simples en aérobie comme anaérobiose dans des températures de 7 °C à 48.5 °C avec un optimal de 30 °C à 37 °C et un pH de 4.2 à 9.3 avec un optimal de 7 à 7.5 (Le Loire *et al.*, 2003 ; Bhatia et Zahoor, 2007 ; Di Giannatale *et al.*, 2011). Il est capable de se multiplier dans des milieux contenant 5 à 10% de NaCl. Ces caractéristiques confèrent à *S. aureus* la capacité de coloniser une grande variété d'aliments (Bhatia et Zahoor, 2007).

En milieu liquide, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide (Ananthanarayan et Paniker, 2006).

Sur milieux solides, Les colonies observées après 24 heures d'incubation sur gélose ordinaire sont larges (2-4 mm de diamètre) circulaires, légèrement bombées lisses, luisantes. La pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune ou jaune orangé (Denis et Poly, 2007 ; Flandrois, 1997 ; Ananthanarayan et Paniker, 2006).

Sur gélose au sang, les souches typique de *S. aureus* peuvent produire des colonies de grand diamètre que celles produites sur gélose nutritive et de couleur jaune doré, entourées d'une hémolyse bêta (Couture, 1990 ; Denis et Poly, 2007). *S. aureus* peut également être cultivé en milieu sélectif tel que : Le milieu Chapman, milieu gélosé hypersalé (7.5 % de Na Cl) qui contient du mannitol, il permet une culture abondante de *S. aureus* après une incubation de 24-48 heures. Les colonies sont alors entourées d'un halot jaune puisqu'elles fermentent le mannitol. La pousse sur ce milieu ne constitue qu'une indication puisque d'autres germes tel que les entérocoques ou les Proteus, peuvent cultiver dessus.

Par contre, en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le staphylocoque, le milieu de Baird Parker est utilisé. Il est à base de tellurite de potassium et de jaune d'œuf. *S. aureus* s'y présente sous forme de colonies noires (réduction du tellurite) avec un halo claire autour (protéolyse) (Ananthanarayan et Paniker, 2006 ; Denis et Poly, 2007).

2.4. Pouvoir pathogène de *S. aureus*

La pathogénie de *S. aureus* est un phénomène complexe, faisant intervenir une multitude de facteurs de virulence. C'est l'action combinée de l'ensemble de ces facteurs qui explique le fort pouvoir pathogène de cette bactérie et la multitude de maladies humaines qu'elle provoque (Hiron, 2007).

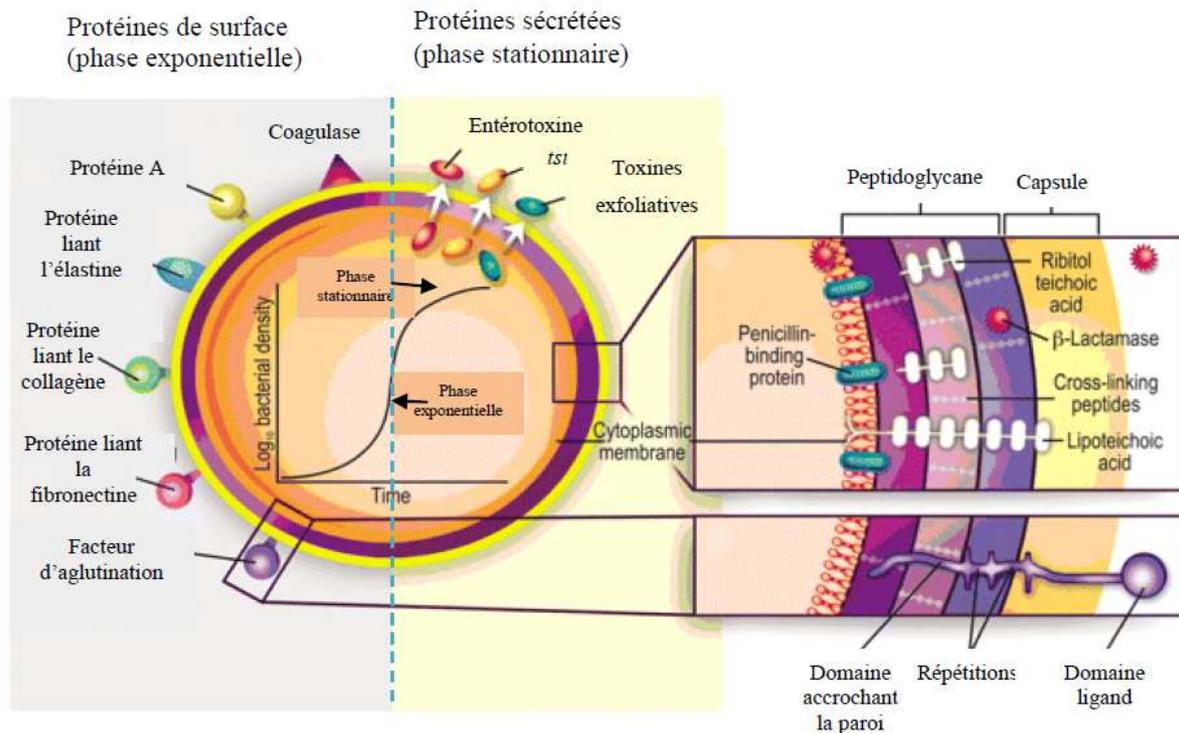


Figure 2 : Facteurs de virulence de *S. aureus* (Gordon *et al*, 2008)

2.4.1. Facteurs de virulence

Pratiquement toutes les souches de *Staphylococcus aureus* expriment de nombreux facteurs de virulence potentiels qui contribuent à la pathogénicité du germe, en produisant des enzymes et des cytotoxines (Todar, 2005) qui permettent en particulier de convertir les tissus locaux de l'hôte en nutriments nécessaires à la croissance bactérienne : il s'agit d'hémolysines, de nucléases, de protéases permettant une pénétration des tissus et une adhésion sélective, mais aussi des lipases, des hyaluronidases et des collagénases (Dinge *et al.*, 2000 ; Nehal *et al.*, 2010). Certaines souches produisent une ou plusieurs exoprotéines : la toxine-1 du syndrome du choc toxique (TSS-1), des entérotoxines (SE), des toxines exfoliatives (ET) qui affectent les cellules du système immunitaire ou le TSST-1 et les entérotoxines staphylococciques sont considérées

comme des toxines pyrogènes super antigènes (PTSAgs) (Dinges *et al.*, 2000 ; Thomas *et al.*, 2007; Zhang, 2011) (Figure 2).

2.4.1.1. Composants de surface

S. aureus exprime un certain nombre de facteurs qui ont le potentiel d'interférer avec les mécanismes de défense de l'hôte. Cela comprend des éléments à la fois structurelle et solubles de la bactérie (Nehal *et al.*, 2010).

- **Exopolysaccharides capsulaires**

L'interaction de *S. aureus* avec son hôte dépend fortement de ses propriétés de surface. La majorité des isolats de *S. aureus* expriment un polysaccharide de surface. Cela a été appelé une microcapsule, car elle peut être visualisée que par microscopie électronique à la différence des capsules vraies de certaines bactéries qui sont facilement visualisés en microscopie optique (Todar, 2009). La capsule polysaccharidique est exprimée durant la phase de croissance post-exponentielle (O'riordan et Lee, 2004). Une classification de ces polysaccharides en 11 sérotypes capsulaires a été proposée dont les types 5 et 8 représentent 75 % des infections humaines.

La plupart des isolats de *S. aureus* résistants à la méthicilline sont de type 5 (Lowy, 1998). Les souches de *S. aureus* isolées d'infections expriment des niveaux élevés du polysaccharide, mais perdent rapidement la capacité lorsqu'elles sont cultivées en laboratoire (Timothy, 2008). La fonction de la capsule dans la virulence n'est pas entièrement claire, bien qu'elle faciliter l'adhérence de la bactérie aux cellules endothéliales (Pöhlmann-Dietze *et al.*, 2000), la capsule est capable d'interférer avec la phagocytose des *S. aureus* (Thakker *et al.*, 1998) et pourrait masquer les antigènes de la paroi cellulaire (Risley *et al.*, 2007), et confère à la bactérie une forme de résistance vis-à-vis des antibiotiques (Deverrière, 2007).

- **Acides teichoïques (polysaccharide A)**

Ce sont des polymères linéaires de ribitol ou de glycérol, représentant environ 40 % du poids de la paroi bactérienne, unis par des liaisons phosphodiester et substitués selon les cas par de la N-acétylgalactosamine. Les acides glycérol-teichoïques sont trouvés chez les staphylocoques, sauf chez *S. aureus*, *S. xylosus* et *S. saprophyticus* qui possèdent de l'acide ribitol-teichoïque; le substituant le plus fréquent est la N-acétylglucosamine. Les acides teichoïques de *S. aureus* sont aussi appelés polysaccharides A. Ce sont des médiateurs cellulaires

importants dans les processus inflammatoires qui caractérisent les réponses immunes en réaction aux infections à bactérie à Gram positif (Karthik, 2007).

Les acides teichoïques jouent un grand rôle dans les interactions entre bactéries et cellules et dans la fixation des bactériophages. Ils sont impliqués dans l'activation du complément et l'adhésion aux surfaces muqueuses et favorisent ainsi la colonisation (Aly et Levit, 1987).

- **Peptidoglycane**

Chez *S. aureus*, la production de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infections locales (abcès, infections articulaires) provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines (IL-1, IL-6, IL-8 et TNF alpha) qui, en grande quantité, provoquent des lésions tissulaires et une hyperthermie (Garrity *et al.*, 2007 ; Avril *et al.*, 2003) (Figure 2).

2.4.1.2. Facteurs d'invasion et d'adhésion

Les cellules de *S. aureus* expriment à leur surface des protéines qui favorisent l'attachement à l'hôte fonctionnant comme des adhésines qui sont ancrées dans le peptidoglycane. Ces adhésines peuvent jouer un rôle dans la colonisation de l'hôte et au cours de la maladie invasive (Stephan *et al.*, 2006). Cinq protéines ont été caractérisées :

- **Protéine A**

Il s'agit d'une protéine (PM 42 kDa) antigénique, caractéristique de l'espèce *S. aureus*. Elle est élaborée par plus de 90% des souches d'origine humaine (biotype A), les souches d'origine animale étant moins souvent productrices. Elle est absente chez les staphylocoques à coagulase négative, sauf chez certains qui possèdent une nucléase thermostable (Sutra et Poutrel, 1994).

La protéine A se fixe sur la fraction Fc des immunoglobulines humaines IgG ce qui inhibe la phagocytose (Merino *et al.*, 2009).

En plus de son aptitude à réagir avec les IgG, la protéine A possède plusieurs propriétés biologiques et semble intervenir dans le pouvoir pathogène; elle interfère avec le système immunitaire; active le complément par la voie classique et déclenche la réaction de phagocytose, elle est mitogène et cytotoxique (Schlievert *et al.*, 2010).

- **Protéine de liaison au collagène**

Elle permet l'adhésion de *S. aureus* au cartilage (Patti *et al.*, 1994). Ce récepteur du collagène pourrait constituer un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires à *S. aureus* (Buckingham *et al.*, 2004).

- **Protéine de liaison au fibrinogène**

C'est une protéine de surface, très riche en lysine (PM de 21 kDa) qui paraît être fixée au corps bactérien appelée coagulase liée ou "clumping factor" provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma.

Le clumping factor est présent chez presque toutes les souches d'origine humaine mais il est moins fréquent chez les souches d'origine animale (Francois *et al.*, 1997).

Il est responsable de la formation d'une sorte de coque autour des germes qui deviennent ainsi résistants à la phagocytose et entraînent la formation d'embolies septiques (Fauchere et Avril, 2002).

- **La protéine de liaison à la fibronectine**

Les récepteurs pour la fibronectine contribuent à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques et aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Ils ont ainsi un rôle important dans l'initialisation des infections sur corps étrangers (Foster et McDevitt, 1994).

2.4.1.3. Substances élaborées par *S.aureus*

Toutes les souches de *S. aureus* produisent des substances excrétées dans le milieu extracellulaire et sont douées soit d'une activité enzymatique, soit d'une activité toxique; mais la distinction entre ces deux formes d'activité biologique est souvent difficile (Bhatia et Zahoor, 2007).

De même, le caractère extracellulaire de ces substances n'est pas toujours respecté, certaines d'entre elles restent fixées à la membrane cytoplasmique (Le Minor et Veron 1990).

a- Enzymes

- **Coagulase libre**

La sécrétion de la coagulase est le caractère taxonomique essentiel. La présence de cette enzyme définit l'espèce *S. aureus* (Fasquelle, 1974). C'est une enzyme extracellulaire, thermostable peu antigénique (Phonimdaeng *et al.*, 1990).

Elle est capable de coaguler en quelques heures le plasma humain (ou de lapin) prélevé sur héparine, oxalate ou EDTA. Cette protéine est d'origine chromosomique, elle est produite pendant la phase exponentielle de croissance du germe (Foster et Mc Devitt, 1994).

La coagulase se lie à la prothrombine de l'hôte pour former un complexe appelé staphylothrombine, la thrombine ainsi activée transforme le fibrinogène en fibrine. Il semble que la présence de cette enzyme soit liée à la capacité de *S. aureus* à provoquer l'infection (Francois *et al.*, 1997), elle recouvre les corps bactériens d'une coque de fibrine, ce qui les protège et inhibe leur phagocytose et favorise leur dissémination en provoquant la coagulation localisée (Todar, 2009).

- **Fibrinolysine ou staphylokinase**

De nombreuses souches de *S. aureus* expriment un activateur du plasminogène appelé staphylokinase. C'est une enzyme qui transforme le plasminogène en plasmine, elle agit sur le plasma humain, de chien, de cobaye et de lapin (Tortora *et al.*, 2002).

Cette substance thermolabile est antigénique, caractérise les souches pathogènes humaines, et est sécrétée par les germes ayant colonisés le caillot, elle contribue à sa dislocation et peut jouer un rôle dans la formation de microembolies suppurées responsables des métastases septiques (Flandrois, 1997 ; Jin *et al.*, 2003) .

- **Désoxyribonucléase thermostable**

C'est une enzyme thermostable responsable de l'hydrolyse de l'ADN de cellule de l'hôte (Kumar *et al.*, 2009) .

La désoxyribonucléase thermostable (thermonucléase) est produite par toutes les souches de *S. aureus*, ainsi que par environ 5% de souches de staphylocoques à coagulase-négative, alors que celle des autres espèces bactériennes est thermolabile. Ces nucléases interviennent dans la formation des lésions (Guiraud et Rosec, 2004).

- **Catalase**

C'est un enzyme qui convertit le peroxyde d'hydrogène accumulé dans la cellule, résultant du métabolisme ou lors de la phagocytose en molécules d'eau et d'oxygène, ce qui empêche la formation de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie (William, 2009).

- **Protéases**

Elles hydrolysent certaines protéines, telle que la staphylokinase, et contribuent à la destruction du caillot et à la formation de microembolies bactériens, responsables de métastases septiques (El Kouri, 1998).

- **Hyaluronidase**

C'est une enzyme thermolabile (80 kDa), agissant à pH acide, elle provoque un effet lytique important sur l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif (Murray *et al.*, 2009) dont elle diminue la viscosité; ce qui a pour effet, de permettre la diffusion des staphylocoques dans les tissus (Foster et McDevitt, 1994).

- **Lipases et estérases**

La plupart des souches de *S. aureus* possèdent ces enzymes capables de métaboliser les graisses cutanées et jouent un rôle dans la dissémination de l'infection, favorisant ainsi la survie des staphylocoques (Kapral *et al.*, 1992).

- **Phosphatases**

Les phosphatases alcaline et acide (pH optimaux 10,8 et 5,2) sont localisées sur la membrane cytoplasmique ou l'acide teichoïque. Leur rôle physiologique n'est pas connu. Seule la phosphatase acide est partiellement libérée dans le milieu (Avril *et al.*, 1992).

- **β -lactamases**

Elles inactivent les β -lactamines et jouent un rôle important dans la résistance des souches de staphylocoques à ces antibiotiques (Motamedi *et al.*, 2010).

b- Les toxines

S. aureus produit un certain nombre de molécules cytotoxiques qui peuvent être divisés en quatre classes qui comprennent les quatre hémolysines (alpha, bêta, delta et gamma) et la leucocidine de Panton-Valentine, également connu sous le PV-leucocidine (Prévost, 2004). Chaque classe est discutée individuellement ci-dessous. Il s'agit de toxines à activité membranaire.

- **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 (Avril *et al.*, 1992). Toxique vis-à-vis de nombreux types de cellules de mammifères, elle est dermonécrotique et neurotoxique. Elle est particulièrement active sur les érythrocytes de lapin (Dinges *et al.*, 2000). Les effets sur l'hôte sont largement dus à la formation de canaux membranaires ce qui induit une

perturbations au niveau de la perméabilité membranaire, notamment des échanges Na^+/K^+ (Prévost *et al.*, 2006) ce qui provoque la lyse de la cellule ciblée (Seeger *et al.*, 1990 ; Hiron, 2007).

- **β -hémolysine**

La bêta-hémolysine est thermolabile possédant une activité de sphingomyélinase qui altère les membranes riches en lipides. Elle est produite en grande quantité par de nombreuses souches de *S. aureus* (Fanny *et al.*, 2008). Glenny et Stevens, qui l'ont identifiée en 1935, ont montré qu'elle était hautement hémolytique pour les érythrocytes de mouton mais pas de lapin. Le rôle de la bêta-hémolysine dans les maladies causées par *S. aureus* n'est pas encore clairement compris. Elle possède un haut niveau d'expression chez les souches animales, la majorité des isolats humains de *S. aureus* n'expriment pas de β -toxine. (Todar, 2005).

- **δ -hémolysine**

La delta-hémolysine, aussi appelée delta-lysine ou delta-toxine, un peptide de 26 acides aminés. Thermostable et hydrophobe, faiblement antigénique, elle agit comme un détergent sur les membranes biologique (Arvidson et Tegmark, 2001). La majorité des souches de *S. aureus* (97 %) synthétise cette toxine. Elle a une activité hémolytique (Fanny *et al.*, 2008) .

- **Gamma-hémolysine**

Elle est antigénique chez l'homme, formée de deux constituants I (PM: 29 kDa) et II (PM: 26 kDa) agissant en synergie dont le cholestérol inhibe leur action. Produite par 30 % des souches hospitalières de *S. aureus*, elle possède un spectre d'activité assez large de part son action sur les lymphocytes T, les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, les macrophages (Gravet *et al.*, 2001).

- **Leucocidines de Panton Valentine**

Il s'agit d'exotoxines bactériennes où le spectre d'activité lytique de cette toxine est restreint aux monocytes, aux macrophages, aux polynucléaires neutrophiles et aux métamyélocytes; les érythrocytes ne sont pas lysés (Rainard *et al.*, 2003, Fanny *et al.*, 2008). Chacune de ces toxines est un dimère de deux protéines sécrétées sous forme non associées, nommées S et F (pour « slow » et « fast » selon leur vitesse de migration) (Woodin, 1960).

Le gène codant la LPV est porté par un bactériophage qui n'est retrouvé que chez 1 à 2 % des souches cliniques de *S. aureus* (Peacock *et al.*, 2002). La composante S lie à un récepteur de leucocytes et le F rend la membrane perméable (Alonso-Tarrés *et al.*, 2005).

Les leucotoxines induisent un influx d'ions Ca^{2+} , et, en conséquence, une formation de pores permettant l'entrée d'éthidium (Barrio *et al.*, 2006).

Les souches productrices de LPV sont classiquement associées à des infections cutanées primitives, notamment les furoncles). Les pneumonies nécrosantes, mais aussi des ostéomyélites (Durup *et al.*, 2007).

- **Entérotoxines**

Les entérotoxines staphylococciques sont de potentiels agents d'intoxication alimentaire staphylococcique suite à la consommation d'aliments contaminés (elles sont émétisantes, avec ou sans diarrhée). Elles sont thermostable, résistants aux enzymes protéolytiques et assez stables sur une large gamme de pH (Bendahou *et al.*, 2009 ; Di Giannatal *et al.*, 2011). Les propriétés biologiques des entérotoxines peut rester inchangé après pasteurisation (Asao *et al.*, 2003 ; Holecková *et al.*, 2004). Selon Anderson *et al.* (1996), l'entérotoxine A (SEA), par exemple, réserve certaines de ses activités biologiques après 28 min à 121°C.

La production d'entérotoxines staphylococcique peut commencer à partir d'une faible concentration bactérienne ($10^3/\text{g}$) après une incubation de 2h à 37°C. chez l'humain, les symptômes se manifestent après ingestion d'une petite quantité de toxine (0.5ng/ml) (Balaban *et al.*, 2000 ; Le Loir *et al.*, 2003 ; Di Giannatal *et al.*, 2011).

Neuf types antigéniques majeurs de la SE ont été reconnus et désignés SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI et SEJ (Zhang *et al.*, 1998). Toutes ces toxines présentent une activité superantigéniques en interagissant avec les cellules présentatrices d'antigène et, stimulent la prolifération non spécifique des cellules T (Balaban *et al.*, 2000 ; Nehal *et al.*, 2010), parmi les superantigènes seule les SE ont une activité émétique. L'activité superantigène et émétique de la SE sont deux fonctions distinctes localisées sur des domaines distincts de la protéine (Hovde *et al.*, 1994; Dinges, 2000).

Leur pouvoir émétique, encore mal caractérisé, reposerait plutôt sur leur activité superantigénique et neurotoxique (Orwin *et al.*, 2001 ; Le Loir *et al.*, 2003 ; Argudín *et al.*, 2010).

- **Toxine du syndrome du choc toxique**

La toxine TSST-1 a été reconnue comme la cause majeure du syndrome de choc toxique staphylococcique TSS, caractérisée par une fièvre, une hypotension, desquamation. La TSST-1 est une protéines extracellulaire a unique chaine appertenant à une grande famille d'exotoxine pyrogenes produite par plusieurs souches de *S.aureus* (Nagase *et al.*, 2002). TSST-1 est la seule des PTSAGs à pouvoir traverser les membranes muqueuses (Hamad *et al.*, 1997). L'activation

des cellules T par les PTSAgs est généralement considérée comme une cause de choc mortel chez les patients avec un syndrome du choc toxique, chez qui ces toxines agissent en tant que super-antigènes (Miethke *et al.*, 1993).

- **Toxines exfoliatines**

Certaines souches de *S. aureus* (environ 5%) secrètent une toxine à tropisme cutané: la toxine épidermolytique ou exfoliatine.

On distingue 2 sérotypes A et B: le gène codant le sérotype A est chromosomique (90 % des exfoliatines) et celui codant le sérotype B est plasmidique (4 à 5 % des exfoliatines). Les 2 sérotypes peuvent être produits par une même souche (Avril *et al.*, 1992). Toxines épidermolytiques possédant une activité mitogène sur les lymphocytes T; responsable de staphylococcies cutanées bulleuses que l'on observe parfois au cours des septicémies à staphylocoque et au cours de l'impetigo (Alomar, 2007).

2.5. Types d'infections

S. aureus peut être responsable de deux types de syndromes: les infections suppuratives et les toxi-infections ou toxémies staphylococciques.

2.5.1. Infections suppuratives

Elles sont caractérisées par plusieurs phases: la prolifération bactérienne, l'invasion, la destruction des tissus de l'hôte et la réponse inflammatoire.

Les facteurs de virulence impliqués sont les protéines de surface qui initialisent la colonisation des tissus de l'hôte et les facteurs qui inhibent la phagocytose par les leucocytes (Lowy, 1998). *S. aureus* se fixe aux cellules et au collagène de la matrice extracellulaire par des protéines de surface appelées adhésines.

Les adhésines ont des récepteurs spécifiques différents ce qui pourraient expliquer les différentes formes cliniques des infections à *S. aureus* (Gomez *et al.*, 2004). La résistance à la phagocytose passe par la formation de biofilm et l'intégration intracellulaire de *S. aureus*, en particulier dans les cellules endothéliales (Lowy, 1998.).

Les infections à *S. aureus* les plus fréquentes sont les infections cutané-muqueuses telles que les folliculites, impétigo, furoncles, anthrax, panaris, cellulites ou les sinusites et les otites. Il s'agit le plus souvent d'auto-infestations (Lowy, 1998).

2.5.2. Infections toxiques staphylococciques

Les infections toxiques staphylococciques regroupent le choc toxique staphylococcique, la maladie exfoliante généralisée, les toxi-infections alimentaires, la pneumonie nécrosante (Dinges *et al.*, 2000). Le syndrome de choc toxique staphylococcique est provoqué par la diffusion dans l'organisme de la toxine (TSST-1) ou de certaines entérotoxines (B, C, etc.) (McCormick *et al.*, 2001).

La particularité des toxines produites lors du choc toxique staphylococcique est d'être des superantigènes qui vont entraîner une activation des lymphocytes T. Ces derniers vont libérer brutalement et massivement des cytokines pro-inflammatoires responsables des signes de choc (Gillet *et al.*, 2002). Ce syndrome associe une fièvre supérieure à 39°C, une hypotension artérielle et une érythrodermie scarlatiniforme généralisée, suivie 7 à 14 jours plus tard d'une desquamation intense et d'une atteinte multi-viscérale. On retrouve la toxine TSST-1 dans 20% des souches de *S. aureus* (Fanny, 2008).

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

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

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

3. Génétique de *S. aureus*

3.1. Génome

Le génome de *S. aureus* a été séquencé pour 6 souches de *S. aureus* (Baba *et al.*, 2002; Holden *et al.*, 2004; Kuroda *et al.*, 2001). Il s'agit d'un chromosome circulaire qui comprend $2,82 \times 10^6$ à $2,9 \times 10^6$ pb. Le contenu en GC est de 33%, 84% du génome est codant et entre 2592 et 2748 gènes ont été identifiés. *S. aureus* contient en général un plasmide de 20 000 à 25 000 pb contenant une trentaine de gènes (Kuroda *et al.*, 2001).

Le génome de *S. aureus* se caractérise par sa complexité et sa plasticité. La comparaison des génomes séquencés et l'analyse par la technique des micropuces à ADN d'un échantillon représentatif des différentes lignées de *S. aureus* montrent qu'environ 75% du génome est hautement conservé (Holden *et al.*, 2004; Lindsay et Holden, 2004). La majorité des gènes de ces régions conservées sont impliqués dans la réplication de l'ADN, la synthèse protéique et les fonctions métaboliques.

Un quart du génome est caractérisé par une variabilité génétique importante et les gènes de ces régions sont dévolus à des fonctions non essentielles à la croissance et à la survie. Ces régions variables sont composées d'éléments génétiques mobiles acquis par transferts horizontaux à partir d'autres souches de *S. aureus* et d'autres espèces bactériennes plus ou moins éloignées (Fitzgerald *et al.*, 2001). Ces éléments génétiques mobiles comprennent des génomes prophages, des transposons, des séquences d'insertion, des plasmides, des cassettes chromosomiques, des îlots de pathogénicité, des îlots génomiques (Lindsay et Holden, 2004). La plupart de ces éléments génétiques mobiles transportent des gènes de virulence ou des gènes de résistances aux antibiotiques.

3.2. Support génétique de la virulence

Il existe un très grand nombre de gènes liés à la virulence : au moins 40 gènes codant pour des toxines, 20 codant pour des facteurs d'adhésion et 44 régulant la transcription de produits associés à la virulence. Les gènes codant pour les toxines sont regroupés dans des îlots de pathogénicité qui sont des éléments génétiques mobiles (Kuroda *et al.*, 2001). Près de 75% des souches cliniques de *S. aureus* ont des gènes codant pour des toxines (Becker *et al.*, 2003).

La synthèse des facteurs de virulence est biphasique. A la phase initiale de la croissance bactérienne, ce sont surtout les gènes codant pour des adhésines qui sont activés. Secondairement, les gènes des toxines prennent le relais. La synthèse de l'ensemble de facteurs

de virulence est coordonnée par des systèmes de régulation de la virulence appelé *agr* (accessory gene regulator) (Bronner *et al.*, 2004; Dufour *et al.*, 2002).

Le système *agr* met en jeu un mécanisme de déclenchement par un seuil « quorum sensing »: il code pour un peptide (peptide auto-inducteur) qui est sécrété dans l'espace extracellulaire et son accumulation agit comme un signal sur la densité cellulaire conduisant à l'activation du système *agr* (Yarwood, Schlievert, 2003).

Le système *agr* possède un polymorphisme génétique avec quatre groupes alléliques identifiés (Jarraud *et al.*, 2000; Ji *et al.*, 1997). Ce polymorphisme pourrait expliquer la diversité des infections entraînées par *S. aureus*. Par exemple, le système *agr* type IV est retrouvé dans les souches productrices d'exfoliatines alors que les souches produisant TSST-1 ont un système *agr* de type III (Jarraud *et al.*, 2002).

4. Résistance aux antibiotiques des *S. aureus*

La résistance bactérienne aux antibiotiques ou antibiorésistance est un phénomène de portée universelle, il n'a cessé d'augmenter de manière progressive au cours de ces dernières années. Ce problème de santé publique touche à la fois la santé animale et la santé humaine (Faye, 2005). La diffusion d'un grand nombre de bactéries pathogènes résistantes à plusieurs antimicrobiens a été reconnue par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme un problème sérieux en raison de la fréquence avec laquelle de nouveaux phénotypes de résistance apparaissent parmi les agents pathogènes et même chez les microorganismes commensaux (OIE, 2008).

L'histoire des résistances bactériennes commence avec l'utilisation des sulfamides dans les années 30. Les streptocoques résistants émergèrent et compliquèrent le traitement. Plus tard, dans la première année d'utilisation de la pénicilline, la résistance de certaines souches bactériennes apparaît, détruisant la molécule par une pénicillinase. D'abord découverte chez *Escherichia coli* (Sanders, 1999), une enzyme ayant les mêmes propriétés était retrouvée peu après dans d'autres espèces, notamment chez les staphylocoques coagulase positifs. L'augmentation des staphylocoques résistants à la pénicilline s'accrut dramatiquement en quatre ans : 14 % en 1944 et 59 % en 1948.

Au moment où les autres antibiotiques (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol) apparaissent à la fin des années 40, la fréquence des staphylocoques résistants approchait de 70-80 % (Levy, 1984 ; Leclercq, 1999).

4.1. Origine de l'antibiorésistance

On cite classiquement deux origines : résistance naturelle ou intrinsèque correspondant à la capacité de résister à la présence d'un antibiotique pour toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien. Habituellement le support de cette résistance est chromosomique. 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 (Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001). Elle peut s'acquérir soit par mutation chromosomique qui est un phénomène spontané et rare et n'explique pas toutes les résistances rencontrées en clinique, soit par acquisition de matériel génétique exogène (Prescott, 2000). La résistance acquise par transfert de matériel génétique représente 80 à 90 % des résistances acquises rencontrées chez les bactéries isolées en clinique.

Une place à part est conférée à la résistance par les biofilms. Dans des environnements alimentaires particuliers, le *S. aureus* peut développer des mécanismes particuliers de résistance aux antibiotiques comme la formation d'un biofilm en tant que réponse adaptative de protection des colonies. Ce type de résistance s'observe également lors des circonstances qui mettent en jeu des processus physiques pour la conservation alimentaire comme les traitements acides et les processus d'irradiation (Faye, 2005).

4.2. Mécanismes de l'antibiorésistance

Sur le plan biochimique, 4 grands mécanismes d'action sont mis en jeu lors de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques (Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001):

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

4.2.1. Résistance à la pénicilline

La pénicilline était le premier antibiotique découvert en 1929 par Alexander Fleming. Introduit dans le début des années 1940, pratiquement toutes les souches de *S. aureus* étaient sensibles à la pénicilline G, mais en 1944, la première preuve de résistance de *S. aureus* à la pénicilline avait déjà paru. Aujourd'hui presque toutes les souches de *S. aureus* sont résistantes aux pénicillines naturelles, celle-ci implique aussi une résistance à l'ampicilline, l'amoxicilline, la ticracilline, la pipéracilline et à l'aminopénicilline (Rice ,2006).

Le mécanisme de résistance à la pénicilline repose sur la synthèse par la bactérie d'une enzyme appelée β -lactamase ou pénicillinase. Cette enzyme plasmidique inductible hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines A et G et les rend inactives (Korta et Mobashery, 1998). La production de cette enzyme est inactivée par les inhibiteurs de pénicillinase (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) (Eveillard, 2007).

4.2.2. Résistance à la méticilline

La méticilline, l'oxacilline et d'autres pénicillines résistants à l'action de la pénicillase sont introduites dès les débuts des années 1960 pour le traitement des infections causées par les *S. aureus* résistants a la pénicilline. Cependant, au fil du temps des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) commencent à apparaître et à se répandre au sein du milieu hospitalier et plus récemment au sein de la communauté (Pesavento *et al.*, 2007). La résistance à la méthicilline est croisée vis-à-vis des autres bêta-lactamines, ce qui implique que les souches méticillino-résistant doivent toujours être considérées comme résistantes à toutes les β -lactamines y compris aux céphalosporines de 3^{ème} génération (Katayauma et Hiramatsu, 2000).

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

Les SARM synthétisent une 5^{ème} PLP modifiée appelée PLP2a, qui a une faible affinité pour les β -lactamines (Berger, 1999). Cette dernière est autonome, et peut réaliser à elle seule la synthèse de la paroi bactérienne, même lorsque les quatre autres PLP sont inhibées (Garner, 1988).

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

Selon les critères du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, une souche est considérée comme méticillino-résistante si la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'oxacilline est supérieure à 2 mg/l (Escobar, 2009).

4.2.3. Résistance aux aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides utilisés en thérapeutique pour obtenir une synergie bactéricide avec un inhibiteur de la paroi bactérienne (glycopeptide ou bêta-lactamine) (Tankovic *et al.*, 1997).

Les aminosides inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous unité 30S du ribosome bactérien (Ramirez et Tolmasky, 2010). Les CMI de la gentamicine, nétilmicine et tobramycine sont égales à 0,1 ou 0,2 mg/l et celle de l'amikacine à 0,5 mg/l (Taber *et al.*, 1987). La résistance aux aminosides est rarement due à des mutations affectant les cibles ribosomales des antibiotiques. Le principal mécanisme de résistance aux aminosides (kanamycine, amikacine, tobramycine, gentamicine, nétilmicine) est surtout dû à la production par les staphylocoques d'enzymes modifiant la cible ribosomale. Il existe trois enzymes de résistance, chacune d'entre elles conférant un phénotype de résistance spécifique aux aminosides (Tableau 3). Ces enzymes (acétyltransférases, nucléotidyl-transférases et phosphotransférases) sont codées par des gènes plasmidiques ou transposables (Tankovic *et al.*, 1997). Les trois phénotypes de résistance sont (Bismuth et Leclercq, 2000 ; Leclercq, 2002) :

- Aminoglycoside phosphotransférase (3')-III : cette enzyme confère la résistance à la kanamycine et l'amikacine (phénotype K). Cette enzyme est présente chez moins de 10% des souches méticillino-sensibles.
- Aminoglycoside nucléotidyltransférase (4'-4'') : cette enzyme confère la résistance à la kanamycine, à l'amikacine et à la tobramycine (phénotype KT).

Cette résistance est présente chez environ 1/3 des souches résistantes à la méticilline.

- Aminoglycoside acétyltransférase (6') - aminoglycoside phosphotransférase (2'') : cette enzyme bifonctionnelle confère la résistance à la kanamycine, L'amikacine, la tobramycine, la nétilmicine et à la gentamicine (phénotype KTG). Cette enzyme est détectée chez 2/3 ou plus des souches méticillino-résistantes. Le tableau suivant récapitule les principaux mécanismes de résistances aux aminosides

Tableau 3 : Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux aminosides (Quincampoix et Mainardi, 2001).

Enzymes	Support génétique	phénotypes	K	An	Tm	Gm	Net
aph3'	<i>aph3'a</i>	K	R	R	S	S	S
ant4'	<i>ant4'a</i>	KT	R	R	R	S	S
aph2''- aac6'	<i>aph2''a</i> <i>aac6'e</i>	KTG	R	R	R	R	R

K: kanamycin; An: amikacine; Tm: tobramycine; Gm: gentamicine; Net: nétilmicine. S: Sensible; R: Résistant.

4.2.4. Résistance aux glycopeptides

Les glycopeptides (teicoplanine et vancomycine), sont utilisés en alternative aux bêta-lactamines dans le traitement des infections à staphylocoques dorés méticillino-résistants. Ces antibiotiques ont un effet bactéricide s'exerçant lentement. Ils agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne à un stade plus précoce que les bêta-lactamines, en ciblant le résidu D-alanyl-D-alanine du peptidoglycane pour se fixer (Tankovic *et al.*, 1997). Les souches sont identifiées comme sensibles à la vancomycine si la CMI = 2 à 4 mg/l, mais les populations de sensibilité diminuée présentent une CMI de 6 à 8 mg/L) (McCallum *et al.*, 2006).

En 1997, Hiramatsu *et al.* (1997) décrivent le premier *S. aureus* cliniques isolé avec une résistance intermédiaire à la vancomycine. Depuis, d'autres souches de *S.aureus* avec une sensibilité réduite, voire résistantes à la vancomycine (VISA, CMI =6 à 8 mg/l) ont été identifiés au Japon et aux Etats-Unis. Ces souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides sont

désignées comme GISA : Glycopeptides Intermediate *Staphylococcus aureus* (Pesavento *et al.*, 2007).

Le mécanisme de résistance à la vancomycine est lié à un épaississement de la paroi bactérienne qui piège les glycopeptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique où le peptidoglycane est synthétisé (McCallum *et al.*, 2010). Cette résistance est due à des mutations de *S. aureus*, obtenues après transfert conjuguatif de l'opéron de gène *vanA* codant pour la résistance à la vancomycine chez les entérocoques résistants aux glycopeptides (Tankovic *et al.*, 1997 ; McCallum *et al.*, 2006).

4.2.5. Résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramine (MLS)

Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosome et ARN de transfert. Les macrolides (érythromycine, josamycine, spiramycine) et les lincosamides (clindamycine) exercent une activité bactériostatique vis-vis des staphylocoques et ont de ce fait un usage thérapeutique limité aux infections peu sévères, dues à ce germe.

La résistance aux MLS est due à trois mécanismes (Tableau 4) :

- La modification de la cible des antibiotiques qui est le mécanisme le plus répandu et confère un spectre de résistance croisé entre macrolides, lincosamides et streptogramines B. d'où son nom de MLS_B, car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs. En effet les souches résistantes produisent une enzyme, une méthylase d'origine plasmidique (codée par le gène *emr*) qui modifie la cible ribosomale par méthylation (Cristino, 1999). La résistance MLS_B est dite inducible quand la méthylase est produite seulement en présence de macrolide inducteur (comme l'érythromycine), ou constitutive, lorsque la production est permanente, et indépendante de l'antibiotique.

La production de méthylase inducible n'entraîne de résistance qu'aux antibiotiques inducteurs, qui sont les macrolides à noyau de 14 et 15 atomes (érythromycine, roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine, azithromycine) alors que les macrolides à noyau de 16 atomes (josamycine et spiramycine), les lincosamides (clindamycine et lincomycine) et les streptogramines B (pristinamycine I et quinupristine) restent actifs car sont non inducteurs. La production constitutive de méthylase induit une résistance croisée à tous les antibiotiques de la famille, à l'exception des streptogramines. En effet, pour ces dernières, l'effet synergique des composants A et B permet le maintien de l'activité *in vitro*. Le marqueur de la résistance de type

constitutif est la résistance à la clindamycine. La plupart des SARM présentent une résistance MLS_B constitutive (Leclercq, 2002).

Le mécanisme le plus fréquemment en cause est la modification de la cible: le phénotype associant la résistance aux macrolides, aux lincosamides et au composé B des streptogramines (phénotype MLS_B constitutif) prédomine chez les SARM est lié au gène *ermA* de nature transposable ; la résistance isolée aux macrolides à 14 ou 15 atomes de carbone (phénotype MLS_B inductible) se retrouve aussi plus souvent chez les SARM et est liée au gène *ermC* d'origine plasmidique (Cristino, 1999) Tableau 4.

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

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

Tableau 4 : Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux macrolides et apparentés (Quincampoix et Mainardi ,2001).

mécanisme	Support Génétique	Rôle	C14/ C15	C16	lin	SgB	SgA	syn
Modification de cible	<i>ermC</i> (ind)	méthylase	R	S	S	S	S	S
	<i>ermA</i> (const)	méthylase	R	R	R	R	S	S/I
Inactivation	<i>linA</i>	acétylase	S	S	R	S	S	S
	<i>vat</i>	acétylase	S	S	S	S	R	I/R
	<i>vgb</i>	hydrolase	S	S	S	R	S	R
Efflux	<i>vga</i>	pompe	S	S	S	S	R	I/R
	<i>mef</i>	pompe	R	S	S	S	S	S
	<i>msr</i>	pompe	R	S	S	R	S	S/I

C14/C15: macrolides à 14 ou 15 de C (érythromycine, azithromycine);C16: macrolides à 16 atomes de C (spiramycine); lin : lincosamides (Clindamycine); SgB: streptogramine B; SgA: streptogramine A; syn : synergistines (pristinamycine, quinupristine-dalfopristine); S: Sensible; I: Intermédiaire; R: Résistant; ind: inductible; const: constitutif.

4.2.6. Résistance aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones (ofloxacin, pefloxacin, ciprofloxacine) inhibent la croissance bactérienne par arrêt de la synthèse de l'ADN. Cette action est secondaire à l'inhibition de deux topomérases bactériennes : l'ADN gyrase, qui catalyse le surenroulement de l'ADN, et l'ADN topomérases IV qui es responsable de la décaténation des chromosomes au cours de la réplication (Child *et al.*, 1995). La résistance aux fluoroquinolones est due à une modification de la cible, soit la topo-isomérase IV par mutation des gènes chromosomiques *grlA* ou *grlB* soit les sous-unités de la gyrase par une mutation au sein des gènes *gyrA* ou *gyrB*. Cette résistance touche essentiellement les staphylocoques hospitalier, en particulier le staphylocoque doré résistant à la méticilline (McCallum *et al.*, 2006).

4.2.7. Autres résistances

- La résistance aux sulfamides est de nature chromosomique, liée à une hyperproduction d'acide paraaminobenzoïque.
- La résistance aux tétracyclines est due soit à un mécanisme d'efflux par une protéine membranaire codée par les gènes *tetK* ou *tetL* d'origine plasmidique soit une protection de la cible par une protéine codée par le gène transposable *tetM*.
- La résistance à la rifampicine est liée à la sélection de mutants résistants au niveau de la sous-unité β de l'ARN polymérase ADN dépendant.
- La résistance à la fosfomycine est due à la sélection de mutants au niveau du système de transport de la molécule dans la bactérie (gènes *glgT* et *uhp*).
- La résistance à l'acide fusidique est secondaire soit à la sélection de mutants résistants au niveau du facteur d'élongation intervenant dans la synthèse protidique soit à une modification de la perméabilité d'origine plasmidique (Bismuth et Leclercq ; 2000).

4.3. Evaluation de l'antibiorésistance

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

4.3.1. Méthodes de test de la sensibilité bactérienne

Les tests de sensibilité bactérienne les plus répandus ont pour but d'étudier l'effet bactériostatique des antibiotiques. Pour chaque souche bactérienne, on peut définir une concentration minimale inhibitrice (CMI) qui correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe. Elle est donc associée à un phénomène macroscopique, ce qui explique sa relative facilité d'obtention et son universalité (Jorgensen, 1997).

C'est une information intéressante et pertinente pour le praticien puisque dans la majorité des cas on recherche essentiellement une inhibition de croissance bactérienne pour permettre aux défenses immunitaires de combattre l'infection plus efficacement (Eberlin et Renaud, 1994).

Cette CMI est obtenue grâce à trois méthodes. Notons que ces méthodes sont expérimentales et applicables selon les laboratoires et les conditions de faisabilités.

- **Méthode par dilutions successives**

- a) Dilution en bouillon**

L'ensemencement est réalisé sur des milieux de cultures liquides contenant des concentrations décroissantes d'antibiotiques. On détermine alors par une méthode turbidimétrique la CMI du germe étudié comme la concentration la plus faible pour laquelle les bactéries ne se sont pas développées en 24 h (Jorgensen, 1997 ; Rennie *et al.*, 2008).

Ce type de méthode, initialement réalisé par une méthode de macrodilution (plus de 2 mL de milieu de culture), a été remplacé par des méthodes de microdilution (moins de 500 μ L) et a été largement automatisé. Cependant, compte tenu de sa lourdeur, cette méthode est aujourd'hui peu utilisée en pratique dans les laboratoires d'analyse mais elle constitue la méthode de référence (Kahlmeter *et al.*, 2006).

- b) Dilution en gélose**

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte. Ces résultats sont souvent considérés comme les plus fiables pour la détermination d'une CMI pour la combinaison de l'essai bactérie/antimicrobien.

Les avantages de la dilution en gélose comprennent :

- i) la capacité de tester plusieurs bactéries sur le même ensemble de boîtes de gélose en même temps;
- ii) le potentiel d'améliorer l'identification de la CMI et de développer la gamme de concentration antibiotique ;
- iii) la possibilité de semi-automatiser la méthode en utilisant un appareil de réplique des inoculums. Des appareils de réplique des inoculums sont disponibles commercialement et ils peuvent transférer entre 32 et 36 inoculum bactériens différents sur chaque boîte de gélose.

La méthode de dilution en gélose présente aussi certains désavantages, par exemple :

- i) quand ils ne sont pas automatisés, ces tests sont très laborieux et exigent des ressources économiques et techniques importantes ;

ii) une fois les boîtes préparées, elles doivent être utilisées dans la semaine ;

iii) il n'est pas toujours facile de lire les CMI et la pureté de l'inoculum n'est pas facile à évaluer (NCCLS, 2002).

- **Méthode par diffusion de disque en milieu solide**

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Elles consistent à déposer à la surface d'une gélose Muller Hinton préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier, des disques de papier imprégnés d'un antibiotique donné. Il se forme alors un gradient de concentrations en antibiotique autour du disque de papier et la croissance bactérienne est bloquée jusqu'au diamètre où les concentrations du gradient sont égales ou supérieures à

la CMI. Avec la mesure du diamètre de la zone d'inhibition et grâce à des abaques, on pourra classer la bactérie en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) (Jorgensen et Ferraro, 2009). Généralement, plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible. Cependant, cela dépend de la concentration d'antibiotique contenue dans le disque et de sa diffusibilité (NCCLS, 2002).

Cette méthode est la plus simple, la plus rapide et la plus utilisée. Le coût est faible. Mais elle est critiquée par certain auteur en raison du manque de corrélation parfois entre les diamètres d'inhibition et les CMI déterminées par les méthodes de références (Kamagate *et al.*, 2001).

- **Méthode en milieu solide par E-test**

La technique de gradient de diffusion ou le E test, est une technique de détermination de la CMI fondée sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini de l'antibiotique à tester couvrant une zone continue de 0,016 à 256 mg/l ou 0,002 à 32 mg/l en fonction des molécules. Les bandelettes sont des supports inertes, hydrophobes de 5 mm de large et 80 mm de long. Elles sont appliquées sur la surface d'une gélose préalablement ensemencée avec la souche à étudiée. Après incubation, l'inhibition de la croissance bactérienne se traduit par la présence d'une ellipse dont le point d'intersection avec la bandelette définit la CMI. Une échelle de lecture imprimée sur la face supérieure de la bandelette permet une lecture rapide (Brown, 1991). C'est une technique simple mais qui est assez coûteuse. Un des avantages du E test, est qu'il fournit une gamme de valeurs de CMI beaucoup plus grande que les techniques de dilutions (Jorgensen *et al.*, 2003).

La plupart des méthodes de test de la sensibilité ne donnent que des résultats qualitatifs. C'est à dire nous renseigne directement sur le profil de la bactérie. Quelques unes d'entre elles mesurent soit la CMI (variable quantitative), soit un diamètre d'inhibition (mesure semi-quantitative).

L'interprétation du profil bactérienne se fait à partir des concentrations critiques :

La concentration critique supérieure et la concentration critique inférieure. Ces concentrations sont fixées par les Comités Nationaux d'Antibiogramme. Par exemple CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie), EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing). (Rennie *et al.*, 2008).

On distingue les trois catégories de profils suivants :

1. La croissance en présence de la plus forte concentration d'antibiotique est le fait, des souches résistantes, en d'autre terme la probabilité d'échec thérapeutique est forte ;
2. La croissance en présence de la plus faible concentration seulement est caractéristique des souches intermédiaires, ce qui signifie que le succès thérapeutique est imprévisible ;
3. l'inhibition de la croissance aux deux concentrations d'antibiotique est spécifique des souches sensibles, qui signifie que la probabilité de succès thérapeutique est forte (NCCLS, 2002).

Matériel et méthodes

1. Rappel sur les objectifs

Le premier objectif consiste à isoler différentes souches de *S. aureus* à partir de divers biotopes: viande fraîche, lait de vache cru, lait de vache pasteurisé, pâtisserie, plats cuisinés. Tout ceci nous permet de déterminer la prévalence.

En second, le profil de résistance de *S. aureus* isolés vis-à-vis de vingt antibiotiques est évalué.

2. Durée et lieu de l'étude

Notre étude a débuté en novembre 2011 et a durée 8 mois. Les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire d'hygiène et pathologie animale, institut des sciences vétérinaires de l'université IBN KHALDOUN Tiaret.

3. Nature des échantillons

Le présent travail repose sur l'analyse de 107 échantillons qui se répartissent comme suit:

- 26 échantillons de viande fraîche prélevés à l'étal ;
- 20 échantillons de lait de vache cru prélevés de 3 fermes différentes ;
- 18 échantillons de lait de vache pasteurisé réalisés à l'étal ;
- 23 échantillons de pâtisserie prélevés à l'étal ;
- 20 échantillons de plats cuisinés prélevés de 4 résidences universitaires sis au niveau

de la wilaya de TIARET.

L'échantillonnage effectué lors de notre étude à été conforme aux directives des deux normes ISO et normes algérienne NA.

4. Méthodologie

4.1. Méthode de prélèvement

4.1.1. Viande fraîche

Le prélèvement de la viande fraîche est effectué après découpage de quelques morceaux à l'aide de couteau stérile et en présence d'un bec portatif afin d'assurer l'asepsie. Ces morceaux sont ensuite placés dans des flacons stériles.

Le prélèvement de viande hachée est effectué à la sortie de la machine. Chaque échantillon pèse 150 g est placé dans un flacon stérile (ISO 6887-2, 2003 ; NA 644, 1989).

4.1.2. Lait de vache cru

La valeur de l'examen bactériologique du lait de vache dépend en grande partie de la qualité du prélèvement, qui dépend à son tour de la technique de l'opérateur. La technique de prélèvement suit les recommandations de Mialot (1983) :

- Lavage des mains.
- Lavage et séchage des trayons.
- Désinfection de l'extrémité du trayon à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 70°.
- Elimination du premier jet de lait.
- Saisir le flacon à prélèvement entre le pouce et les doigts de la main droite et on retourne le flacon de façon à diriger le bouchon vers le bas.
 - Dévisser le bouchon de la main gauche et on le porte entre l'index et le majeur de la main droite. Tube et bouchon ont alors leurs ouvertures dirigées vers le bas afin d'éviter toute contamination.
 - Saisir alors le trayon de la main gauche, on le ramène en position horizontale et on traite dans le flacon incliné plus de 10 millilitres de lait de chaque trayon .

La quantité de chaque échantillon prélevé est de 100 ml.

4.1.3. Lait de vache pasteurisée conditionné

Le prélèvement du lait de vache pasteurisé est réalisé à l'étal chez le commerçant. Lequel le reçoit le jour même de son conditionnement. (ISO 6887-2, 2003 ; NA 1050, 1997).

4.1.4. Pâtisseries

Les échantillons sont prélevés directement à l'étal à l'aide d'une cuillère stérile, les pièces découpées en deux moitiés sont recueillies aseptiquement dans un bocal stérile.

4.1.5. Plats cuisinés

Le prélèvement des plats cuisinés porte sur différents éléments (viande, légumes, sauce) composant le plat. À l'aide de cuillères stériles, on procède aux prélèvements des plats chauds, Chaque élément est placé dans un flacon stérile.

4.2. Transport et conservation des échantillons

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

4.3. Traitement des échantillons

Les échantillons sont traités au laboratoire à l'heure suivant leur prélèvement. En aucun cas l'échantillon ne doit être congelé. Le contact direct avec l'échantillon se fait dans des conditions rigoureuses d'asepsie, ce qui implique l'utilisation d'un matériel stérile (ISO 7218, 2003).

Les aliments conditionnés (lait pasteurisé), devront être soumis à un nettoyage de leur emballage, par un détergent, puis désinfecté à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 95%.

Dans le cas des bocaux, on veille au nettoyage des couvercles et les joints de fermeture. Ouvrir aseptiquement après avoir agiter manuellement l'échantillon (ISO 3100- 2, 1988 ; NA 850, 1997).

4.4. Préparation des échantillons

Le lait contenu dans un récipient de prélèvement est simplement homogénéisé par agitation avant l'analyse (ISO 8261, 2001 ; NA 1050, 1997).

La viande placée sur un plateau stérile est cautérisée à la surface à l'aide d'un bec benzène jusqu'à carbonisation. On élimine ainsi de celle-ci une pellicule superficielle de 2 mm d'épaisseur, de manière à dénuder une surface de 5 cm x 5 cm au moyen d'un couteau stérile, couper la bande de viande puis la découper en dés (ISO 6887-2 ; NA 645, 1989).

Pour les plats cuisinés et la pâtisserie qui présentent une grande hétérogénéité, prélever des parties aliquotes de chaque composant en tenant compte de leur proportion (ISO 6887-4 ; NA 15174, 2004).

4.4.1. Prise d'essai, suspension mère

Dans le cas de produits liquides (lait), agiter soigneusement l'échantillon pour essai afin d'assurer une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes, en retournant rapidement plusieurs fois le récipient contenant l'échantillon. Prélever 10 ml de l'échantillon et l'ajouter à 90 ml de diluant PSE (Peptone, Sel, Eau). Le mélange est agité pendant 1 à 2 minutes afin d'obtenir une dilution de 10^{-1} (ISO 6887-1, 1999 ; NA 5912, 2007). En ce qui concerne les

produits solides (viandes, pâtisseries, plats cuisinés), 10 g de l'échantillon sont ajoutés à 90 ml de diluant PSE (ISO 6887-2, 2003 ; NA 1204, 1992 ; ISO 6887-4, 2003 ; NA 15174, 2004).

4.4.2. Recherche de *Staphylococcus aureus*

4.4.2.1. Isolement

L'isolement sélectif est réalisé sur gélose Baird Parker par étalement en surface et incubation à 37°C pendant 1 à 3 jours (Marchal et Bourdon, 1973).

Le milieu Baird Parker est le plus utilisé en microbiologie alimentaire, pour être le plus sélectif et favorise mieux la croissance de *Staphylococcus* que le milieu Chapman (Joffin ; 1999). Ce milieu est constitué d'une base gélosée contenant du chlorure de lithium, du glycolle et du pyruvate, auquel on rajoute avant utilisation du tellurite de potassium et du jaune d'œuf. La sélection est réalisée par le lithium et le tellurite (Guiraud; 1998).

Pour l'isolement de *S. aureus*, 0,1 ml de la suspension mère (dilution 10⁻¹) sont transférées à la surface du milieu Baird Parker. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24-48 heures (ISO 6888, 1983).

4.4.2.2. Caractéristiques des colonies

- **Aspect macroscopique**

Les colonies de *Staphylococcus* présumées pathogènes sont noires, brillantes et convexes (1 à 1,5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1,5 à 2,5 mm de diamètre après 48 h d'incubation) sur le milieu Baird Parker, entourées d'une zone claire due à l'hydrolyse des protéines de l'œuf. Des zones opaques dues à l'activité lipolytique (lécithinase) peuvent apparaître plus tardivement (après 24 heures) dans le halo clair (Guiraud, 1998).

D'autres bactéries peuvent donner des aspects identiques : *Micrococcus*, *Bacillus* (Joffin ; 1999).

- **Aspect microscopique (Coloration de Gram)**

La coloration de Gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur gélose Baird Parker, présentant l'aspect caractéristique du staphylocoque. Elle peut être aussi réalisée sur le milieu Chapman, pour confirmer la présence de cocci en diplocoques et en grappes de raisin.

4.4.2.3. Purification des souches isolées

Les colonies sont ensemencées, sur le milieu adéquat (milieu Chapman). Celles qui présentent un aspect caractéristique de celui des staphylocoques, sont réensemencées à l'aide

d'une pipette Pasteur, en stries selon la méthode des quatre cadrant à fin d'obtenir des colonies bien isolées. Une coloration de Gram est refaite chaque fois pour contrôler la pureté des souches. La conservation est réalisée dans des tubes de gélose de conservation par piqure centrale. Les tubes sont ensuite conservés au réfrigérateur à 4°C, les repiquages sont effectués tout les 15 jours (Stephen *et al.*, 2006) (Annexe I).

4.4.3. Identification biochimique

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

4.4.3.1. Identification du genre

- **Test de catalase**

La catalase est une oxydoréductase intervenant dans le mécanisme de résistance à la bactéricidie. Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques. À partir d'un isolement, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur; on fait réagir la colonie dans 1 goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (10 volume) déposée sur une lame.

Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène).

Ce test peut être réalisé en tube contenant 0.5 ml de H₂O₂ ; à l'aide d'une pipette Pasteur des colonies sont prélevées et introduites dans le tube. Le résultat est identique à celui obtenu lors du test sur lame (Denis *et al.*, 2007).

- **Test d'oxydase**

Phénylène diamine oxydase communément appelée l'oxydase, est une enzyme permettant d'oxyder les dérivés méthylés du paraphénylène diamine (famille des cytochromes). Incolore, le N diméthyl paraphénylène diamine prend une coloration rose une fois oxydé, entre 5 à 10 secondes. L'oxydase ne doit pas être recherchée à partir de cultures sur des milieux contenant des glucides fermentescibles.

Prélever une colonie isolée et l'écraser sur le disque d'oxydase. L'apparition d'une coloration rose sur le papier filtre atteste de la présence de l'oxydase (Larpent *et al.*, 1997).

4.4.3.2. Identification de l'espèce

- **Test de la staphylocoagulase**

À l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une partie de chaque colonie sélectionnée et l'ensemencer dans un tube de bouillon cœur-cerveille. Incuber à 37°C durant 18 à 24 heures.

0,1 ml de chaque culture sont ajoutées stérilement à 0,3 ml de plasma de lapin frais dans des tubes stériles et incubé à 37 °C. La coagulation du plasma est examinée après 4 à 6 heures. Quand le coagulum occupe plus des trois quarts du volume initialement occupé par le liquide, la réaction à la coagulase est considérée comme positive.

À titre de contrôle on ajoute 0,1 ml de bouillon cœur-cerveille stérile à la quantité recommandée de plasma de lapin et on incube à 37°C. Pour que la réaction soit valable, le plasma du tube témoin ne devra pas montrer de signe de coagulation durant 24h (ISO 6888, 1983 ; 1058, 1996). La souche de contrôle est l'espèce *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- **Test de la thermonucléase « ADNase »**

Cette enzyme est recherchée sur une culture en bouillon cœur-cerveille incubé à 37°C pendant 24 heures. La culture est centrifugée pendant 15 minutes, puis le surnageant est porté au bain thermostable à 100 °C pendant 15 minutes. Une goutte de celui-ci refroidi puis déposée dans un puits préalablement creusé dans la gélose ADN additionnée de bleu de toluidine. La gélose est incubée à 37°C pendant 4 heures. La présence de la thermonucléase se traduit par un halo rose autour du puits, le reste de la gélose demeure de couleur bleu (ISO 8870, 2006 ; NA 1058, 1998).

- **Détermination du profil biochimique**

De nombreux dispositifs d'identification prêts à l'emploi sont proposés et fournissent des résultats fiables. Parmi ces systèmes, la galerie Api 20 STAPH permet par la mise en évidence de vingt caractères biochimiques classiques de différencier les *Staphylococcus aureus* des autres espèces du genre *Staphylococcus*. Les tests étudiés par cette galerie sont :

- Attaque de différents sucres ou polyalcools ;
- Recherche de nitrate réductase, de phosphatase, d'arginine dihydrolase et d'uréase (Marchal *et al.*, 2005).

- **Technique :**

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

Un inoculum bactérien d'opacité égale à 0,5 de McFarland est préparé avec l'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure de 18 heures sur gélose Columbia au sang. A l'aide d'une pipette, remplir l'eau physiologiqueensemencée dans les tubes de la galerie à l'exception des cupules sans pour autant dépasser le niveau des tubes.

Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE, en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine ensuite renfermer la boîte d'incubation et incuber à 37 °C pendant 18 à 24 heures. La lecture peut s'effectuer, soit directement par rapport aux résultats du tableau d'identification, ou bien après transformation de ces résultats en code chiffré dont la signification est donnée par un index numérique (API web) (CLSI, 2000 ; Murray, 2003).

4.5.4. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose à partir de disques d'antibiotiques selon les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS, 2000).

4.5.4.1. Antibiogramme

La suspension bactérienne doit être homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0,5 McFarlan. L'ajustement s'opère en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau physiologique stérile.

Le milieu Mueller-Hinton (MH) (Annexe I) est coulé en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm, son ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée sèche de Mueller-Hinton, de haut en bas, en stries serrées.

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. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

4.5.4.2. Antibiotiques testés

La sensibilité des différentes souches a été déterminée essentiellement vis-à-vis de vingt antibiotiques : la pénicilline G (10 UI), la céfoxitine (30 µg), l'oxacilline (1 µg), la gentamicine (10 µg), la tobramycine (10 µg), la kanamycine (30 µg), l'amikacine (30 µg), l'érythromycine (15 µg), la spiramycine (10 µg), la lincomycine (10 µg), la pristnamycine (15 µg), la vancomycine (30 µg), l'ofloxacin (5 µg), la tétracycline (30 µg), le chloramphénicol (30 µg), la fosfomycine (50 µg), l'acide fusidique (10 µg), la bacitracine (8 µg), l'acide nalidixique (30 µg), la novobiocine (30 µg).

Ces antibiotiques appartiennent à différentes familles représentées dans l'annexe II.

4.5.4.3. Application des disques d'antibiotiques

Six disques d'antibiotiques sont appliqués par boîte, ils sont espacés de 24 mm, centre à centre.

Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince stérile. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

Les boîtes sont immédiatement incubées pendant 18 heures en atmosphère ordinaire à 37°C.

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant sur la table de lecture, ensuite la bactérie est classée dans l'une des catégories: sensible, intermédiaire ou résistante (Annexe II).

La souche de contrôle de qualité est *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 traitée dans les mêmes conditions que la souche à tester. Ce contrôle valide le résultat du test et permet de contrôler les disques d'antibiotiques et la qualité du milieu Mueller-Hinton.

4.5.5. Recherches complémentaires obligatoires de la résistance de *S. aureus*

4.5.5.1. Recherche de la résistance de *Staphylococcus spp.* à l'oxacilline

- **Test de diffusion du disque de céfoxitine**

La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl pénicillines (oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 µg), en plus du disque d'oxacilline lui-même dans les conditions standard (OMS, 2008).

La mesure du diamètre d'inhibition (Annexe II) doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse.

Un test de confirmation par la technique du screening à l'oxacilline est réalisé (test MRSA).

- **Test de screening à l'oxacilline pour *S. aureus* (test MRSA)**

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

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

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

Dans une boîte de pétri stérile de 90 mm de diamètre, 2 ml de cette dilution sont déposés, 18 ml de gélose Mueller-Hinton additionnée de 4% de Na Cl (Annexe I) y sont ajoutés, le contenu est mélangé par des mouvements rotatoires. L'inoculum est réalisé de la même manière que celui de l'antibiogramme.

La boîte de Pétri est divisée en quatre cadrants: l'un est ensemencé par la souche à tester, les deux autres par les souches de références: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 souche sensible à l'oxacilline et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 souche résistante à l'oxacilline, alors que le quatrième cadrant est non ensemencé (NCCLS, 1997, OMS, 2005).

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

4.5.5.2. Recherche de la bêta lactamase (test du trèfle)

La recherche de la β -lactamase est réalisée pour toute souche présentant un diamètre à la pénicilline < 28mm (NCCLS, 1999 ; OMS, 2005).

A partir d'une culture pure de 18 h de la souche à étudier, une subculture en bouillon cœur-cerveau est réalisée ainsi que pour les souches de références.

La souche de *S. aureus* ATCC 25923 sensible à la pénicilline (témoin négatif) est ensemencée sur la totalité de la gélose Mueller-Hinton, un disque de pénicilline G est appliqué par la suite au centre de la boîte. Une nouvelle fois, cette même souche est ensemencée en strie radiale sur cette même boîte allant du centre vers la périphérie. De la même manière, sont

ensemencées la souche *S. aureus* ATCC 43300 résistante à la pénicilline (témoin positif) et la souche à tester. La boîte est incubée pendant 18 heures à 37°C en atmosphère normale.

La production de la β -lactamase (Pénicillinase) par la souche à étudier et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la pénicilline) jusqu'au contact du disque de pénicilline.

4.5.5.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

a-Détermination de la concentration minimale inhibitrice en milieu solide vis-à-vis de l'oxacilline

La CMI à l'oxacilline pour toutes les souches de *S. aureus* présentant une résistance à l'oxacilline.

Préparer une solution mère à 1600 $\mu\text{g/ml}$ (16 mg de poudre de l'antibiotique diluée dans 10 ml d'eau distillée).

Commencer par la distribution d'eau distillée dans chaque tube et à partir de la solution mère, procéder à la distribution de l'antibiotique en changeant de pipette à chaque fois que nécessaire.

Prendre 2 ml de chaque dilution d'antibiotique (160 $\mu\text{g/ml}$, 80 $\mu\text{g/ml}$ à 0,16 $\mu\text{g/ml}$) en allant de préférence de la plus faible à la plus forte dilution et la mettre dans les boîtes de

Petri correspondantes (16 $\mu\text{g/ml}$ à 0,016 $\mu\text{g/ml}$), ajouter dans chaque boîte 18 ml de Mueller Hinton + 2 % de NaCl. Homogénéiser par mouvements rotatoires et laisser solidifier.

Préparer les suspensions des souches à tester et des souches témoins, de la même manière que pour l'antibiogramme (0,5 Mac Farland) puis appliquer 3 μl des différentes suspensions sur la gélose à l'aide d'une micropipette. Incuber les boîtes de 18 à 24 heures à 35 °C (OMS, 2005).

b- Détermination de la concentration minimale inhibitrice par bandelettes E-Test

Une suspension bactérienne d'une opacité équivalente à 0,5 McFarlan est préparée avec l'eau physiologique à partir d'une culture bactérienne pure de 18 h sur milieu Chapman.

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée du milieu Muller Hinton en stries serrées, répéter l'opération deux fois, en tournant à chaque fois la boîte de 60° , sans oublier de

faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Appliquer les bandelettes E-test (tétracycline, le chloramphénicol), à l'aide d'une pince stérile, sur la surface de la gélose. Utiliser une bandelette par boîte, une fois appliquée, la bandelette ne doit pas être déplacée. Incuber 18 à 24 heures à 37° C.

La valeur de la CMI correspond à l'intersection des 2 ellipses. Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant sur un tableau récapitulatif des valeurs critiques pour les CMI de *S. aureus* (Annexe II).

La bactérie est classée dans l'une des catégories : **Sensible**, **Intermédiaire** ou **Résistant** (NCCLS, 2006 ; OMS, 2005).

Résultats et discussions

1. Prélèvements

Au cours de la période d'étude s'étalant du 31 Octobre au 31 Juin 2012, 107 prélèvements de différents aliments ont été analysés au Laboratoire d'hygiène et pathologie animales à l'université d'IBN KHALDOUN - Tiaret.

Il s'agit de viande fraîche, de lait de vache cru, de lait de vache pasteurisé, de pâtisserie et de plats cuisinés (Tableau 5).

2. Cultures des prélèvements

Le résultat des cultures des prélèvements est présenté dans le tableau 6.

Sur 107 prélèvements analysés, 77 se sont révélés positifs (développement bactérien), soit un taux de 71,96%. Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui après culture sur les différents milieux utilisés, montrent un développement bactérien. Ce taux de positivité est assez élevé mais en aucun cas ne permet de prédire la qualité bactériologique des échantillons.

3. Taux d'isolement de *Staphylococcus spp* à partir de cultures positives

Sur le milieu de culture (Baird Parker), les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus* ont été prélevées. Le développement bactérien sur ce milieu ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (*Micrococcus*) peuvent également y être cultivées (Joffin et al., 2006).

Sur le milieu Baird Parker, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent noires, convexes, brillantes, de diamètre compris entre 0,5 et 2 mm entourées d'un halo clair due à l'hydrolyse des protéines de l'œuf, après une incubation de 48h à 37°C (Joffin et al., 2006) (Figure 4).

Sur milieu Chapman, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleur blanche. Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à 37°C (Carbonnelle et al., 1990) (Figure 5).

Tableau 5 : Répartition des prélèvements selon leur nature

Type de prélèvements		Nombre de prélèvement	Pourcentage
Viandes Fraîches	Poulet	05	24,29%
	Viande hachée	09	
	Merguez	05	
	Viande en morceau	07	
Lait de vache cru		20	18,69%
Lait de vache pasteurisé		18	16,82%
Pâtisseries		23	21,49%
Plats cuisinés		20	18,69%
Total		107	100%

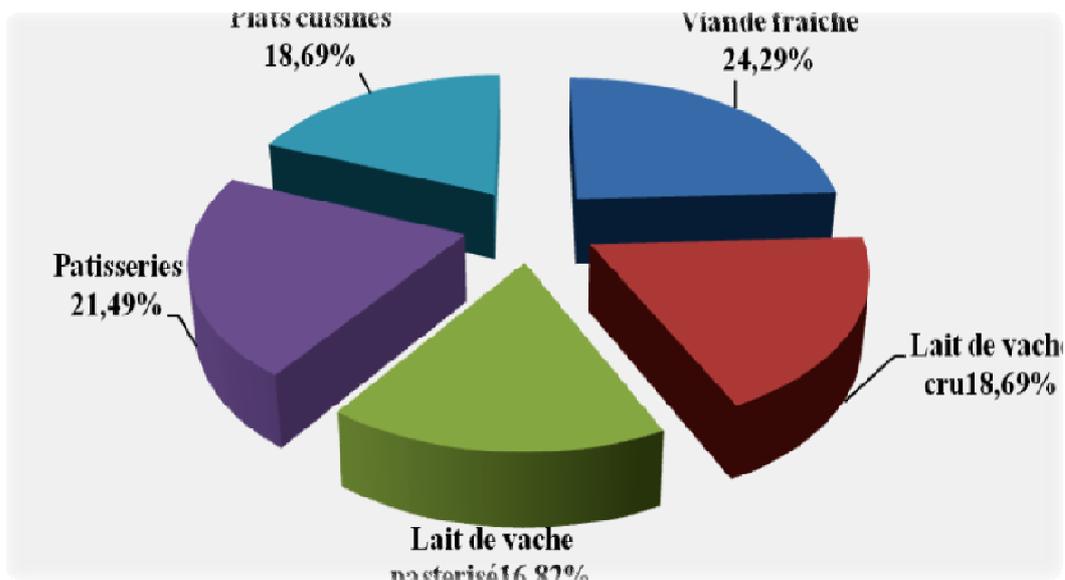


Figure 3: Répartition globale des prélèvements selon leur origine.

Tableau 6 : Répartition des prélèvements selon leur culture

Culture	Nombre	Pourcentage
Présence	77	71,96%
Absence	30	28,03%
Total	107	100%

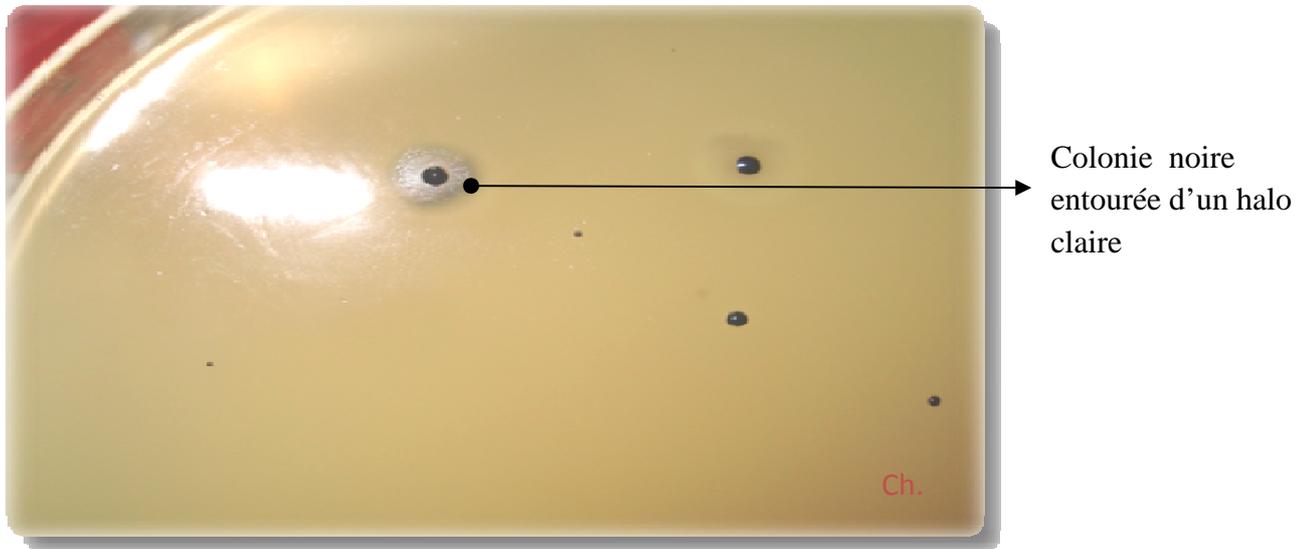


Figure 4 : Aspect des colonies de *S. aureus* sur milieu Baird Parker

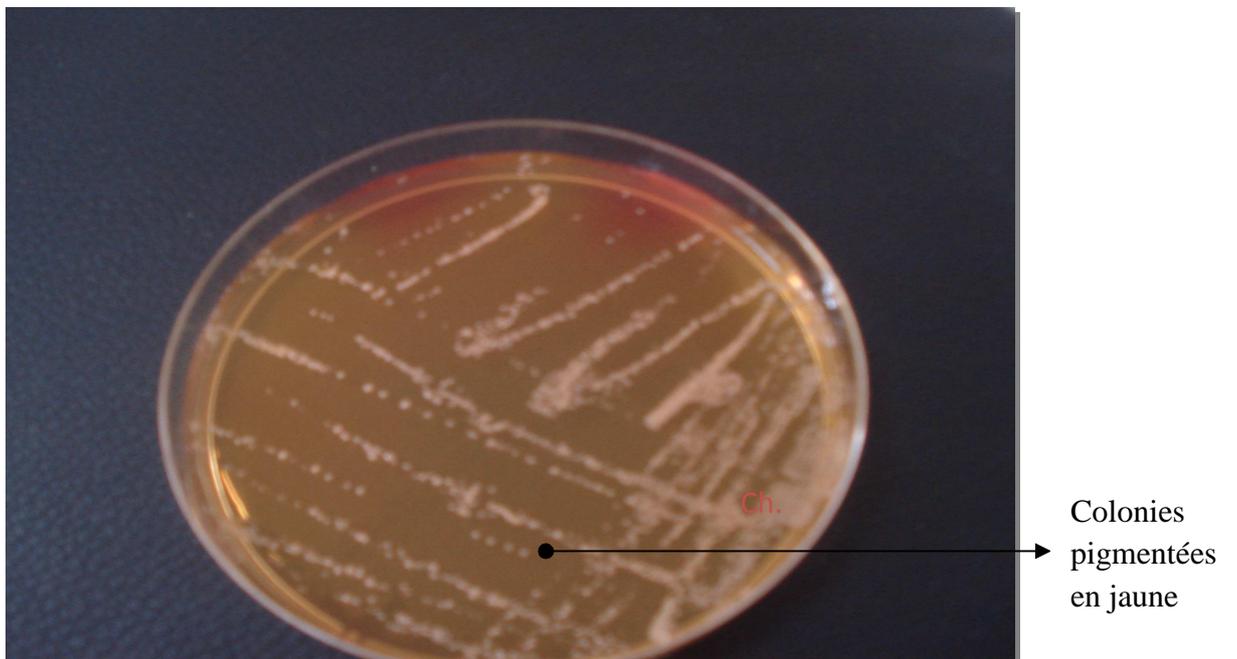


Figure 5 : Aspect des colonies de *S. aureus* sur milieu Chapman

La totalité des souches de *Staphylococcus spp* isolées répondent aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques du genre *Staphylococcus*.

Notons que sur 77 prélèvements positifs, 63 souches appartiennent au genre *Staphylococcus*, soit une fréquence de 58,87% de la totalité des échantillons prélevés (63/107) et 81,81% des échantillons présentant des cultures positives (63/77) (Tableau 7); Ainsi, plus du deux tiers des souches isolées sont des staphylocoques, ce qui montre l'importance de la contamination par ce germe.

4. Identification de l'espèce *S. aureus*

Sur les 63 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, 56 souches pures ont été identifiées à l'espèce *S. aureus* par la mise en évidence de la coagulase libre (utilisation du plasma de lapin frais) (Figure 6), la DNase (Figure 7) et par la galerie biochimique API Staph (Figure 8), ce qui représente un taux de 81,88 % de l'ensemble des souches de staphylocoques isolées (56/63), 72,72 % sur la totalité des prélèvements qui se sont avérés positifs (56/77) et 52,33% sur la totalité des prélèvements examinés (56/107) (Tableau 7).

Le reste des souches appartient aux espèces à coagulase négative.

On considère que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quarts du volume initialement occupé par le liquide. Le plasma du tube témoin ne montre pas de signes de coagulation (Figure 6).

L'apparition d'un halo rose qui s'étend sur 1mm au moins autour du puits traduit la présence de thermonucléase. Seule la couleur rose peut être attribuée à l'activité de la thermonucléase (Figure 7).

Les *S. aureus* fermentent plusieurs sucres, sur la figure 8, l'attaque des sucres se traduit par le virement de couleur vers le jaune. Le virage de couleur du rose vers le rouge indique la réduction du nitrate en nitrite et le virage du jaune vers le rose désigne la présence d'arginine dihydrolase (ADH^+) et de l'uréase (URE^+). Pour la production d'acétyl méthyl-carbinol (VP^+) par *S. aureus* se traduit par la couleur violette.

Tableau 7 : Fréquence d'isolement de *S. aureus*

Prélèvements	Cultures positives	Nombre de souches de staphylocoques	Nombre de souches de <i>S. aureus</i>
107	77	63	56
100%	71,96%	58,87%	52,33%

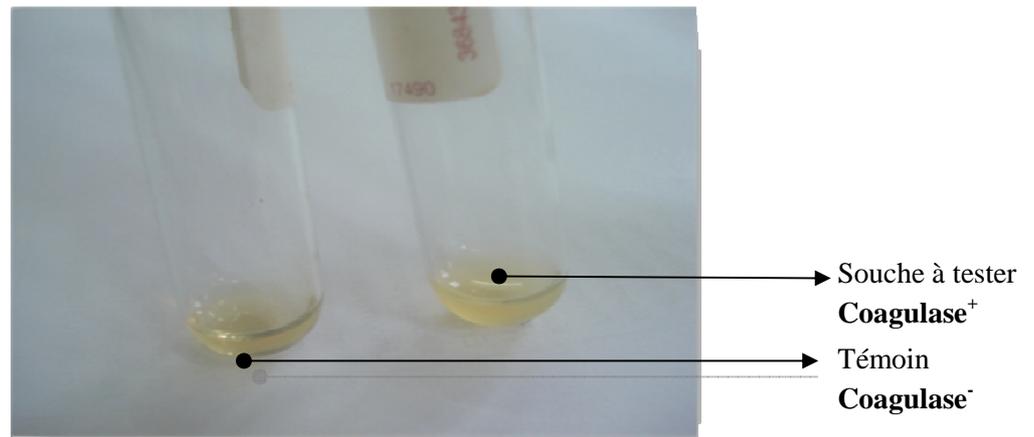


Figure 6 : Mise en évidence de la coagulase libre chez les staphylocoques

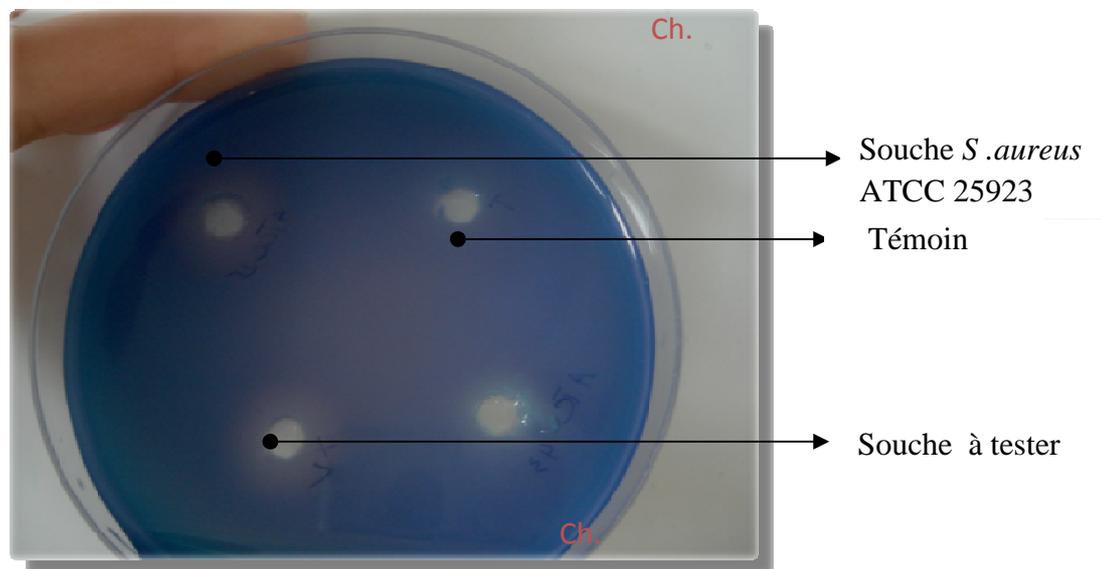


Figure 7 : Mise en évidence de la DNase chez les staphylocoques

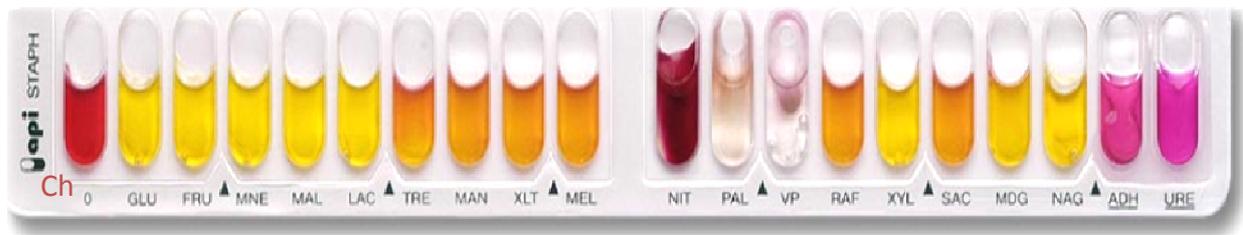


Figure 8 : Mise en évidence des caractères biochimique par API STAPH.

5. Répartition des souches de *S. aureus* selon la nature des prélèvements

Les 56 souches de *S. aureus* ont été isolées à partir d'une variété de prélèvements d'aliments, soit une prévalence de 52,3% sur l'ensemble des échantillons analysés, avec des fréquences significativement élevées dans le lait cru (70 %), plats cuisinés (55 %) et les viandes crues (50 %), comparées à celles des autres aliments (Tableau 8, Figure 9).

Nos résultats montrent que le taux de contamination à *S. aureus* est plus élevé que celui observé dans l'enquête précédemment menée en Italie sur plusieurs types de denrées d'alimentaires, qui a révélé une prévalence totale de *S. aureus* de 17,3% et un taux variant de contamination allant de 17,1% à 48,1% dans les produits carnés (Normanno et *al.*, 2005 ; Normanno et *al.*, 2007_b) et 17% dans le lait et ses dérivés (Normanno et *al.*, 2007_b). Il est également supérieur à celui d'André et *al.* qui rapportent une occurrence à *S.aureus* de 66,7% dans le lait cru bovin au Brésil (André et *al.*, 2008). Par contre cette contamination est inférieure à celui de Jørgensen et *al.* qui ont rapporté une fréquence élevée de *S. aureus* provenant de lait en vrac de bovins et caprins (75% et 96,2%, respectivement) en Norvège (Jorgensen et *al.*, 2005), alors qu'un taux de 53,3% était indiqué à partir de prélèvements de viande crue en Turquie (Gundogan et *al.*, 2005).

Au Portugal, Pereira et *al.* rapportent un taux de 71,8% de *S. aureus* isolé de différents aliments (Pereira et *al.*, 2009). Ces résultats mettent en évidence un risque potentiel majeur pour les consommateurs en particulier en l'absence d'hygiène rigoureuse et de mesures préventives pour éviter toute source de contamination qui engendrera la production d'entérotoxines SE dans les aliments (Normanno et *al.*, 2007_b). La prévalence de *S. aureus* dans chaque type d'aliment laisse à suggérer que ceux d'origine animale sont la source prédominante de contamination et dont l'origine peut être expliquée de plusieurs manières.

Tableau 8 : Répartition des souches de *S. aureus* en fonction des prélèvements

Type de prélèvement		Nombre de prélèvements	Nombre et (%) <i>S. aureus</i> isolés
Viandes Fraîches	P	05	1 (20%)
	VH	09	5 (55,5%)
	M	05	3 (60%)
	VM	07	4 (57,1%)
	Totale	26	13 (50%)
Lait de vache cru		20	14 (70%)
Lait de vache pasteurisé		18	7 (38,8%)
Pâtisseries		23	11 (47,8%)
Plats cuisinés		20	11 (55%)
Totale		107	56 (52,3%)

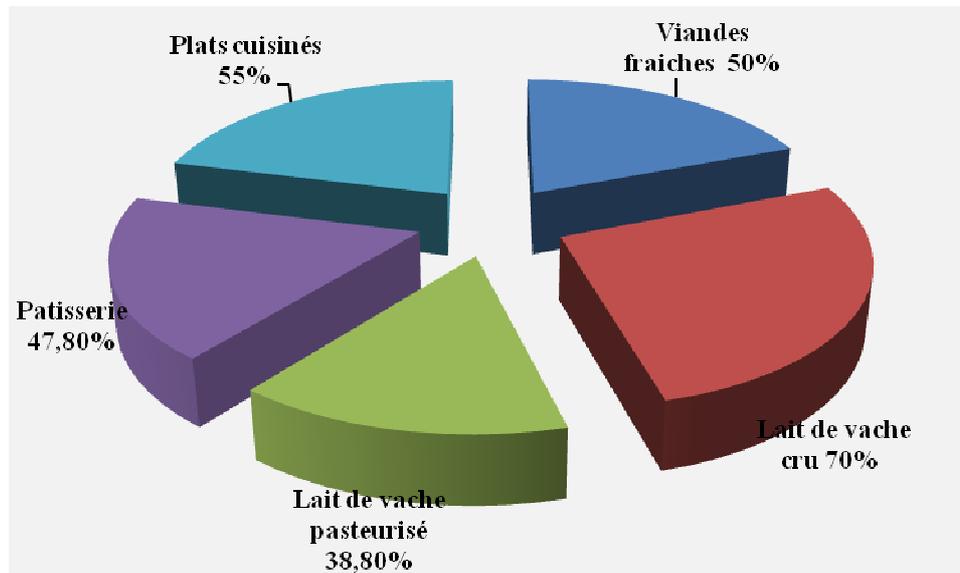


Figure 9 : Répartition des souches de *S. aureus* en fonction des prélèvements

Il se trouve que le *S. aureus* est la bactérie la plus fréquemment isolée à partir de mammites bovine dans le monde entier (André et *al.*, 2008) ; Elle est responsable d'environ 40% de tous les cas de mammites bovines en Algérie (Kaidi et *al.*, 2011), où la contamination du lait cru par des mamelles infectées est évidente et contribue à la mauvaise qualité microbiologique du lait (André et *al.*, 2008).

Dans les fermes visitées, la contamination par l'environnement due notamment au manque d'hygiène dans les bâtiments d'élevage et au cours de la traite, sont autant de facteurs expliquant la fréquence élevée de cette bactérie dans les échantillons de lait cru.

La présence de *S. aureus* dans la viande crue peut être suite à la contamination des carcasses lors de l'abattage. Bien que les régions nasales soient considérées comme le site principal de la colonisation par *S. aureus*, ces organismes sont également présents dans le tractus intestinal. Au cours du processus d'abattage, les carcasses peuvent être contaminées soit par le contenu du tractus intestinal soit par l'environnement d'abattage.

La présence de *S. aureus* dans les aliments peut aussi bien être expliquée par une contamination introduite directement dans la nourriture due à une mauvaise manipulation et à l'ignorance ou négligence des pratiques d'hygiène parmi les manipulateurs de denrées alimentaires au cours de la production, la transformation et /ou la distribution.

Les aliments exposés à une contamination par *S. aureus* en post-traitement, représentent un risque important pour la santé humaine, en effet ce pathogène est supposé avoir été éliminé par la chaleur durant le traitement (cuisson ou pasteurisation) par conséquent, sa présence dans les aliments transformés est généralement indicative de mauvaises conditions d'hygiène (Crago et *al.*, 2012). La propagation de *S. aureus* par les manipulateurs d'aliments suscite des préoccupations et doit être éliminé dans la chaîne alimentaire.

Dans les quelques cas rapportés concernant le lait pasteurisé, la principale cause de contamination était toujours en post-pasteurisation en raison de l'équipement défectueux et les mauvaises pratiques de manipulation des produits (Schmid et *al.*, 2009). Cela est confirmé par notre étude qui révèle entre autres une fréquence de contamination non moindre concernant les aliments transformés.

Les taux de contaminations sont de l'ordre de 55% dans les plats cuisinés, 47,8% dans la pâtisserie et 38,8% dans le lait pasteurisé. Ainsi la présence de *S. aureus* dans les aliments crus est moins grave que sa présence dans ceux qui ont fait l'objet d'un traitement thermique (cuisson ou pasteurisation) d'une part, en raison de la faible présence de souches entérotoxigènes, de l'autre, de la concurrence de la microflore dans les aliments crus qui est susceptible d'inhiber la croissance de *S. aureus* (Soriano *et al.*, 2002).

Ces rapports illustrent l'impact potentiel que ce pathogène peut avoir sur la santé publique et l'industrie alimentaire.

6. Test de sensibilité aux antibiotiques

La nourriture est un facteur important dans le transfert de la résistance aux antibiotiques (Pesavento *et al.*, 2007). Les souches de *S. aureus* sont connues pour être fréquemment résistantes aux antimicrobiens à cause de leur capacité à produire une barrière exopolysaccharide d'un côté et de l'autre, leur localisation au sein des micro-abcès, qui limitent l'action des antibiotiques (Gundogun *et al.*, 2006).

La sensibilité aux antimicrobiens de nos 56 souches de *S. aureus* isolées a été analysée; Aucune des isolats n'étaient sensibles à tous les antibiotiques testés. Trois souches (5,3%) ont montré une résistance unique, toutes à l'acide nalidixique, les résistances doubles étaient présents dans 6 (10,7%) des souches isolées alors que les 47 autres souches (83,9%) ont montré des résistances multiples (≥ 3 antibiotiques) (selon CLSI, 2007).

Le plus haut taux de résistance a été observé pour l'acide nalidixique (100%), la bacitracine (87%) et à la pénicilline (64%), suivie par la fosfomycine (35%), l'acide fusidique (30%), érythromycine (26%), la tétracycline et la kanamycine (16%), comme l'indique le tableau suivant.

Tableau 9 : Sensibilité des isolats de *S. aureus* aux antibiotiques (n=56).

Antibiotiques	Résistant n (%)	Intermédiaire n (%)	Sensible n (%)
Pénicilline	36 (64%)	Nd	20 (35%)
Oxacilline	2 (3%)	0	54 (96%)
Céfoxitine	2 (3%)	Nd	54 (96%)
Gentamicine	0	0	56 (100%)
Tobramycine	1(1,7%)	0	55 (98%)
Kanamicine	9 (16%)	3(5%)	44 (78%)
Amikacine	5 (9%)	2 (3%)	49 (87%)
Erythromycine	15 (26)	1 (1,7%)	40 (71%)
Spiramycine	0	5 (9%)	51 (91%)
Lincomycine	3 (5%)	2 (3%)	51 (91%)
Pristinamycine	0	0	56 (100%)
Bacitracine	49 (87%)	Nd	7 (12%)
Vancomycine	0	0	56 (100%)
Ofloxacine	2 (3%)	0	54 (96%)
Acide nalidixique	56 (100%)	0	0
Tétracycline	9 (16%)	1(1,7%)	46 (82%)
Chloramphénicol	0	0	56 (100%)
Fosfomycine	20 (35%)	Nd	36 (64%)
Acide fusidique	17 (30%)	0	39 (69%)
Novobiocine	0	0	56 (100%)

Nd : non déterminé

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

6.1.1. Fréquence

A l'aide du test à la céfoxitine, deux souches sur les 56 isolats de *S. aureus* non redondantes présentent une résistance à la céfoxitine avec une zone d'inhibition ≤ 19 mm, plus de leurs résistances à l'oxacilline dans les conditions standards de l'antibiogramme ; Cette résistance à l'oxacilline est confirmée grâce au screening test (Felten et al, 2002).

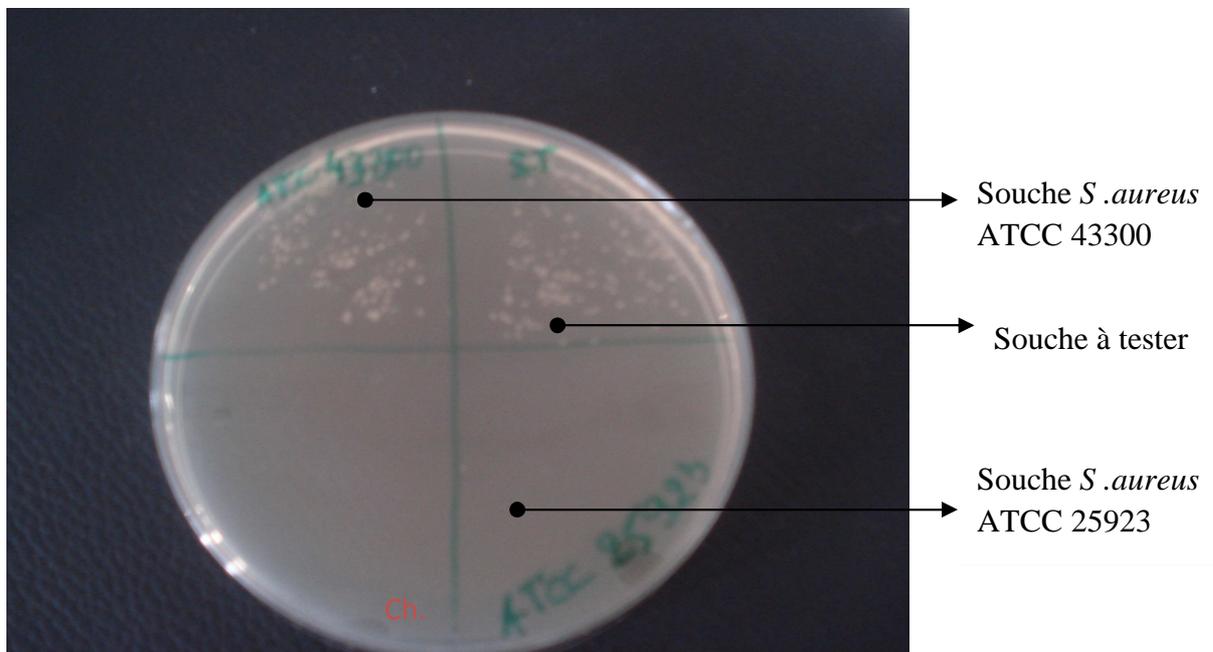


Figure 10 : Test de la recherche de la résistance à l'oxacilline chez *S. aureus*

La culture de plus d'une colonie de la souche test (Figure 10) dans cette gélose à concentration élevée d'oxacilline, suffit pour confirmer une résistance à cet antibiotique, ce qui implique une résistance à toutes les β -lactamines. Les souches de références *S. aureus* ATCC 43300 résistante à l'oxacilline et *S. aureus* ATCC 25923 sensible à l'oxacilline étaient testées dans les mêmes conditions.

Selon CLSI (2007), il est possible de conclure à la présence de 02 souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (ou à l'oxacilline), soit un taux de (1,86%) de la totalité des échantillons analysés (2/107) et 3,57% sur l'ensemble des souches de *S. aureus* isolées (2/56).

Cette résistance est confirmée par la détermination de la CMI par microdilution en milieu solide pour l'oxacilline (figure 11); Les résultats obtenus sont très proches de ceux de la diffusion en milieu solide, ils concordent d'une manière générale avec ceux des diamètres d'inhibition; les antibiotiques ayant induit une petite zone d'inhibition présentent une forte CMI sur les souches correspondantes.

La figure 11 montre la présence d'une culture bactérienne dans les boîtes A, B, C, D, E, F,G correspondant aux différentes concentrations d'oxacilline, ce qui signifie que ces concentrations sont très faibles pour inhiber la croissance de la souche test. L'absence de culture visible dans la boîte H correspond à la plus faible concentration ou CMI d'oxacilline inhibant la croissance de cette souche.

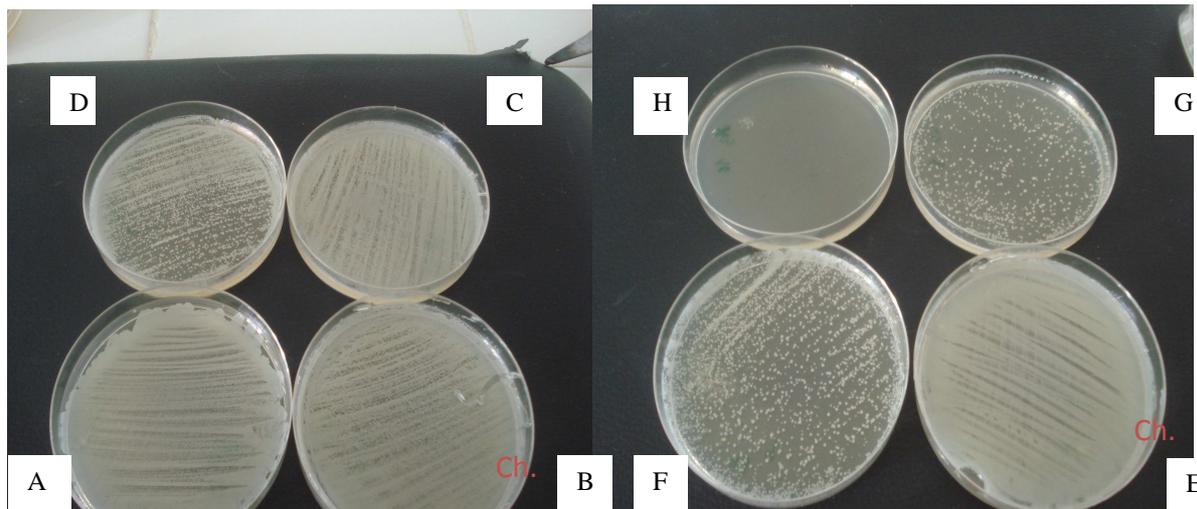
La concentration minimale inhibitrice des deux souches vis-à-vis de l'oxacilline est $\geq 4\mu\text{g/ml}$ pour la souche isolée du lait de vache cru, $\text{CMI} \geq 16\mu\text{g/ml}$ pour la souche de viande fraîche. On peut alors considérer nos souches phénotypiquement résistantes à l'oxacilline (MRSA).

6.1.2. Répartition des souches SARM en fonction du prélèvement

Les résultats de notre étude indiquent que les deux isolats de SARM sont d'une origine animale : viande de poulet fraîche (1 souche) et lait cru (1 souche), aucun SARM n'a été isolée de lait pasteurisé, de plats cuisiné ou de pâtisserie (Tableau 10).

Les infections à SARM sont un problème de santé publique à l'échelle mondiale, en raison de la gravité des maladies qu'ils peuvent causer. Jusqu'à récemment, les infections à SARM sont principalement recrudescents en milieu hospitalier dans le monde entier (Normanno *al.*, 2007_a).

Une étude faite en Algérie en 2011, révèle que le taux de SARM à été en constante augmentation dans le milieu hospitalier avec 4,5% en 2002, 33,2% en 2004, 45% en 2006 et 52% en 2011 (Rebiahi et *al.*, 2011 ; Bekkhoucha et *al.*, 2009). Ce pourcentage, même s'il est inférieur à ce qui a été rapporté pour le Sénégal et les Etats-Unis, avec respectivement 70% et 72%, il est proche de celui rapporté en Egypte en 2004 tout en restant nettement supérieur à ceux rapportés pour la Côte Ivoire, le Maroc et la Tunisie avec respectivement 25%, 19,3%, et 15,3% (Mastouri et *al.*, 2010).



Concentrations d’Oxacilline en boîtes: A: 0,125 µg/ml, B: 0,25 µg/ml , C: 0,5 µg/ml, D: 1 µg/ml, E:2 µg/ml, F: 4 µg/ml, G: 8 µg/ml, H: 16 µg/ml.

Figure 11 : Résultat de la microdilution sur milieu solide vis-à-vis de l’oxacilline.

Tableau 10 : Répartition des souches SARM en fonction des prélèvements

Type de pvt	Nb de pvt	Nb de <i>S.aureus</i>	Nb de SARM	% des S ARM
Viande fraiche	26	13	01	50%
Lait cru	20	14	01	50%
Lait pasteurisé	18	07	00	00
Poulet	23	11	00	00
Plats cuisinés	20	11	00	00
Total	107	56	02	100%

Cependant, seuls quelques cas de SARM chez les animaux producteurs d'aliments et dans les aliments d'origine animale ont été signalés (Lee, 2003 ; Kitai *et al.*, 2005).

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

Depuis, peu de souches de SARM ont été isolées à partir de plusieurs aliments d'origine animale, y compris la viande de porcs, de bovins, de poulet et du lait (Boera *et al.*, 2009). La source de contamination des aliments est encore mal connue. Néanmoins peu de rapports sur la

présence et l'origine possible de SARM dans les aliments sont disponibles (Normanno *et al.*, 2007_a).

Les résultats de notre étude concordent avec celles récemment réalisées, où les fréquences d'isolement des SARM dans les aliments sont faibles, bien que le taux trouvé dans notre étude (1,86%) est considéré un peu élevé par rapport au nombre de prélèvements, comparé au taux enregistré par Normanno *et al.*, 2007_a qui a isolé 6 souches, soit (0,4%) de SARM à partir de 1634 échantillons de lait de vache et de fromage. Dans une enquête Japonaise, Kitai *et al.* (2005) à isolé deux souches de SARM (0,5%) à partir de 444 échantillons de viande de poulet bien que l'étude menée en Corée comprenant 930 abattoirs et des échantillons de viande au détail, a montré la présence de SARM dans deux échantillons de viande de poulet (0,2%), à l'exclusion des échantillons de porc ou de bœuf (Kwon *et al.*, 2006).

Cependant, des fréquences plus élevées sont rapportés par Van Loo *et al.* (2007) qui ont trouvé 2 souches (2,5%) de SARM dans 79 échantillons de viande de porc crue et de viande bovine alors que, E.de Boer *et al.* (2009) ont isolé 264 souches de SARM (11,9%) à partir de 2217 échantillons de viande dans les pays nordiques. Ceci suggère que les aliments d'origine animale sont des réservoirs de SARM et peuvent transmettre l'agent pathogène à l'être humain (Crago *et al.*, 2012). En matière de sécurité alimentaire, la présence de SARM dans les aliments et notamment dans le lait cru de bovins présente une menace avérée, surtout quand il est consommé cru ou utilisé dans la production fromagère, constituant ainsi une source de contamination pour les produits laitiers transformés.

En conclusion, la pasteurisation du lait est à même d'éliminer le risque pour les consommateurs en ce qui concerne les infections à SARM.

7. Résistance des SARM aux autres antibiotiques

7.1. Fréquence de la résistance

Les tests d'évaluation de la résistance aux antibiotiques ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique en gélose à partir de disques imprégnés d'antibiotiques, selon les recommandations du NCCLS.

Les 02 souches SARM présentent une résistance associée à d'autres familles d'antibiotiques.

La résistance à la méthicilline (oxacilline) des deux souches du *Staphylococcus aureus* est croisée avec celle de toutes les bêtalactamines.

Ces deux souches SARM sont résistantes à la kanamycine/amikacine. La résistance à la tobramycine est signalée chez une seule souche, cependant on note aucune résistance pour la gentamicine (famille des aminosides).

Pour la famille des macrolides, nous constatons que la résistance est de type MLSB constitutif pour les deux souches, puisque la résistance touche en plus de l'érythromycine, la spiramycine et la lincomycine.

Pour les autres antibiotiques, la résistance est variable et va de l'acide nalidixique (02 souches), l'ofloxacine (02 souches) et la bacitracine (02 souches) à l'acide fusidique (01 souche) et la fosfomycine (01 souche).

Les deux isolats de SARM sont résistants à la tétracycline. La figure 12 montre la mise en évidence de la CMI vis-à-vis de cet antibiotique. Les CMI enregistrées correspondent à l'intersection des 2 ellipses, elles sont égales à 64µg/ml pour la souche isolée de viande fraîche (poulet) et 32µg/ml pour la souche isolée d lait cru de vache.

Dans une étude menée en Italie sur la sensibilité des SARM aux antibiotiques, Normanno *et al.* ont rapporté que les six isolats de SARM sont résistantes à l'acide nalidixique et 3 souches seulement sont résistantes aux β-lactamines. Tandis qu'aucune résistance n'est signalée pour la tétracycline (Normanno *et al.*, 2007).

Concernant la vancomycine, elle garde toujours une bonne activité sur nos souches SARM. Cette sensibilité est corroborée par Pesavento *et al.* (2007), Normanno *et al.* (2007) en Italie et Vázquez-Sánchez (2012) en Espagne, de ce fait, elle constitue la molécule de choix dans le traitement des infections graves causées par ces bactéries néanmoins, la surveillance de la sensibilité des SARM vis-à-vis des glycopeptides reste obligatoire, du fait que l'émergence des souches résistantes à la vancomycine a été déjà décrite en milieu hospitalier dans plusieurs pays, particulièrement en Algérie par Rebiahi *et al.* (2011), cependant cette molécule reste toujours active dans les hôpitaux marocains (Elhamzaoui *et al.*, 2009 ; Elazhari *et al.*, 2009).

Le chloramphénicol, la novobiocine et la pristinamycine ont été constamment actifs et peuvent être de bonnes alternatives thérapeutiques. La concentration minimale inhibitrice des deux SARM vis-à-vis du chloramphénicol est égale à 0,064 µg/ml pour la souche isolée du poulet (Figure 13) et de 0,016 µg/ml pour celle isolée du lait cru. Ce résultat rejoint ceux signalés par Vanderhaeghen *et al.* (2010) où la sensibilité des SARM isolés à partir de lait de

vache en Belgique au chloramphénicol était de 99%. En milieu hospitalier ces antibiotiques gardent une bonne activité sur les SARM où une sensibilité de 100% était rapporté en Algérie par Aouati (2009), Ouchénane et *al.* (2011) et 99% par Elzhari et *al.* (2009) au Maroc ; dans le but de prévenir une éventuelle transmission d'agents pathogènes de l'aliment à l'homme et vise vers ça (Pesavento et *al.*, 2007), il est alors nécessaire qu'un control précis et active de toute nouvelle résistance des SARM aux antibiotiques dans la communauté et dans les aliments soit systématique.

7.2. Phénotype de résistance des SARM

Une attention particulière doit être portée sur nos SARM, du faite que les souches isolées présentent une multirésistance, ce qui pose problème de prise en charge efficiente, en mesure de retarder l'éradication ces infections. Nous remarquons la présence de deux profils de résistance P/Ox/Fox/K/An/B /E/Sp/L/NA/Ofx/TE/FA. Chez le *S. aureus* isolé de la viande fraîche et P/Ox/Fox/K/An/Tm/E/B/Sp /L/TE/NA/Ofx/Fos. chez la souche retrouvée dans le lait de vache cru. Afin de caractériser plus précisément l'ensemble des souches de *S. aureus* étudiées, nous avons analysé leur phénotype de résistance vis-à-vis des macrolides (Tableau 11) et des aminosides (Tableau 12). La résistance de nos souches SARM aux macrolides est de phénotype MLS_B, celui-ci implique une résistance croisée aux macrolides, lincosamides et aux streptogramines B par méthylation de l'ARN ribosomique 23S. Le phénotype MLS_B de type constitutif est le dominant dans cette étude, conférant alors en plus de la résistance à l'érythromycine, à la spiramycine et à la lincomycine. Cependant, en Tunisie les SARM isolées a partir de moutons expriment un phénotype MLS_B inducible (Gharsa et *al.*, 2012), alors qu'en Italie les SARM isolés a partir d'aliments d'origine animale présentent un phénotype sensible (Normanno et *al.*, 2007_a).

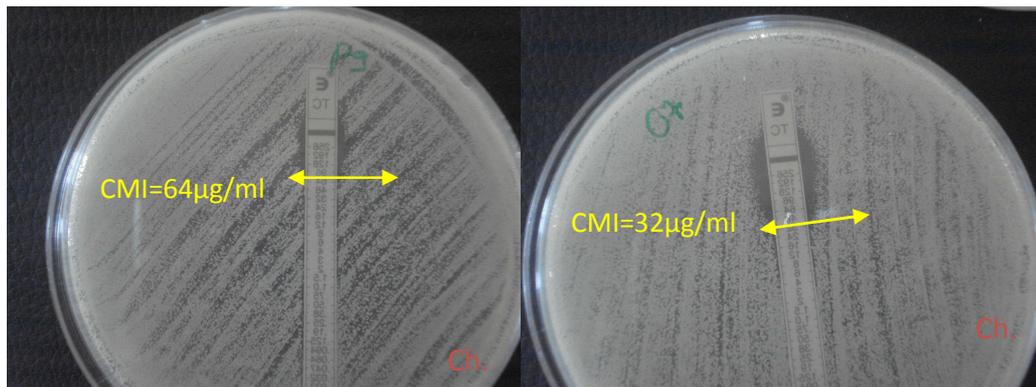


Figure 12 : La CMI de SARM vis-à-vis de la Tétracycline.

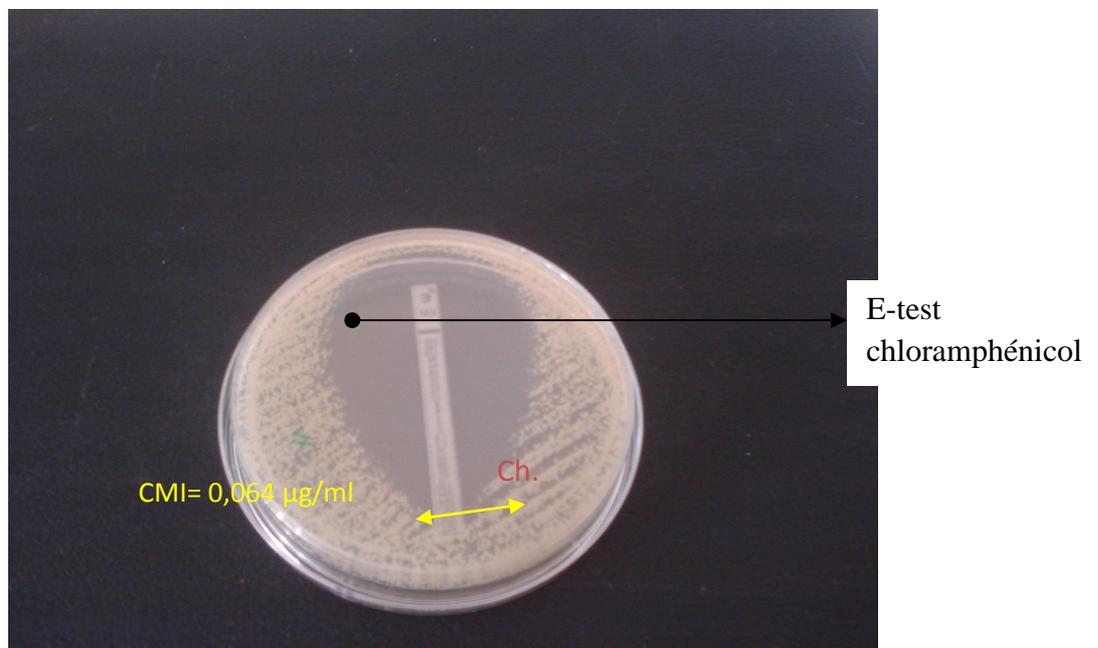


Figure 13 : La CMI de SARM (isolée du poulet) vis-à-vis du Chloramphénicol.

En milieu hospitalier la majorité des SARM isolés en Algérie et au Maroc sont MLS_B inductibles (Ouchenane et *al.*, 2011 ; Rebiahi et *al.*, 2011 ; Elazhari et *al.*, 2009), tandis qu'en Belgique, la Grèce et la Corée le phénotype MLS_B constitutif est le plus dominant (Denis et *al.*, 2004). Toutes ces observations indiquent que l'incidence des deux phénotypes de résistance MLS_B (c) et MLS_B (i) chez le *S. aureus* varie selon les régions géographiques et que, ces phénotypes ne peuvent pas prédire la résistance ou la sensibilité à la méthicilline, mais prouvent que les SARM d'origine alimentaire expriment des résistances plus évoluées aux macrolides.

Les phénotypes de résistance aux aminosides ont fait l'objet d'une interprétation. Nos SARM expriment deux phénotypes de résistance aux aminosides impliquant deux enzymes inactivatrices (Leclercq, 2002). La souche isolée de la viande est résistante à kanamycine/amikacine: phénotype K, dû à la production de l'enzyme APH (3')-III, l'autre souche récupérée du lait de vache cru est résistante à la kanamycine/amikacine/tobramycine: phénotype KT dû à la production de l'enzyme ANT (4') (4'').

La gentamicine garde une bonne activité sur nos SARM, bien que l'étude menée par Pesavento *et al.* (2007 en Italie rapporte que 9,52% des SARM isolées à partir de viande crue étaient résistantes à la gentamicine.

Tableau 11 : Phénotype de résistance des SARM vis-à-vis des macrolides

Erythromycine	Spiramycine	Lincomycine	Pristinamycine	Mécanisme	Nb SARM n=02
S	S	S	S	Sensible	00
R	(S)	(S)	S	MLS _B Induct	00
R	R	R	S	MLS _B Const	02

(S) : Résistance uniquement si un disque d'érythromycine est disposé à proximité.

Tableau 12 : Phénotype de résistance des SARM vis-à-vis des aminosides

Kanamycine	Amikacine	Tobramycine	Gentamicine	Mécanisme	Nb SARM n=02
S	S	S	S	Sensible	00
R	R	S	S	APH(3')-III	01
R	R	R	S	ANT(4')(4'')	01
R	R	R	R	APH(2'')-AAC(6')	00

8. Les souches SASM (*Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline)

8.1. Fréquence

Sur les 56 souches de *S. aureus* analysées selon la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les normes NCCLS, 54 souches se sont avérées sensibles à l'oxacilline, soit un taux de 96,42 % (54/56) des souches de *S.aureus* isolés et 50,46% (54/107) de l'ensemble des échantillons analysés.

8.2. Répartition des SASM en fonction du prélèvement

Les 54 isolats de *S. aureus* étaient uniformément sensibles à la méticilline. Ceux-ci sont isolés essentiellement, à partir de lait de vache cru et de viande fraîche avec un taux de (24%) et (22%) respectivement, (20%) pour la pâtisserie et les plats cuisinés et (12%) à partir du lait de vache pasteurisé (Tableau 13, Figure 14).

8.3. Résistances des SASM aux autres antibiotiques

Les tests d'évaluation de la résistance des SASM aux antibiotiques, ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique en gélose à partir de disques imprégnés d'antibiotiques. La CMI vis-à-vis de la tétracycline et le chloramphénicol a été mise en évidence par la technique de gradient de diffusion ou le E test selon les recommandations du NCCLS.

Les 54 souches sensibles à l'oxacilline, présentent dans cette étude des résistances à d'autres antibiotiques, dont les profils de résistance aux antimicrobiens des isolats de *S. aureus* sont résumés sur le Tableau 14 et la figure 15.

D'après nos résultats, le taux le plus haut de résistance a été observé pour l'acide nalidixique (100%), suivi de la bacitracine (~87%), la pénicilline (~63%), la fosfomycine (~35%), l'acide fusidique (~29%), l'érythromycine (~25%), la kanamycine (~18%) et enfin à la tétracycline (~14%). Une faible prévalence de résistance a été détectée à l'amikacine (~9%), la spiramycine et à la lincomycine (~5%). Toutes les souches SASM, testées pour la sensibilité aux antibiotiques, l'ont été à la vancomycine, chloramphénicol, Novobiocine, Ofloxacine, Pristinamycine, Gentamicine et Tobramicine.

Nos isolats affichent des valeurs très faibles de CMI au chloramphénicol (CMI= 0,032 à 0,12µg/ml) de ce fait, elle constitue la molécule de choix pour le traitement des infections

graves dues à ces bactéries. Cette situation, suscite une surveillance continue de la sensibilité des *S. aureus* au chloramphénicol. Nous concernant, la sensibilité des ces souches bactériennes à ces antibiotiques est attribuée à leur non-utilisation par les praticiens et l'emploi d'autre molécules.

Dans notre étude, toutes les souches de *S. aureus* montrent une résistance à l'acide nalidixique, celle-ci est comparable à celle retrouvée par Tankovic *et al.* (1997) qui notent que les staphylocoques sont naturellement résistants aux quinolones de première génération, mais ils sont en revanche sensibles aux fluoroquinolones. La grande majorité des souches sensibles à la méticilline restent donc sensibles aux fluoroquinolones comme l'ofloxacine qui garde une bonne activité sur nos souches SASM.

Tableau 13 : Répartition des SASM en fonction des prélèvements

Type de prélèvement	Nb de SASM	% des SASM
Viande fraîche	12	22,22%
Lait de vache cru	13	24,07%
Lait de vache pasteurisé	07	12,96
Pâtisseries	11	20,37%
Plats cuisinés	11	20,37%
Total	54	100%

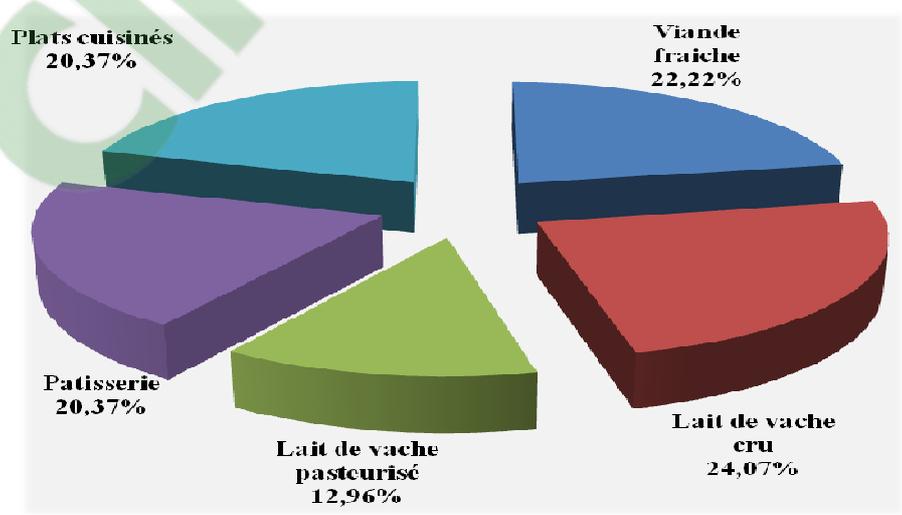


Figure 14 : Répartition des SASM en fonction des prélèvements

Tableau 14 : Fréquence de résistance des SASM aux antibiotiques

Antibiotiques testés		Nb souches résistantes	pourcentage
Oxacilline	Ox	00	00
Céfoxitine	Fox	00	00
Pénicilline	P	34	62,96 %
Kanamicine	K	10	18,51%
Amikacine	An	05	9,25%
Tobramycine	Tm	00	00
Gentamicine	Gm	00	00
Bacitracine	B	47	87,03%
Erythromycine	E	14	25,92 %
Lincomycine	L	03	5,55%
Spiramycine	SP	03	5,55%
Pristinamycine	PT	00	00
Acide nalidixique	NA	54	100%
Ofloxacine	Ofx	00	00
Vancomycine	VA	00	00
Tétracycline	TE	08	14,81%
Fosfomycine	FF	19	35,15%
Noviobiocine	Nov	00	00
Chloramphénicol	C	00	00
Acide fusadique	FA	16	29,62%

% de résistance des SASM

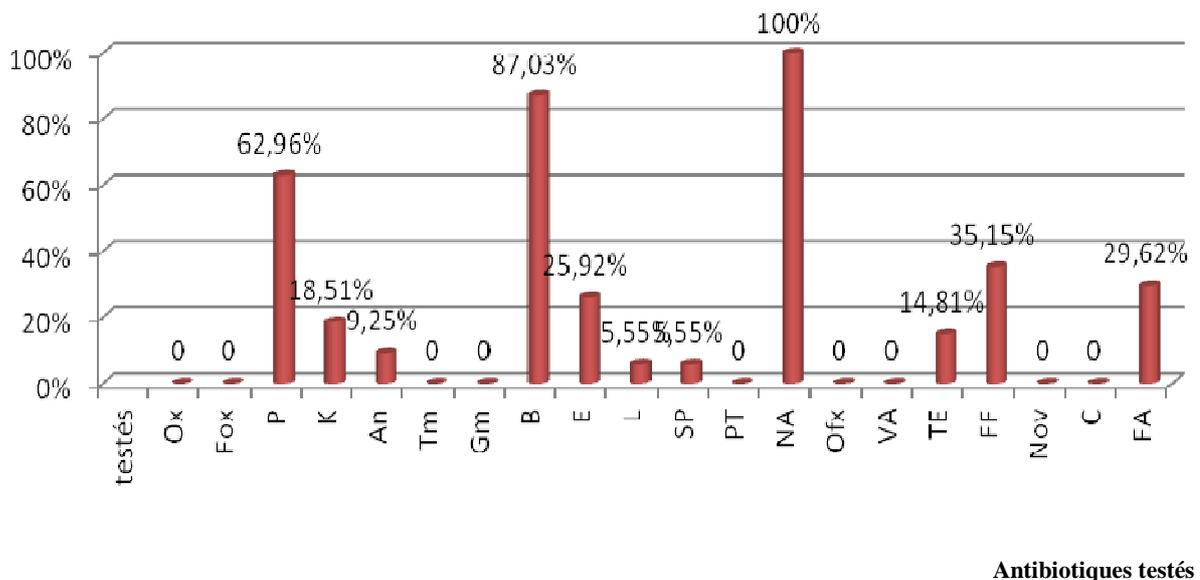


Figure 15 : Fréquence de résistance des SASM aux antibiotiques

Une fréquence élevée de résistance à la bacitracine a été détecté parmi les souches de *S. aureus* (SASM) provenant de lait cru et pasteurisé de vache, de viande crue, de plats cuisinés et de pâtisseries ; Ce résultat rejoint celui signalé par Gundogan et al. (2005) en Turquie, lesquels ont obtenu un taux de résistance à la bacitracine de (87,5%) à partir de prélèvement de viandes et de poulets. La bacitracine est l'un des antibiotiques les plus couramment utilisés à la fois en médecine humaine et en comme additif alimentaire, en raison de ses effets favorisant la croissance. Il a été utilisé dans l'alimentation des volailles, les porcs et les bovins pour améliorer les taux de croissance (Capitan-Vallvey, Titos, Checa, & Navas, 2002). Bien que, la Commission européenne a récemment interdit l'utilisation de la bacitracine comme additif alimentaire (Gundogan et al., 2005), l'apparition d'une résistance élevée dans nos échantillons peut être attribuée à l'ajout de cet antibiotique à des régimes de veaux, agneaux et poulets.

Les SASM isolés dans cette étude révèlent une résistance de (63%) vis-à-vis de la pénicilline G. Ce résultat est en accord avec ceux rapportés dans d'autres travaux menés sur différents aliments (Pereira et al., 2009; Normanno et al., 2007_b; Peles et al., 2007 ; Gundogan et al., 2005) avec des taux de 53.8%, 88.9%, 46,4%, 70% respectivement. Tandis que Acco, Ferreira, Henriques, et Tondo (2003) ont montré que 70% des souches de *S. aureus* isolées à partir de manipulateurs d'aliments étaient résistantes à la pénicilline quant à Rebiahi et al. (2011), ils rapportent une résistance de 87,2% parmi les souches hospitalières en Algérie. Ce qui ne doit pas surprendre du tout, car la pénicilline est l'un des antibiotiques les plus couramment utilisés pour le traitement des infections chez les humains et les animaux. En conséquence, la résistance à la pénicilline est un phénomène fréquent parmi les souches de *S. aureus*. Ces données soulignent la nécessité d'une politique sur l'utilisation judicieuse des antimicrobiens dans la production alimentaire algérienne.

L'incidence de la résistance de *S. aureus* à la tétracycline est de 14% (8/54 isolats) de plus qu'elle est différente dans chaque catégorie de produit. Les isolats résistants à la tétracycline (Figure 18) ont été détecté avec une incidence décroissante dans l'ordre suivant: les plats cuisinés (03 souches, CMI= 16 à 32 µg/ml), viandes (02 souches CMI=16 à 24 µg/ml), pâtisserie (02 souches CMI=64 à 96 µg/ml) et le lait pasteurisé (une souche CMI=24 µg/ml).

Pereira et al., 2009 au Portugal, ont apporté un très faible taux de souches résistance à la tétracycline 0.7% (1/148) *S.aureus* isolées de différents aliments.

Normanno *et al.* 2007_b en Italie, ont montré que sur les 125 souches de *S. aureus* collectées à partir de la viande et des produits laitiers, 29 isolats, soit un taux de 23,2% révélant une résistance à la tétracycline tandis que Pesavento *et al.*, 2007 en Italie isolent 42 souches à partir de viande fraîche dont 8 souches soit un taux de 19,04% de résistance à tétracycline. Les souches isolées de fromage et de lait cru de vache par André *et al.*, 2008 au Brésil montrent quant à eux une résistance à la tétracycline de (24,7%) .

On menant une enquête auprès des praticiens et des grossistes de médicaments vétérinaires au niveau de la wilaya de Tiaret, on a trouvé que la tétracycline, l'érythromycine et la spiramycine sont utilisés de manière intensive pour le traitement des différentes infections chez les animaux, ce qui explique la résistance de nos *S.aureus* à l'égard de ces antibiotiques.

En Turquie, André *et al.*, 2008 au Brésil ; Yesim Can, Haluk Çelik, 2012 ont montré que toutes les souches de *S. aureus* isolées à partir d'échantillons de fromage et de lait cru étaient sensibles à la vancomycine et à la gentamicine, ce qui est cohérent avec notre étude.

Contrairement à Pereira *et al.*, 2009, lesquels ont signalé une résistance à la gentamicine de (2%) et au chloramphénicol de (1,4%). Toutes les souches de *S. aureus* ainsi étudiées, étaient sensibles à la vancomycine.

8.4 .Phénotype de résistance des SASM

Les souches méticillino-sensibles (SASM) présentent des résistances multiples. Le profil de résistance le plus fréquent est noté pour la pénicilline, l'acide nalidixique et la bacitracine P.B.NA (8 souches), suivi par le phénotype P.B.NA.FF (5 souches), P.K.B.NA (4 souches), alors que trois souches ont été trouvées dans chacun de ces trois phénotypes: B.NA.FF / P.K.An.B.NA.E.FA.TE / NA (Tableau 15, Figure 17).

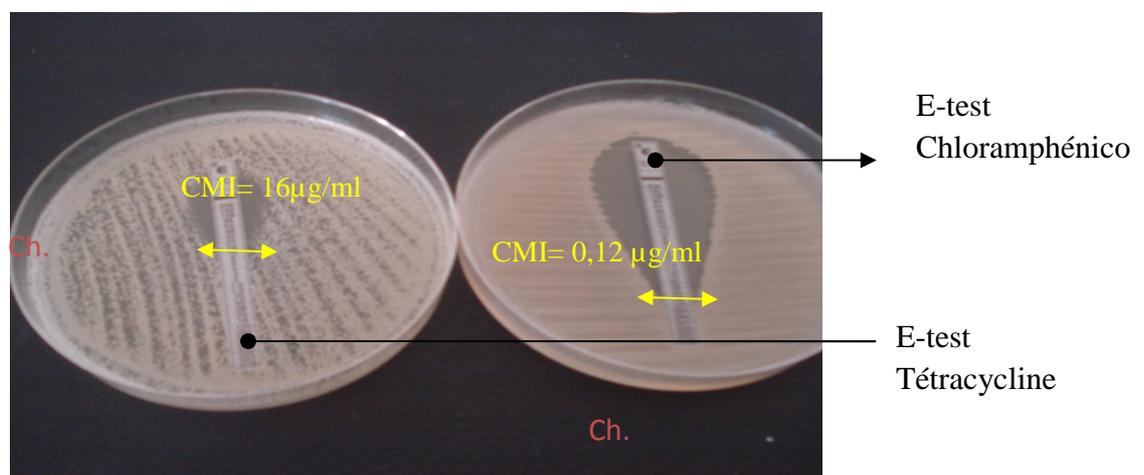


Figure 16 : La CMI d'une souche SASM

Tableau 15 : Phénotypes de résistance des souches SASM aux antibiotiques.

profils de résistance des souches SASM	Nb souches n=54	Viandes	Lait cru	Lait pasteurisé	pâtisserie	Plats cuisinés
P.B.NA	8	2	1	2	3	0
P.B.NA.FF	5	2	1	2	0	0
P.K.B.NA	4	1	0	0	3	0
P.B.NA. K.An.FA.TE	3	2	0	0	0	1
B.NA.FF	3	0	2	1	0	0
NA	3	0	2	0	0	1
NA.FF	2	0	2	0	0	0
P.B.NA.TE	2	0	0	0	1	1
P.B.NA.E	2	0	1	0	1	0
B.NA.E.FA.FF	2	1	0	0	0	1
B.NA.E.FA	2	1	0	0	0	1
P.B.NA.FA	2	0	0	0	0	2
B.NA. FA.E.L.SP	2	0	0	1	0	1
B.NA	2	1	0	0	1	0
P.B.NA.K.E.TE	1	0	0	0	1	0
B.NA.FA.FF	1	0	0	0	1	0
P.B.NA.FA.FF	1	1	0	0	0	0
P.B.NA.E.FF	1	1	0	0	0	0
B.An.L.E.SP.FA.NA	1	1	0	0	0	0
P.B.NA.E.FA.FF	1	0	0	0	0	1
P.B.NA.E.FA.TE	1	0	0	0	0	1
P.B.NA.E.FF	1	0	1	0	0	0
P.B.NA.K.An.FF	1	0	1	0	0	0
P.B.NA.FF.TE	1	0	0	1	0	0
K.NA	1	0	1	0	0	0
E.NA	1	0	1	0	0	0
Sensible	0	0	0	0	0	0

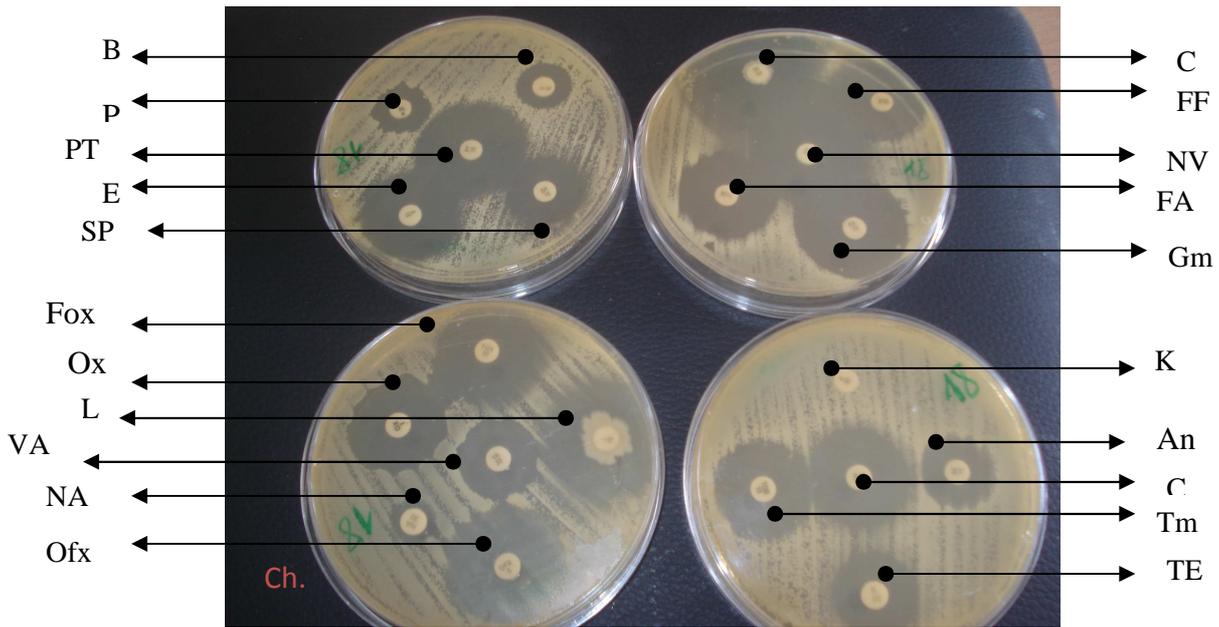


Figure 17 : Souche SASM présentant une multirésistance

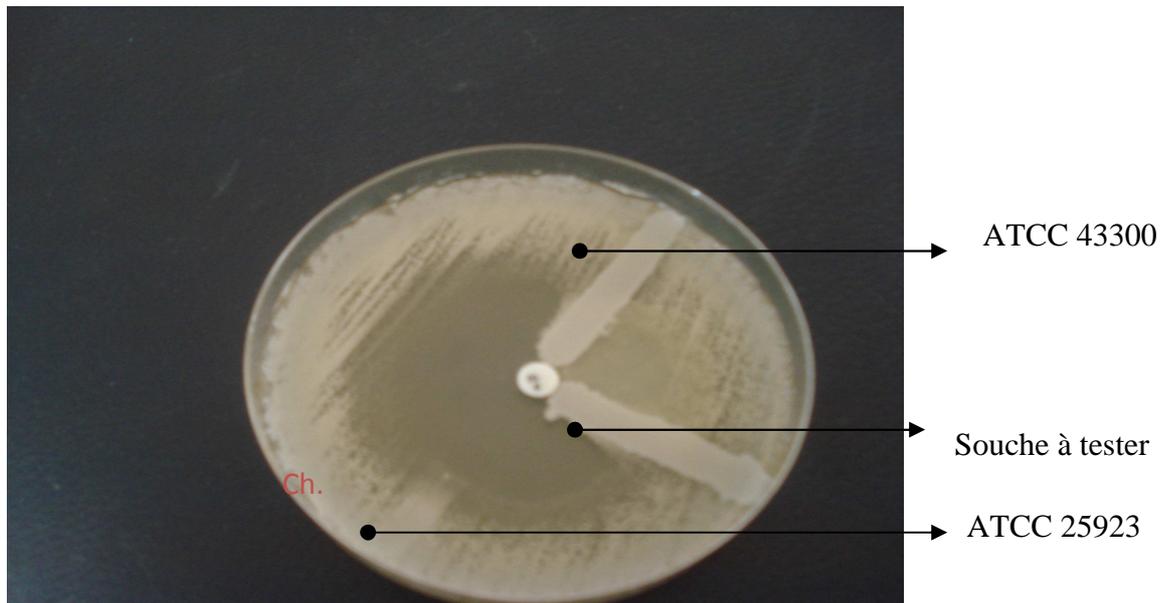


Figure 18 : Production de β -lactamase (pénicillinase) chez *S. aureus*
Test de trèfle.

Il faut noter que, malgré le taux élevé de résistance à la pénicilline parmi nos souches, une sensibilité à la pénicilline a été constatée comme même chez 17 souches soit un taux de (~ 31%) ; Les souches résistantes sont confirmées par le test de trèfle (Figure 18).

8.5. Mécanisme de résistance des souches SASM

Les 54 souches de *S. aureus* sensibles à la méthicilline, présentent des résistances à certaines familles d'antibiotiques. Parmi ces souches, 11 présentent une résistance inductible, et 03 une résistance constitutive aux macrolides (Tableau 16), au total 14 (25,9%) souches sont résistantes à l'érythromycine. Alors que André et al., 2008 signalent une fréquence de résistance de (5,5%) tandis que Yesim Can et Haluk Çelik, 2012 rapportent un pourcentage de résistance à l'érythromycine (50%), Contrairement, Gundogan et al., 2005 ; Pereira et al., 2009, qui ont signalé une majorité de souches sensible à l'érythromycine avec des taux de résistance faibles (7,5%)et (5%) respectivement.

Pour la famille des aminosides, les 54 souches sensibles à la méthicilline sont également sensibles à la gentamicine et à la tobramycine au moment où seules 4 souches sur 54 présentent une résistance isolée à kanamicine/amikacine (Tableau 17). La résistance à la Kanamycine est due à l'enzyme APH (3')-III qui confère le phénotype (K). la sensibilité à la gentamicine des SASM a été montré par Yesim Can et Haluk Çelik, 2012 contrairement à Pereira et al.,2009 signalent une résistance de (2%).

Tableau 16: Phénotype de résistance des SASM vis-à-vis des macrolides

Erythromycine	Spiramycin	Lincomycine	Pristinamycine	Mécanisme	Nb total n= 56	Nb SASM n=54
S	S	S	S	Sensible	40	40
R	(S)	(S)	S	MLSB Induct	11	11
R	R	R	S	MLSB Const	05	03

Tableau 17 : Phénotype de résistance des SASM vis-à-vis des aminosides

Kanamicine	Tobramycine	Gentamicine	Mécanisme	Nb total n= 56	Nb SASM n=54
S	S	S	Sensible	41	41
R	S	S	APH(3')-III	11	10
R	R	S	ANT (4') (4'')	01	00
R	R	R	APH(2'')-AAC (6')	00	00

Conclusion

Conclusion

S. aureus est bien désigné comme un agent pathogène clinique et épidémiologique, dans cette étude. Il a été démontré que le rôle de *S. aureus* comme un pathogène d'origine alimentaire ne doit pas être négligé.

Les résultats indiquent une forte prévalence (52%) de *S. aureus* dans les échantillons prélevés de différents aliments, où les analyses phénotypiques ont mis en évidence 96,42 % de souches de *S. aureus* sensibles à la méthicilline (SASM) et 3,57% de souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM).

La mise en évidence de leur résistance aux antibiotiques révèle des souches de *S. aureus* multirésistantes à divers antibiotiques allant des β -lactamines, aminosides, macrolides, jusqu'aux fluoroquinolones. Les niveaux de résistance sont souvent élevés compte tenu des CMI enregistrées pour quelques antibiotiques (oxacilline, tétracycline), cela semble refléter une utilisation abusive de ce type d'antibiotiques par les praticiens vétérinaires, vu leurs bas prix par rapport aux autres antibiotiques et en l'absence d'une politique nationale bien définie.

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

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

Deuxièmement, le problème récurrent d'une surconsommation d'antibiotiques dans la médecine humaine et animale d'aujourd'hui.

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

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

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

Ainsi, notre travail ouvre de nombreuses perspectives:

- Etudier une population plus importante, pendant une période plus longue;
- Recherche des gènes de résistance (PCR) ;
- La détection d'entérotoxines produites par *S. aureus* dans les aliments.

Références bibliographiques

ClicCours.com

Références bibliographiques

1. Acco M., Ferreira F. S., Henriques J. A. P., Tondo E. C. 2003. Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. *Food Microbiology* 20, 489–493.
2. Alomar Jomaa. 2007. Etude des propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. Institut national polytechnique de lorraine – Nancy, France.
3. Alonso-Tarrés C., Villegas M.L., de Gispert F.J., Cortés-Lletget M.C., Rovira Plarromaní A., Etienne J. 2005. Favorable outcome of pneumonia due to Pantón–Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* associated with hematogenous origin and absence of flu-like illness. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 24, 756–759.
4. Aly R., Levit S. 1987. Adherence of *Staphylococcus aureus* to squamous epithelium: role of fibronectin and teichoic acid. *Rev. Infect. Dis.* 9, 341-350.
5. Ananthanarayan, Paniker. 2006. Textbook of Microbiology. Edition Seventh, India. 665pages.
6. Anderson J. E., Beelman R.R., Doores S. 1996. Persistence of serological and biological activities of staphylococcal enterotoxin A in canned mushrooms. *J. Food. Prot.* 59, 1292–1299.
7. André M. C. D. P. B., Campos M.R. H., Borges L.J., Kipnis A., Pimenta F.C., Serafini A. B. 2008. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsedfield gel electrophoresis following SmaI digestion. *Food Control*, 19, 200-207.
8. Aouati Hanan. 2009. Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Thèse de magister en Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes. Université Mentouri- Constantine, Algérie.
9. Argudín M.Á., Mendoza M.C., Rodicio M.R. 2010. Food Poisoning and Enterotoxins. *J. Toxins* 2, 1751-1773.
10. Arvidson and Tegmark K. 2001. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Med. Microbiol.* 291, 159–170.
11. Asao T., Kumeda Y., Kawai T., Shibata T., Oda H., Haruki K., Nakazawa H., Kozaki S. 2003. An extensive outbreak of SFP due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *J. Epidemiol. Infect* 130, 33-40.
12. Avril J.L., Dabarnet H., Denis F., Oteíl H. 1992. Bacteriologie clinique. 2ème édition.

- Ellipses, Paris. 9-31.
12. Avril J.L., Dabernat H., Denis F. and Monteil H. (2003). Bactériologie clinique. 3ème édition. Ellipses, Paris. 8-28.
 13. Baba T., Takeuchi F., Kuroda M. 2002. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet*. 359, 1819-1827.
 14. Balaban N., Rasooly A. 2000. Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 61, 1–10.
 15. Barrio M.B., Rainard P., Prévost G. 2006. LukM/LukF⁷-PV is the most active *Staphylococcus aureus* leukotoxin on bovine neutrophils. *Microbes Infect.* 8, 2068-2074.
 16. Becker K., Friedrich A.W., Lubritz G. 2003. Prevalence of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens. *J Clinical Microbiology*. 41, 1434-1439.
 17. Beleneva I.A. 2011. Incidence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from the Japan and South China seas. *Marine Pollution Bulletin* 62, 382–387.
 18. Bendahou A., Abid M., Bouteldoun N., Catelejine D., Lebbadi M. 2009. Enterotoxigenic coagulase positive *Staphylococcus* in milk and milk products, Iben and jben, in northern Morocco. *J. Infect. Developing Countries* 3(3), 169-176.
 19. Berger-Bächi B. 1999. Genetic basis of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Cell. Mol. Life Sci.* 56, 764-770.
 20. Bekkhoucha S.N, Cady A., Gautier P., Itim F., Donnio P.Y. 2009. A portrait of *Staphylococcus aureus* from the other side of the Mediterranean sea: molecular characteristics of isolates from Western Algeria. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 28, 553–5.
 21. Bhatia A, Zahoor S. 2007. *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 3:188-197.
 22. Bismuth R., Leclercq R. 2000. *Staphylococcus aureus* et antibiotiques. Précis de bactériologie clinique .édition Freyney J RF, Hansen W, Bollet C, ESKA, Paris, 611-918.
 23. Blaiotti G., Pennacchia C., Villani F., Ricciardi A., Tofalo R. and Parente E. 2004. Diversity and dynamics of communities of coagulase-negative staphylococci in traditional fermented sausage. *J. of applied Microbiology* 97, 271-284.
 24. Breche P., Gaillard J., Simonet M. 1988. Collection de la biologie à la clinique.

- Bactériologie Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 267-277.
25. Bronner S., Monteil H., Prevost G. 2004. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. FEMS Microbiol. Rev. 28, 183-200.
 26. Brown D.F., Brown L. 1991. Evaluation of the E-test, a novel method of quantifying antimicrobial activity. J. Antimicrob. Chemother. 26, 185-190.
 27. Buckingham S.C., McDougal L.K., Cathey L.D. 2004. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee Children’s Hospital. Pediatr. Infect. Dis. J. 23, 619-624.
 28. Capitan-Vallvey L. F., Titos A., Checa R., Navas N. 2002. High-performance liquid chromatography determination of Zn bacitracin in animal feed by post-column derivatization and fluorescence detection. Journal of Chromatography A 943, 227-234.
 29. Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. and Tindall B.J. 2007. Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.” Part 9- the Bacteria: Phylum” Firmicutes”: Class “Bacilli.
 30. Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R. 1990. Bactériologie médicale «Techniques usuelles» 3ème tirage SIMEP. Paris. 105-108.
 31. Comité de l’Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). Communiqué 2007. In <http://www.sfm.asso.fr>.
 32. Chambers H.F. 1997. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clinical Microbiology Review 10, 781-791.
 33. Child J., Andrews J., Boswell F., Brenwald N., Wse R. 1995. The *in vitro* activity of CP-99,219, a new naphthyridone antimicrobial agent: a comparison with fluoroquinolone agents. J. Antimicrob Chemother. 35, 869-76.
 34. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2000 Control for commercial Microbial Identification System; Approved Guideline, Vol. 28 N° 23.
 35. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2007. Performance Standards for

- Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S15. Wayne, PA.
36. Corne P. 2004. *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques et Chimiques de la Santé. Université de Montpellier I, France.
 37. Couture B. 1990. Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15-32.
 38. Crago B., Ferrato C., Drews S.J., Svenson L.W., Tyrrell G., Louie M., 2012. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with foodborne illness in Alberta, Canada from 2007 to 2010. *Journal of Food Microbiology* 32, 202-205.
 39. Cristino, J.M. 1999. Correlation between consumption of antimicrobials in humans and development of resistance in bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents* 12, 199–202.
 40. de Boer E., Zwartkruis-Nahuis J.T.M., Wit B., Huijsdens X.W., de Neeling, A.J., Bosch, T. van Oosterom R.A.A., Vila A., Heuvelink A.E. 2009. Prévalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *International Journal of Food Microbiology* 134, 52–56.
 41. Denis O., Deplano A., Nonhoff C., De Ryck R., de Mendonça R., Rottiers S. 2004. National surveillance of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Belgian hospitals indicates rapid diversification of epidemic clones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48(9), 3625-3629.
 42. Denis F., Poly M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R. 2007. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. pp 27.
 43. Denis F., poly M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R. 2007. Bactériologies médicale: techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. pp 27-251.
 44. Devriese L.A., Vancanneyt M., Baele M., Vaneechoutte M., De Graef E., Snauwaert C., Cleenwerck I., Dawyndt P., Swings J., Decostere A., Haesebrouck F. 2005. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, Pt4, 1569-73.
 45. Deverriere B. 2007. Reproduction expérimentale de mammites à *Staphylococcus aureus* chez la brebis : comparaison de lignées génitiques divergentes pour les

- comptages cellulaires. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires. l'Université Paul-Sabatier de Toulouse, France.
46. Di Giannatale E., Vincenza P., Alfreda T., Cristina M., Giacomo M. 2011. Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food for human consumption. *Veterinaria Italiana*, 47(2), 165-173.
 47. Dinges M.M., Orwin P.M., Schlievert P.M. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13, 16–34.
 48. Dufour P., Gillet Y., Bes M., Lina G., Vandenesch F., Floret D., Etienne J., Richet H., 2002. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton–Valentine leukocidin. *Clinical Infectious Disease* 35, 819–824.
 49. Durupt F., Mayor L., Bes M., Reverdy M.E., Vandenesch F., Thomas L., Etienne J. 2007. Prevalence of *Staphylococcus aureus* toxins and nasal carriage in furuncles and impetigo. *Br J. Dermatol*, 157,1161-1170.
 50. Eberlin T., Renaud F. 1994. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. *Manuel de bactériologie clinique*. Editions Scientifiques Elsevier, 431-452.
 51. Elazhari M., Sail R., Dersi N., Timinouni M., Elmalki A., Zriouil S.B., Hasser M., Zerouali K. 2009. Activité des 16 antibiotiques vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* communautaire à Casablanca (Maroc) et prévalence des souches résistantes à la Méthillicine .*Eur. J. Science Research* 30, 128-137.
 52. Elhamzaoui A., Benouda F., Allali R., Abouqual M., Elouennass. 2009. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylocoques aureus* isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. *Médecine et maladies infectieuses* 39 891–895.
 53. EL Kouri D., Pottier M.A., Trewick D., Le Gallou F., Baron D., and Potel G. 1998. Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl. Méd. Chir.* (Elsevier, Paris), *Maladies Infectieuses*, 8-007-A, 8-10.
 54. Escobar E., 2009. Etat des les lieux des infections cutanées communautaires à *Staphylococcus aureus* producteurs de la leucocidine de Paton –Valentine et proposition s de prise en charge en médecine de ville. Thèse de doctorat en médecine Faculté de médecine. Université de Paris Descartes.
 55. Eveillard M. 2007. Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de

- portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat en biologie cellulaire. Université d'Angers, France.
56. Fanny V, Maher S, Prévost G. 2008. Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Institut de bactériologie. Revue francophone des laboratoires. 407, 61-69.
 57. Fasquelle R. 1974. Eléments de bactériologie médicale. 9^{ème} édition. Flammarion, Paris. 27-36.
 58. Fauchere J.L. and Avril J.L. 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. 213-217.
 59. Faye K. 2005. Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques: impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. Masson, Paris. 7, 45-52.
 60. Felten A., Grandry B., Lagrange P.H., Casin I. 2002. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 System, and the MRSA-screen latex agglutination test. *Journal of Clinical Microbiology* 40, 2766-2771.
 61. Ferron A. 1984. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} édition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94.
 62. Fitzgerald J.R., Monday S.R., Foster T.J., Bohach G.A., Hartigan P.J., Meaney W.J., Smith C.J. 2001. Characterization of putative pathogenicity island from bovine *Staphylococcus aureus* encoding multiple superantigens. *Journal of Bacteriology* 183 (1), 63-70.
 63. Flandrois J.P. 1997. Bactériologie médicale. Presse Universitaire de Lyon. pp 108-109.
 64. Foster T.J., McDevitt D. 1994. Surface-associated proteins of *S.aureus* : their possible roles in virulence. *J. FEMS Microbiology Letters* 118, 199-205.
 65. Francois P., Vaudaux P., Foster T.J., Plew D. 1997. Facteurs d'attachement au fibrinogène. *Méd. Mal. Infect.* 27, 9-143.
 66. Freney J., Kloos W., Hajek V., Webster J., Bes M., Brun Y., Vernozy Rozand C. 1999. Recommended minimal standards for description of new Staphylococcal species. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49, 489-502.
 67. Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P. 2007. Précis de bactériologie clinique 2^{ème} édition ESKA. Paris. 795-840.
 68. Fuente D.L.R., Suarez G., Schleifer K.H. 1985. *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* supsp. Nov., the causal agent of abscess disease of sheep. *International Journal of Systematic Bacteriology* 35, 99-102.

69. Garner J.S., Jarvis W.R., Emori T.G. 1988. CDC definitions for nosocomial infections. *Am. J. Infect. Control* 16,128-140.
70. Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. and Tindall B.J. 2007. Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 Part 9- the Bacteria: Phylum” Firmicutes”: Class “Bacilli”.
71. Gharsa H., Ben Slama K., Lozano C., Gomez-Sanz E., Klibi, N., Ben Sallem R., Gomez P., Zarazaga M., Boudabous A. 2012. Prevalence, antibiotic resistance, virulence traits and genetic lineages of *Staphylococcus aureus* in healthy sheep in Tunisia. *Journal of Veterinary Microbiology* 156, 367–373.
72. Ghuysen J.M. 1994. Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Trends Microbiol.* 2, 372-380.
73. Gillet Y., Issartel B., Vanhems P., *et al.* 2002 Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* **359**, 753-759.
74. Gomez M.I., Lee A., Reddy B., *et al.* 2004. *Staphylococcus aureus* protein A induces airway epithelial inflammatory responses by activating TNFR1. *Nat. Med.* **10**, 842-848.
75. Gordon L., Cloeckaert A., Doublet B., Schwarz S., Bouju-Albert A., Ganiere J.P., Le Bris H., Le Fleche-Mateos A., Giraud E. 2008. Complete sequence of the floRcarrying multiresistance plasmid pAB5S9 from fresh water *Aeromonas bestiarum*. *J. Antimicrob. Chemother.* 62, 65–71.
76. Gravet A., Couppié P., Meunier O., Clyti E., Moreau B., Pradinaud R.,Monteil H., Prévost G. 2001. *Staphylococcus aureus* isolated from impetigo produces both epidermolysins A or B and LukE+LukD in 78% of 131 retrospective and prospective cases. *J. Clin. Microbiol.* 39: 49-56.
77. Guiraud J.P. 1998. *Microbiologie alimentaire*. Edition Dunod, Paris. pp 314- 320
78. Guiraud J.P., Rosec J.P., 2004. *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Edition AFNOR, Paris. pp 168-178.
79. Gundogan N., Citak S., Yucel N., Devren A. 2005. A note on the incidence and the antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. *Meat Sci.* 69, 807–810.
80. Hamad A.R., Marrack P., Kappler J.W. 1997. Transcytosis of staphylococcal superantigen toxins. *J. Exp. Med.* 185, 1447-1454.
81. Hiramatsu K., Katayama Y., Yuzawa H., *et al.* 2002. Molecular genetics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Med. Microbiol.* 292, 600–604.

82. Hiron A. 2007. Les transporteurs de peptides de *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat en Microbiologie. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech) .Paris.
83. Hirsh D.C., Nigel JM, Richard L. Walker. 2004. Veterinary microbiology. 2^{ème} édition. Blackwell-science, california .pp 536.
84. Holden M.T., Feil E.J., Linsay J.A. 2004. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 101, 9786-9791.
85. Holeckova B., Kalivacova V., Julius Gondol J., Fotta M., Holoda E., Blickova E. 2004. Production of enterotoxins by *Staphylococcus aureus* isolated from sheep milk. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 48:41-45.
86. Hovde C.J., Marr J.C., Hoffmann M.L.Hackett S.P., Chi Y.I., Crum, K.K., Stevens D.L. Stauffacher C.V., Bohach G.A. 1994. Investigation of the role of the disulphide bond in the activity and structure of staphylococcal enterotoxin C1. Mol. Microbiol.13, 897-909.
87. ISO. 6888. 1983. Microbiologie des aliments : Directives générales pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus* – Méthode par comptage des colonies.
88. ISO. Norme 3100- 2. 1988. Viandes et produits à base de viande. Echantillonnage et préparation des échantillons pour essais (préparation des échantillons pour essai en vue de l'examen microbiologique). pp 5.
89. ISO. 6887- 1. 1999. microbiologie des aliments. préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique Partie1 : Règle générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales. pp 4.
90. ISO. 6887- 2. 2003. Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. Règles spécifiques pour la préparation des viandes et des produits à base de viande. pp 4.
91. ISO. 6887- 4. 2003. Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. Règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche. pp 6.
92. ISO. 8261. 2001. Lait et produits laitiers – Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essais, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologie. pp 4.
93. ISO. 17604. 2003. Microbiologie des aliments: Prélèvement d'échantillons sur des carcasses en vue de leur analyse microbiologique. pp 4.

94. ISO. 7218. 2003. Microbiologie des aliments : Règles générales pour les examens Microbiologiques. pp 6.
95. ISO 8870, 2006. Lait et produits laitiers – Recherche de la thermonucléase en provenance des staphylocoques à coagulase positive. pp 6.
96. Jablonsky L.M., Bohach G. 1997. *Staphylococcus aureus*. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Monteville, T.J. (Eds.), Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. ASM Press, Washington DC, 353–357.
97. Jarraud S., Lyon G.J. Figueiredo A.M. 2000. Exfoliatin-producing strains define a fourth agr specificity group in *Staphylococcus aureus*. J. Bacteriol. 182, 6517-6522.
98. Ji G., Beavis R., Novick, R.P. 1997. Bacterial interference caused by autoinducing peptide variants. Science. 276, 2027-2030.
99. Jin T., Bokarewa M., McIntyre L., Tarkowski A, Corey G.R., Reller L.B. Fowler V.G. 2003. Fatal outcome of bacteraemic patients caused by infection with staphylokinase-deficient *Staphylococcus aureus* strains. Journal of Medical Microbiology 52, 919–923
100. Joffin C., Joffin J.N. 1999. Microbiologie alimentaire. CRDP AQUITAINE. Doin 5^{ème} édition. pp 212.
101. Joffin J.N., Leyral G. 2006. Microbiologie Technique Tome 1. Dictionnaire des techniques”. CRDP AQUITAINE. Bordeaux. 189-250.
102. Jorgensen J.H., Turnidge J.D., Washington J.A. 1997. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American society for microbiology, 1526-1543.
103. Jorgensen J., Turnidge J.D. 2003. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington, D.C., ASM press., 1108-1127.
104. Jørgensen H. J., Mørk T., Caugant D. A., Kearns A., Rørvik, L. M. 2005. Genetic variation among *Staphylococcus aureus* strains from Norwegian bulk milk. Applied and Environmental Microbiology 71, 8352–8361.
105. Jorgensen J.H., Ferraro M.J. 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. Clin. Infect. Dis. 49 (11): 1749-1755.
106. Kahlmeter G., Brown D.F., Goldstein F.W., MacGowan A.P., Mouton J.W., Odenholt I., Rodloff A., Soussy C.J., Steinbakk M., Soriano F., Stetsiouk O. 2006. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Technical Notes on

- antimicrobial susceptibility testing. Clin. Microbiol. Infect. 12, 501-503.
107. Kaidi R., Saidi R., Khelef D. 2001. Lait mammitieux : Etude expérimentale d'un test bactériologique rapide. Recueil des journées vétérinaire de Blida, numéro spécial – Reproduction des animaux en élevage Vol 4, 105-111.
108. Kamagate A., Kone D., Coulibaly N.T., Broue E., Sixou M. 2001. Etude comparative de différentes méthodes d'évaluation de sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies strict de la flore sous -gingivale. Odonto-Stomatologie Tropicale 95, 115-1119.
109. Kapral F.A., Smith H., Lal D. 1992. The esterification of fatty acids by *Staphylococcus aureus* fatty acid modifying enzyme (FAME) and its inhibition by glycerides. J. Med Microbiol 37, 235-237.
110. Karthik Sambanthamoorthy. 2007. Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation. The University of Southern Mississippi. Edition UMI Microform USA. pp 20-24.
111. Katayama Y., Ito T., Hiramatsu K. 2000. A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 44, 1549-1555.
112. Kitai S., Shimizu A., Kawano J., Sato E., Nakano C., Uji T., Kitagawa H. 2005. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. Journal of Veterinary Medicine 67, 107–110.
113. Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H., 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin. Microbiol. Rev. 10, 505-520.
114. Korta L.P., Mobashery S. 1998. β -lactam antibiotic, β -lactamases and bacterial resistance. Bull. inst. Pasteur, Elsevier Paris. 96:139-150.
115. Krieg N.R., Holt J.G. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 1. Edition Williams and Wilkins (Baltimore).
116. Kumar R., Surendran P.K., Thampuran N. 2009. Detection and characterization of virulence factors in lactose positive and lactose negative *Salmonella* serovars isolated from sea food. Food Control 20, 376–380.
117. Kuroda M., Ohta T., Uchiyama I., et al. 2001. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet. 357: 1225-1240.
118. Kwon N.H., Park K.T., Jung W.K., Youn H.Y., Lee Y., Kim S.H., Bae W., Lim J.Y., Kim J.Y., Kim J.M., Hong S.K., Park Y.H. 2006. Characteristics of methicillin-

- resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. *Veterinary Microbiology* 117, 304–312.
119. Larpent J.P., Larpent Gourgaud M., 1997. *Mémento technique de microbiologie*. Lavoisier(Paris).
 120. Leclercq R. 1999. Antibiorésistance chez les bactéries pathogènes pour l'homme. Journées nationales GTV-INRA, 149-53.
 121. Leclercq. 2002. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. *Ann. Fr Anesth. Réanim.* 21, 375-383.
 122. Lee, J.H., 2003. Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 6489–6494.
 123. Le Loir Y, Baron F, Gautier M.2003.*Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2 : 63-76.
 124. Le Minor L. and Veron M. 1990. Bactériologie médicale «*Staphylococcus et Micrococcus*». J. Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773-794.
 125. Levy S.B. 1984. L'évolution des résistances bactériennes. surveillance locale et mondiale, *J. médecine et maladies infectieuses*, 12, 779-787.
 126. Lindsay J.A., Holden M.T. 2004. *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome. *Trends Microbiol.* 12: 378-385.
 127. Livermore D.M., 2000. Antibiotic resistance in staphylococci. *International Journal of Antimicrobial Agents* 16 (1), 3–10.
 128. Lowy F.D., 1998. *Staphylococcus aureus* infection. *New England Journal Medicine* 339, 520–532.
 129. Manuel terrestre de l'OIE. 2008. Méthodes de laboratoire utilisées pour les essais d'antibiorésistance. Chapitre 1.1.6, 62-68.
 130. Marchal N., Bourdon J.L., Richard C.L. 2005. Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Edition Dion –Paris. pp 326-329.
 131. Marchal N. and Bourdon JL. 1973. Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. DOIN. Paris. 99-105.
 132. Mastouri M., Nour M., Ben Nejma M., Bouallegue O, *et al.* 2010. Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Pathol. Biol.* 54, 33–36.

133. McCallum N., Karauzum H., Getzmann R., Bischoff M., Majcherczyk P., Berger Bachi B. Landmann R. 2006. In vivo survival of teicoplanin-resistant *Staphylococcus aureus* and fitness cost of teicoplanin resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 2352–2360.
134. McCallum N., Berger-Bachi B., Senn M. 2010. Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology* 300, 118–129.
135. McCormick J.K., Yarwood J.M., Schlievert P.M. 2001. Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 77-104.
136. Merino N., Toledo-Arana A., Vergara-Irigaray M, Valle J., Lasa I. 2009. Protein A – Mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 191, 832-843.
137. Mialot JP.1983. Technique de prelevement de lait pour examen bacteriologique. *Rec Med Vet*, numéro spécial – les prelevement en medecine vétérinaire : 1057.
138. Miethke T., Duschek K., Wahl C., Heeg K., Wagner H. 1993. Pathogenesis of the toxic shock syndrome: T-cell mediated lethal shock caused by the superantigen TSST 1. *Eur. J. Immunol.* 23, 1494–1500.
139. Morea M., Baruzzi F., Coconcelli P.S. 1999. Molecular and physiological characterization of dominant bacterial population in traditional mazzarella cheese processing. *J. of applied Microbiology* 87, 574-582.
140. Motamedi H. 2010. *Staphylococcus aureus* Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 734-737.
141. Murray P.R., Baron E.J., Jorgenson J.H., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover F. C. 2003. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th Edition. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
142. Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A., 2009. *Medical Microbiology*. Elsevier Health Sciences. pp 214.
143. Norme Algérienne. NA 644. 1989. Viandes et produits à base de viande. Echantillonnage et préparation des échantillons pour essai (prélèvement élémentaire). (Norme enregistrée 1992). pp 4
144. Norme Algérienne. NA 645. 1989. Viandes et produits à base de viande. Echantillonnage et préparation des échantillons pour essai (préparation des échantillons pour essai en vue de l'examen microbiologique). (Norme enregistrée 1992). pp 5
145. Norme Algérienne. NA 1204. 1992. Microbiologie des aliments. Directives générales

Références bibliographiques

- pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique. (Norme enregistrée 1992). pp 5.
146. Norme Algérienne. NA 850, 1997. Méthode de prélèvement aseptique en vue de l'analyse microbiologique.
147. Norme Algérienne. NA1050, 1997. Lait et produits laitiers (préparation des échantillons pour essais et des dilutions en vue de l'examen microbiologique).
148. Norme Algérienne. NA1058, 1998. Recherche de la thermonucléase en provenance des Staphylocoques à coagulase positive (Norme enregistrée). pp 6.
149. Norme Algérienne. NA 15174. 2004. Microbiologie - Préparation des échantillons de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique Règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche (norme homologuée). pp 6.
150. Norme Algérienne. NA 5912. 2007. Lait et produits laitiers - Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essai, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique (norme enregistrée). pp 4.
151. Nagase N., Sasaki A., Yamashita K., Shimizu A., Wakita Y., Kitai, S., Kawano, J. 2001. Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *Journal of Veterinary Medical Science* 64, 245-250.
152. Nagase N., Shimizu A., Kawano J., Yamashita K., Yoshimura H., Ishimaru M., Kojima A. 2002. Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Bovine Mastitis in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 64(12): 1169–1172.
153. National committee for clinical laboratory standard (NCCLS). 1997. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 4th edition. Document M7-A4, Villanova, Penn-Sylvania.
154. National committee for clinical laboratory standard (NCCLS). 1999. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. Ninth informational supplement M100-S9, 19(1).
155. National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard 5th editions. Document M7-A5. Wayne, Penn-Sylvania.
156. National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). 2002. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. Approved 2th edition. Document M31-A2. 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Penn-Sylvania.
157. National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). 2006. Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved 7th Edition, Document, M2-A, (N°1): 48. Wayne, Penn-Sylvania.

158. Nehal M., Zuel-Fakkar M.D., Mona H., El-Shokry M.D. 2010. Study of Erythroderma and Psoriasis Exacerbation by Staphylococcal Superantigens. *J. Egypt Women Dermatol. Soc.* 7,113-117.
159. Normanno G., Firinu A., Virgilio S., Mula G., Dambrosio A., Poggiu A., Decastelli L., Mioni R., Scuota S., Bolzoni G., Di-Giannatale E., Salinetti A.P., La-Salandra G., Bartoli, M., Zuccon F., Pirino T., Sias S., Parisi, A. Quaglia N.C., Celano G.V. 2005. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 98, 73–79.
160. Normanno G., Corrente M., La S.G., Dambrosio A., Quaglia N.C., Parisi A., Greco G., Bellacicco A.L., Virgilio S., Celano G.V. 2007a. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 117, 219-222.
161. Normanno G., La S.G., Dambrosio A., Quaglia N.C., Corrente M., Parisi A., Santagada G., Firinu A., Crisetti E., Celano G.V. 2007b. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology* 115, 290-296.
162. Nouwen J.L., van Belkum A., Verbrugh H.A. 2001. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Neth. J. Med.* **59**, 126-133.
163. O’Riordan K., Lee J.C. 2004. *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *Clin. Microbiol. Rev.* 17, 218-34.
164. Orwin P.M., Leung D.Y., Donahue H.L., Novick R.P., Schlievert P.M. 2001. Biochemical and biological properties of staphylococcal enterotoxin K. *Infect. Immun.* 69, 360–366.
165. Ouchenane Z. Smati F., Rolain J.M., Raoult D. 2011. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Algeria. *J. Pathologie Biologie* 59, 129–132.
166. Patti J.M., Allen B.L., McGavin M.J., Hook M. 1994. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu. Rev. Microbiol.* 48, 585-617.
167. Peacock S.J., Moore C.E., Justice A., Kantzanou M., Story L., Mackie K., O’Neil G., Day N.P. 2002. Virulent combinations of adhesin and toxic genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.* 70, 4987-96.
168. Peles F., Wagner M., Varga L., Hein I., Rieck P., Gutser K., Keresztúri P., Kardos G., Turcsányi I., Béri B., Szabó A. 2007. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *International Journal of Food Microbiology* 118, 186–193.

169. Pesavento G., Ducci B., Comodo N., Lo Nostro. 2007. A Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Food Control* 18, 196–200.
170. Pereira V., Lopes C., Castro A., Silva J., Gibbs P., Teixeira P. 2009. Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiology* 26, 278-282.
171. Phonimdaeng P., O'Reilly M., Nowlan P., Bramley A.J., Foster T.J. 1990. The coagulase of *Staphylococcus aureus* Sequence analysis and virulence of site-specific coagulase deficient mutants. *Mol. Microbiol.* 4: 393-404.
172. Pöhlmann-Dietze P., Ulrich M., Kiser K., Doring G., Lee J., Fournier J., Botzenhart K., Wolz C. 2000. Adherence of *Staphylococcus aureus* to endothelial cells: influence of capsular polysaccharide, global regulator agr, and bacterial growth phase. *Infect. Immun.* 68, 4865-4871.
173. Prescott J.F., Baggot J.D., Walker R.D. Antimicrobial drug resistance and its epidemiology. In: Iowa State University Press. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 3rd edition. pp 27-49.
174. Prévost G. 2004. Toxins in *Staphylococcus aureus* pathogenesis. Proft (Ed.), *Microbial toxins: molecular and cellular biology*, Horizon Bioscience, 243-284.
175. Prévost G., Mourey L., Colin D.A., Monteil H., Dalla Serra M., Menestrina G. 2006. Alpha-helix and beta-barrel pore-forming toxins (leucocidins, alpha-, gamma- and delta-cytolysins) of *Staphylococcus aureus*. *Academic Press, London.* 3, 590-607.
175. Quincampoix J.C. and Mainardi J.L. 2001. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation.* 10, 267-275.
176. Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., Hartigan P., Fanning S., FitzPatrick E.S. 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease.* Edition Blackwell-science, USA. pp 893.
177. Rainard P., Corrales J.C., Barrio M.B., Cochard T., Poutrel B. 2003. Leucotoxic activities of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows, ewes, and goats with mastitis: Importance of LukM/LukF'-PV leukotoxin. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10, 272–277.
178. Ramirez M.S., Tolmasky M.E. 2010. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, 13, 151–171.
179. Rebiahi S.A., Abdelouahid D.E., Rahmoun M., Abdelali S., Azzaoui H. 2011. Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). *Médecine et maladies infectieuses* 41, 646–665.

180. Rennie R., Turnbull L., Brosnikoff C. 2008. Comparison of Oxoid M.I.C. Evaluator device with broth microdilution and E test device from AB Biodisk for antimicrobial susceptibility testing of Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 859.
181. Rice. 2006. Antimicrobial Resistance in Gram-Positive Bacteria. *The American Journal of Medicine* 119, 11–19
182. Risley A., Lough Man A., Cywes -Bentley C., Foster T., Lee J. 2007. Capsular polysaccharide masks clumping factor A-mediated adherence of *Staphylococcus aureus* to fibrinogen and platelets. *J. Infect. Dis.* 196, 919-927.
183. Ross J.I., Eady E.A., Cove J.H., Cunliffe W.J., Baumberg S., Wootton J.C. 1990. Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the ATP-binding transport super-gene family. *Mol. Microbiol.* 4, 1207-14.
184. Sakoulas G., Moellering R.C., 2008. Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Clinical Infectious Diseases* 46 (5), S360–S367.
185. Sanders P. 1999. Traitements thérapeutiques et antibiorésistanc. *J. Point Vét.* 30, 23-30.
186. Schlievert P.M., Kristi L. Strandberg, Ying-Chi Lin, Marnie L. Peterson, Pharm D., Donald Y. M., Leung M.D. 2010. Secreted virulence factor comparison between methicillin resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, and its relevance to atopic dermatitis *J. Allergy Clin. Immunol.* 125, 9-49.)
187. Shimeld L.A., Rodgers A.T. 1999. *Essentials of diagnostic microbiology*. Edition Delmar, New York. pp 106.
188. Schwarz S., Chaslus-Dancla E. 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *J. Vet. Res.* 32, 201-25.
189. Seeger W., Bauer M., Bhakdi S. 1990. Staphylococcal alpha-toxin induced vascular leakage in isolated perfused rabbit lungs. *Lan. Investig.* 63, 341-349.
190. Soriano J.M., G. Font J.C. Moltó, J. Mañes. 2002. Enterotoxigenic staphylococci and their toxins in restaurant foods. *Trends Food Sci. Technol.* 13, 60-67.
191. Spicer W.J. 2003. *Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie*. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29.
192. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. selon les recommandations de l'OMS. 2005. 4ème édition. Algérie. 31-32.
193. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. selon les recommandations de l'OMS. 2008. 5ème édition. Algérie. 25-28.

194. Stephen H. Gillespie, Hawkey P. M. 2006. Principles and Practice of Clinical Bacteriology 2^{ème} edition. Wiley office, England. pp 586.
195. Stephen H.G., Hawkey M.P. 2006. Principles and practice of clinical bacteriology - 2^{ème} edition. Birmingham, John Wiley and Sons. pp 73-86.
196. Sutra L., Poutrel B. 1994. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. J. Med. Microbiol. 40, 79-89.
197. Taber H.W., Mueller J.P., Miller P.F., Arrow A.S. 1987. Bacterial uptake of aminoglycoside antibiotics. Microbiol. Rev. 51, 439-57.
198. Tankovic J., Aubry-damon H., Leclercq R. 1997. Resistance aux antibiotiques autres que les beta -lactamines chez *Staphylococcus aureus*. Méd. Mal. Infect. 27, 207-16.
199. Thakker M., Park J., Carey V., Lee J. 1998. *Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. Infect. Immun. 66, 5183-5189.
200. Thomas D., Chou S., Dauwalder O., Lina G. 2007. Diversity in *Staphylococcus aureus* enterotoxins. Chem. Immunol. Allergy 93, 24-41.
201. Todar K. *Staphylococcus aureus*. 2005. Editor. *Todar's online textbook of bacteriology*; <http://www.textbookofbacteriology.net>.
202. Todar K. *Staphylococcus aureus*. 2009. Editor. *Todar's online textbook of bacteriology*; <http://www.textbookofbacteriology.net>.
203. Vandenberg M.F., Yzerman E.P., van Belkum A., *et al.* 1999. Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years: redefining the persistent carrier state. J. Clin. Microbiol. 37, 3133-3140.
204. Vanderhaeghen, W., Cerpentier, T., Adriaensen, C., Jo Vicca, Hermans, K., Butaye, P. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. J. Veterinary Microbiology 144, 166-171.
205. Van Loo I., Diederens B.M., Savelkoul P.H., Woudenberg J.H., Roosendaal R., van, B.A., Lemmens-den T.N., Verhulst C., van Keulen P.H., Kluytmans J.A. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, the Netherlands. Emerging Infectious Diseases 13, 1753-1755.
206. Vázquez-Sánchez D., López-Cabo M., Saá-Ibusquiza P., Rodríguez-Herrera J.J.

2012. Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). *International Journal of Food Microbiology* 157, 286–296.
207. William J.G. 2009. Assessing pediatric nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and MRSA. The University of School of Public Health. *Epidemiology & Disease Control* Texas 40.
208. Woodin A.M. 1960 Purification of the two components of leukocidin from *Staphylococcus aureus*. *Biochem J.* 7, 158-165.
209. Wootton S.H., Arnold K., Hill H.A., *et al.* 2004. Intervention to reduce the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections in a correctional facility in Georgia. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 25, 402-407.
210. Wylie J.L., Deborah L., Nowicki L. 2005. Molecular epidemiology of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Manitoba, Canada. *J. Clin. Microbiol.* 43, 2830-2836.
211. Yarwood J.M., Schlievert P.M. 2003. Quorum sensing in *Staphylococcus* infections. *J. Clin. Invest.* 112, 1620-1625.
212. Yesim Can H., Haluk Çelik T. 2012. Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. *Food Control* 24, 100-103.
213. Zhang Y., Suyun C, Ding G., Zhu M., Xuexia Pan, Zhang L. 2001. Molecular analysis and antibiotic resistance investigation of *Staphylococcus aureus* isolates associated with staphylococcal food poisoning and nosocomial infections African Journal of Biotechnology Vol. 10 (15), 2965-2972.
214. Zhang S., Iandolo J.J., Stewart G.C. 1998. The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* encodes second enterotoxin determinant (*sej*). *FEMS Microbiol. Lett.* 168, 227-233.

Annexes

Annexe I

Milieux de culture

Gélose ADN

Composition :

Hydrolysats trypsique de caséine.....	20,0 g
ADN.....	2,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Bleu de toluidine.....	3ml
Agar.....	12,0 g
pH = 7,3	

Préparation :

39 g par litre. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min.

Gélose de Baird Parker

Composition

Peptone pancréatique de caséine.....	10g
Extrait de levure.....	1g
Extrait de viande.....	5g
Pyruvate de sodium.....	10g
Chlorure de lithium.....	5g
Glycine.....	12g
Gélose.....	20g
Eau.....	1000ml

Solution de Tellurite

Tellurite de potassium.....	1g
Eau.....	100ml

Emulsion de jaune d'œuf

-Bien mélanger les jaunes d'œuf avec quatre fois leur volume d'eau.

-Chauffer le mélange dans le bain d'eau réglé à $45 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durant 2 heures.

-Entreposer entre 0 à $+5^\circ\text{C}$ durant 18 à 24heures pour laisser se former un précipité.

-Laisser décanter et stériliser le liquide surnageant par filtration, sauf si l'émulsion à été séparée aseptiquement.

Milieu complet

Milieu de base BP	100ml
Solution de tellurite de potassium.....	1ml
Emulsion de jaune d'œuf.....	5ml

Bouillon cœur-cervele

Composition :

Infusion de cervelle de veau.....	12.5 g
Infusion de cœur de bœuf.....	5.0 g
Peptone.....	10.0 g

Glucose.....	2.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Phosphatase di sodique.....	2.5 g
pH=	7.4

Préparation :

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

Gélose colombia**Composition :**

Peptone	23.0 g
Amidon.....	1.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Agar.....	10.0 g
pH=	7.2

Préparation :

42,5 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min

Gélose pour la conservation**Composition :**

Peptone.....	10.0 g
Extrait de viande.....	5.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Agar.....	10.0 g
pH=	7.3

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

Gélose hyper salée au mannitol – Chapman –**Composition :**

Peptone.....	11.0 g
Extrait de viande.....	1.0 g
Chlorure de sodium.....	75.0 g
Mannitol.....	10.0 g
Agar.....	15.0 g
Rouge de phénol (Solution sodique à 0.25 p. 100).....	20 ml
pH =	7.6

Préparation :

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

Gélose Mueller-Hinton**Composition :**

Infusion de viande de bœuf.....	300 ml
Peptone de caséine.....	17.5 g
Amidon de maïs.....	1.5 g
Agar.....	10.0 g

pH= 7.4

Préparation :

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

Gélose Mueller-Hinton additionnée de 4% Na Cl

M H Agar.....	38.0 g
Na Cl.....	40.0 g
Eau distillée.....	1000 ml

Préparation :

Prêt à l'emploi en flacons de 250 ml.

Gélose Colombia

Composition :

Peptone	10.0 g
Extrait de viande.....	4.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Agar.....	13.0 g
pH=7.2	

Préparation :

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

P.S.E (liquide de dilution)

Composition

Peptone.....	1g
Na Cl.....	8,5g
Eau.....	1000ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant, si nécessaire. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20 min.

Annexe II

Antibiotiques testés sur les souches de *S. aureus* (CASFM, 2007 ; NCCLS, 2006).

Familles des antibiotiques	Antibiotiques testés	Charge des disques
Bétalactamines	Pénicilline; Oxacilline; Céfoxitine	10 UI 1 µg 30 µg
Aminosides	Gentamicine; Tobramycine; Kanamicine; Amikacine	10 µg 10 µg 30 µg 30 µg
Macrolides	Erythromycine; Spiramycine; Lincomycine; Pristinamycine Bacitracine	15 µg 10 µg 10 µg 15 µg 8µg
Glycopeptides	Vancomycine	30 µg
Quinolones	Ofloxacin Acide nalidixique	5 µg 30 µg
Autres	Tétracycline; Chloramphénicol; Fosfomycine; Acide fusidique Noviobiocine	30 µg 30 µg 50 µg 10 µg 30 µg

UI: Unité Internationale; µg: microgramme

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* (CASFM, 2007).

Antibiotiques testés	Diamètres critiques		
	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Bêtalactamines			
Pénicilline;	≤28	...	≥29
Oxacilline;	≤10	11-12	≥13
Céfoxitine	≤19	...	≥20
Aminosides			
Gentamicine;	≤12	13-14	≥15
Tobramicine;	≤12	...	≥13
Kanamicine;	≤14	15-16	≥17
Amikacine	≤14	15-16	≥17
Macrolides			
Erythromycine;	≤13	14-22	≥23
Spiramycine;	≤12	12-23	≥24
Lincomycine;	≤14	15-20	≥21
Pristinamycine	≤19	19-21	≥22
Glycopeptides			
Vancomycine	≤14	...	≥15
Quinolones			
Ofloxacine	≤14	15-17	≥18
Acide nalidixique	≤14	15-17	≥18
Autres			
Tétracycline;	≤14	15-18	≥19
Chloramphénicol;	≤12	13-17	≥18
Fosfomycine;	≤14	...	≥14
Acide fusidique	≤15	15-21	≥22
Noviobiocine	<17	...	≥18
Bacitracine	≤15	...	≥22

Préparation de la gamme de concentrations d'antibiotiques en milieu solide (OMS, 2005)

Solution mère d'antibiotiques	Solution mère (ml)	Eau distillée (ml)	Concentration en tubes ($\mu\text{g/ml}$)	Concentration en boîtes ($\mu\text{g/ml}$)
1600 $\mu\text{g/ml}$	1 ml	9 ml	160	16
	0,5 ml	9,5 ml	80	8
Changer de pipette 80 $\mu\text{g/ml}$	2 ml	2 ml	40	4
	1 ml	3 ml	20	2
	0,5 ml	3,5 ml	10	1
	0,5 ml	7,5 ml	5	0,5
Changer de pipette 5 $\mu\text{g/ml}$	2 ml	2 ml	2,5	0,25
	1 ml	3 ml	1,25	0,125
	0,5 ml	3,5 ml	0,63	0,063
	0,5 ml	7,5 ml	0,32	0,032
Changer de pipette 0,32 $\mu\text{g/ml}$	2 ml	2ml	0,16	0,016

Valeurs critiques des CMI pour *Staphylococcus spp* (OMS, 2005).

Antibiotiques testés	CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)	
	Résistant	Sensible
Tétracycline	≥ 16	≤ 4
Chloramphénicol	≥ 32	≤ 8
Oxacilline	≥ 4	≤ 2

Résumé

De nombreuses études portant sur les *S. aureus* se justifient par l'immense rôle qu'il joue en pathologie infectieuse humaine et vétérinaire. La recrudescence de la multirésistance aux agents antimicrobiens constitue un problème majeur de santé publique dans le monde en raison des fréquences qui ne cesse d'augmenter et provoquent des impasses thérapeutiques dans le prochain avenir. **Objectifs** : Estimer la prévalence des *S. aureus* dans différents aliments et évaluer leurs sensibilité vis-à-vis de 20 antibiotiques. **Méthodes** : L'isolement de *S. aureus* à été effectué à partir de différents produits alimentaires. L'identification des souches à été réalisé par le test de coagulase et l'API staph. Le profil de résistance des isolats à été étudié par rapport à leur sensibilité a une vingtaine d'antibiotiques par la technique standard de diffusion de l'antibiotique en gélose. L'évaluation des CMI, à été effectué par la technique de dilution en milieu solide pour l'oxacilline, et par E-test pour la tétracycline et le chloramphénicol. **Résultats** : Sur les 107 échantillons analysés, 56 (52,33%) étaient contaminés par *S. aureus* avec une incidence élevée dans le lait cru de vache (70 %), les plats cuisinés (55%) et les viandes crues (50%). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montrée des isolats SASM présentant un taux de résistantes 100% à l'acide nalidixique, 87,03% à la bacitracine, 62,96% à la pénicilline G, 35,15% à la fosfomycine, 29,62% à l'acide fusadique, 25,92% à l'erythromycine, 18,51% à la kanamycine, 14,81% à la tétracycline, 5,55% à la spiramycine et lincomycine. Au total, nous avons noté 26 différents phénotypes de résistance dont 45 souches avaient une résistance à au moins trois antibiotiques. Deux souches SARM (3,57%) étaient détectées. Le caractère multirésistant des deux SARM est confirmé par une résistance à toutes les bêta lactamines, aux macrolides où le profil de résistance est de phénotype MLS_B constitutif pour les deux souches ainsi, aux aminosides avec le phénotype K pour l'une et le phénotype KT pour l'autre. Aucune résistance parmi nos isolats vis-à-vis de la vancomycine, le chloramphénicol, la gentamycine et la pristamycine. **Conclusion** : la prévalence élevée et la multirésistance des *S. aureus* est devenu remarquablement répandue dans les aliments. Cela nécessitent la mise en oeuvre d'une stratégie active, efficace où la sécurité microbiologique des aliments doit être garantie afin d'éviter la propagation de résistance aux antimicrobiens par ces micro-organismes.

Mots clés:

Staphylococcus Aureus; Occurrence Aliments; Résistance; Antibiotiques; E-Test; CMI; SARM; SASM; Prévalence.