

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE-ALGER
المدرسة الوطنية للبيطرة- الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

THEME

Etude de l'action de quelques
antibiotiques sur les staphylocoques
en cas d'otite externe chez le chien

Présenté par : BENAOKSA FOUZI
FORTAS MOHAMED AMINE
BOUMAZA DJAMEL

Soutenu le: 26/06/2014

Membres du jury :

Présidente : Mme Boudiaf (Maitre assistante classe A)

Promotrice : Mme Alouache (Maitre assistante classe A)

Examinatrice : Mme keramane (Maitre assistante classe A)

Examinatrice : Mme Aynouz (Maitre assistante classe A)

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant de nous
avoir offert tous ce que nous possédons.*

*A notre promotrice Mm. Alouache qui a pris tous les soins
de nous orienter et nous faire part de ses précieuses
remarques.*

*Aux membres de jury qui ont bien voulu accepter de
superviser ce mémoire.*

*A tous les enseignants sans exception qui ont contribué à
notre formation a ENSV*

*A toutes les personnes qui n'ont manqué aucun effort et ont
contribué de prêt et de loin a la réalisation de ce travail.*

DEDICACE

À mes mes parents avec tout les respect et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation , en leur souhaitant longue vie et santé

À toute ma famille sans exception

À mes très chères sœurs : Zahia , Amal et Ikram

À mes oncles: Adel et Omar

À mon grand père et ma grand-mère

*À mes amies : Mohamed el hadi, Fayez, Ammar,
Nabil, Jarik, Nassim, Moh, nadjib, Omar, Joufik,
Amine, Djamel.*

À tous ceux que j'admire de près et de loin

Fouzi

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ma mère , MAMA ,en vous, je vois la maman parfaite, toujours prête à se sacrifier pour le bonheur de ses enfants.

A mon Père, NORÉ EDDINE en vous, je vois un père dévoué à sa famille. Ta présence en toute circonstance m'a maintes fois rappelé le sens de la responsabilité .merci pour tout.

A ma grande famille sans oublier mes grands-parents.

A mes deux princesses : ZINEB et CHAHRA ZEDa et mon frères ABDELHAK (hakou)

A la personne la plus magnifique que j'ai rencontré dans ma vie : SAMIA

A mes trinômes : DJAMEL et FOUZIpour leur patience avec moi tout au long de notre projet.

À mes amis que je ne les oublierai jamais dans ma vie :Abdelah ;Touhami ; Hassan ;Alilo ; Douzi;Omar ;Hichem et Sifou

A tous mes amis deBouraoui : Brahim;Younes ;.....

A toute la promotion 2014.

Et que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

MOHAMED AMINE.

Sommaire :

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

<u>Introduction</u>	1
<u>Première partie : Rappels anatomiques et physiologique de l'oreille externe de chien</u>	
1. Les cartilages de l'oreille externe	4
2. Le pavillon	4
3. Le tympan	5
4. Physiologie	5
4-1. La production de cérumen.....	5
4-2. Le phénomène de migration épithéliale.....	5
<u>Deuxième partie : Classification, mécanisme et étiologie des otites externes</u>	
1. Classification	6
1-1. Otites érythémato-cérumineuses	6
1-2. Otites suppurées	6
1-3. Otites hyperplasiques chroniques	6
1-4. Otites ulcératives	6
2. Mécanisme inflammatoire	7
2-1. En phase aiguë.....	7
2-2. En phase chronique.....	7
3. Etiologies	7
4. Complications	8
<u>Troisième partie : Traitement des otites externes de chien</u>	
1. Traitement local	10
1-1. Nettoyage du conduit auditif.....	10
1-2. Thérapeutiques topiques.....	10
a-L'anti-inflammatoire.....	10
b-L'antibiotique.....	11
c-anti fongique.....	11
2. Traitement systémique	11
2-1. Traitement antibiotique.....	12
2-2. Traitement anti-inflammatoire	12
<u>Quatrième partie : Les staphylocoques</u>	
1. Généralité	13
2. Pouvoir pathogène	13
3. Propriétés bactériologiques	14
3-1. Morphologie.....	14
3-2. Culture.....	14
3-3. Caractéristiques de culture.....	15
3-4. Caractéristiques biochimiques.....	15
3-5. Enzymes et toxines.....	16
a- Coagulase.....	16
b- Hémolysines.....	16
c- La leucocidine de Pantou-Valentine lyse les neutrophiles, les monocytes et les macrophages.	16
d- L'entérotoxine.....	16
3-6. Antigènes.....	17
4. Diagnostic biologique	17
4-1. Examen direct.....	17

4-2. Caractères cultureux.....	18
4-3. Diagnostic de genre et d'espèce.....	18
a- Catalase.....	18
b- Coagulase.....	18
c- Tests d'agglutination	19
d- Identification biochimique.....	19
4-4. Sensibilité aux antibiotiques	20

Cinquième partie : L'action des antibiotiques et mécanismes de la résistance des staphylocoques

1. antibiotique et mode d'action	21
1-1. Définition	21
1-2. Les mécanismes d'action des antibiotiques.....	21
2. Résistance des bactéries aux antibiotiques	22
2-1. Résistance naturelle	22
2-2. Résistance acquise	22
3. Résistance chez les staphylocoques.....	23
3-1. Résistance aux B-lactamines.....	23
3-2. Résistance par production de B-lactamases	23
3-3. Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle: la PLP2a.....	23
3-4. Autres mécanismes de résistance.....	23
a- Modification de protéines de liaison à la pénicilline autres que la PLP2a.....	23
b- Mécanisme enzymatique.....	24
3-5. Résistance aux aminosides.....	24
3-6. Résistance aux macrolides.....	24
a- Résistance par modification de la cible de l'antibiotique.....	24
b- Résistance par efflux.....	24
c- Résistance par enzymes inactivatrices.....	25
3-7. Résistance aux fluoroquinolones.....	25
3-8. Résistance aux glycopeptides	25

METHODOLOGIE

1. L'échantillon	27
2. Prélèvements	27
3. Pré enrichissement.....	27
4. Isolement des staphylocoques.....	27
5. Examen microscopique.....	27
6. Identification du genre staphylocoque.....	27
6-1. La coloration de gram.....	28
6-2. Test de la Catalase.....	29
6-3. Test de la staphylocoagulase libre.....	29
6-4. Test du mannitol mobilité.....	29
6-5. Test VP.....	30
6-6. Test RM	30
6-7. Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé.....	31

RESULTATS

1. Caractères cultureux.....	33
2. Caractères microscopiques.....	33

3. Tests biochimiques	33
3-1. Test de la catalase	33
3-2. Test de la coagulase.....	33
3-3. Test du VP.....	33
3-4. Test du RM.....	33
3-5. Test du mannitol mobilité.....	33
4. Test de la résistance à la Novobiocine et la Bacitracine	34
5. Identification des espèces	34
6. Action des antibiotiques	36

Discussion	40
-------------------------	----

Conclusion	41
-------------------------	----

Résumé

Liste des figures

Figure 01 : Coupe transversale de l'oreille.....	page 3
Figure 02 : Représentation schématique d'un aspect latéral des différents cartilages auriculaires appartenant à une oreille gauche de chien.....	page 4
Figure 03 : Amas de staphylocoque après coloration de Gram	page 17
Figure 04 : <i>S. aureus</i> à gauche, <i>S.epidermidis</i> à droite	page 18
Figure 05 : Le test coagulase.....	page 18
Figure 06 : test d'agglutination.....	page 19
Figure 07 : test par galeries a staphylocoques.....	page 19
Figure 08 : principaux antibiotiques a tester les staphylocoques.....	page 20
Figure 09 : mode d'action des antibiotiques.....	page 21
Figure 10 : Sites d'action des antibiotiques.....	page 22
Figure 11 : les étapes de la coloration GRAM.....	page 28
Figure 12 : résultats de test mannitol mobilité pour quelques tubes.....	page 30
Figure 13 : résultats de test RM pour quelques tubes.....	page 31
Figure 14 : pourcentage des espèces de staphylocoques impliqués dans ces cas d'otites étudiés	page 36
Figure 15 : les résultats de sensibilité / résistance de <i>S.aureus</i>	page 38
Figure 16 : les résultats de sensibilité / résistance de <i>S.epidermidis</i>	page 38
Figure 17 : les résultats de sensibilité / résistance de <i>S.intermedius</i>	page 39

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les facteurs d'otite externe du chien et du chat.....	page 9
Tableau 02 : Mode d'action de quelques familles d'antibiotiques sur les bactéries	page 26
Tableau 03 : Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative.....	page 32
Tableau 04 : Les caractères d'identification les 3 staphylocoques étudiés.....	page 34
Tableau 05 : classification des staphylocoques isolés selon les caractéristiques biochimiques.....	page 25
Tableau 06 : Effectifs et pourcentages des staphylocoques isolés et identifiés	page 35
Tableau 07 : Fréquences des espèces des staphylocoques isolés.....	page 36
Tableau 08 : Résistance et sensibilité des staphylocoques isolés aux antibiotiques	page 37
Tableau 09 : taux de résistance et de sensibilité des espèces isolées aux antibiotiques	page 37

Liste d'abréviations

VP : Voges Proskauer

RM : Red Methyl

CMI : Concentration minimale inhibitrice

SA : *Staphylococcus aureus*

SCN : staphylocoques à coagulase négative

PLP : protéines de liaison à la pénicilline

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

MODSA : modified *Staphylococcus aureus*

MLS : macrolides, lincosamides et streptogramines

GISA : staphylocoques dorés intermédiaires aux glycopeptides

I. Introduction :

L'oreille est une structure complexe, qui permet à l'animal de capter et d'enregistrer les sons mais aussi de percevoir la gravité, les accélérations et la rotation de la tête. (2)

L'otite externe chez le chien est une affection très fréquente, dans la plupart des cas, cette affection est peu grave mais elle ne doit jamais être considérée comme banale. En effet, une otite mal soignée peut devenir chronique et son traitement peut parfois devenir très difficile.

Pour le praticien, la difficulté consiste à instaurer le traitement qui garantira la guérison rapide et définitive de l'animal. Les facteurs étiologiques, à l'origine d'otite, sont nombreux et variés.

Il est nécessaire de les identifier, afin de proposer une thérapeutique soit adaptée et ainsi d'éliminer la cause primaire de l'otite.

Les origines sont variées : parasite, allergie, eau dans les oreilles, épillet, etc.

Les complications fréquentes chez le chien ce qui en fait sa gravité dans cette espèce : prurit, abondance de cérumen, 'bouchons', rétrécissement du conduit, et, non des moindres, multiplication de bactéries et/ou de levures. Ces micro-organismes sont souvent ceux qui sont présent normalement dans le conduit de l'oreille du chien : ils "profitent" de l'otite pour proliférer et c'est le cercle vicieux. (2, 20)

La mise en place d'un traitement antibiotique « repose sur une quadruple analyse ; clinique, bactériologique, pharmacologique et toxicologique », En effet, pour que l'antibiothérapie soit efficace, il faut que la (les) bactérie(s) en cause soi(en)t sensible(s) à la (les) molécule(s) choisie(s), que l'antibiotique parvienne rapidement au site infectieux, et qu'il y persiste suffisamment longtemps à une concentration active, De plus le traitement choisi ne devra pas aggraver le pronostic en ayant des effets secondaires incompatibles avec le statut médical du patient et être judicieusement choisi afin de limiter la sélection de souches résistantes.

Les grands principes de pharmacocinétique et de pharmacologie générale appliqués à l'antibiothérapie du chien seront abordés. Les critères d'évaluation de l'efficacité d'un antibiotique, leurs spectres d'activité naturelle et les spectres actualisés en fonction de l'évolution des résistances bactériennes aux antibiotiques pour les souches animales seront développés pour aboutir à un choix raisonné de la molécule. (30)

Introduction

Ce travail a donc pour objectif de présenter, de manière la plus complète possible, l'action de quelques antibiotiques en cas d'otite externe chez le chien.

I. Rappels anatomiques et physiologique de l'oreille externe de chien

Les rappels anatomiques et physiologiques constituent un préalable indispensable à la compréhension de la physiopathologie des otites. En effet, des modifications anatomiques et des changements physiologiques accompagnent fréquemment les otites.

L'oreille est un organe plurifonctionnel, organe de l'audition (extéroception) grâce à l'appareil vestibulaire ; elle intervient également par le système cochléaire dans la proprioception (équilibre, mouvements). Elle sert à entendre et à l'orientation de la tête et donc du corps dans l'espace. Anatomiquement, elle est divisée en trois parties principales (10)

- L'oreille externe, formée de l'auricule et du méat auditif externe, assure la réception et la collecte des vibrations aériennes.
- L'oreille moyenne est constituée de la caisse du tympan, du tympan, des trois osselets et des muscles et ligaments qui leur sont associés, c'est un organe de transmission uniquement.
- L'oreille interne, formée par le labyrinthe placé dans la partie pétreuse de l'os temporal, sert à l'audition et l'équilibration.

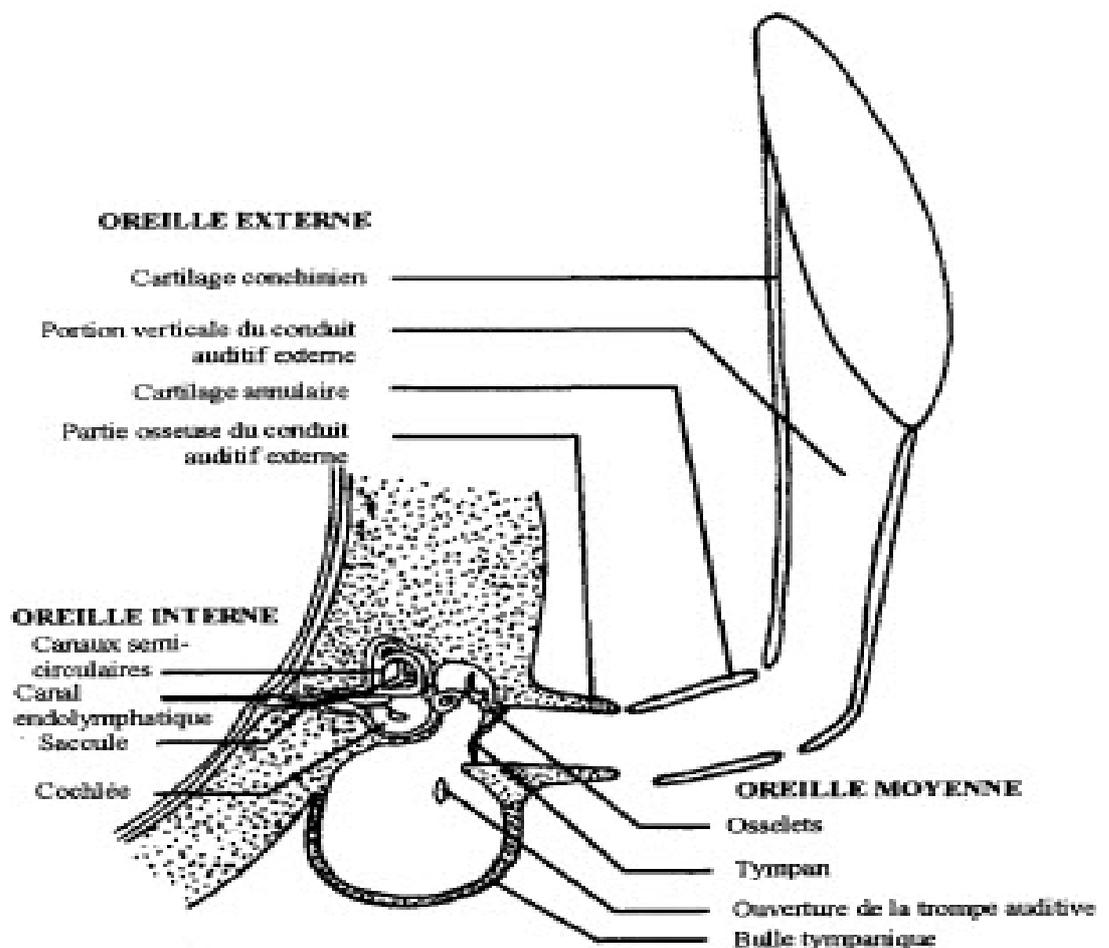


FIGURE 01 : Coupe transversale de l'oreille selon Auger.S 1995

L'oreille externe comprend deux parties :

- une externe qui correspond à l'auricule ou pavillon auriculaire
- une interne : le méat acoustique externe. (25)

1. Les cartilages de l'oreille externe

L'oreille externe repose sur une charpente cartilagineuse composées de trois cartilages :

- le cartilage auriculaire
- le cartilage annulaire
- cartilage scutiforme

Les cartilages annulaire et auriculaire forment l'entrée du conduit auditif externe et le cartilage auriculaire s'étend pour former le pavillon. (25)



FIGURE 02 : Représentation schématique d'un aspect latéral des différents cartilages auriculaires appartenant à une oreille gauche de chien (d'après PA VAUX) (28)

2. Le pavillon

L'auricule est la structure de l'oreille directement visible et sa plus grande portion, son port sa forme et sa taille sont très variable en fonction de la race. Il s'agit d'une sorte d'entonnoir qui permet de localiser, de capter et de concentrer les ondes sonores. Il est formé d'une lame de cartilage élastique, le cartilage auriculaire, qui détermine la forme du pavillon, et couvert de peau sur ses deux faces. (25,35)

3. Le tympan

Il sépare le conduit auditif externe de l'oreille moyenne. Il est incliné d'environ 30 à 40° par rapport au plan vertical. Il s'agit d'une fine lamelle presque circulaire, légèrement concave latéralement, opalescente et constituée de trois types cellulaires. Une couche externe en continuité avec l'épiderme du conduit externe, une couche moyenne fibreuse et une couche interne en continuité avec la muqueuse de la caisse du tympan (25)

4. physiologie

Nous n'aborderons que deux aspects de la physiologie de l'oreille, aspects qui nous intéressent particulièrement, car ils présentent un intérêt dans la compréhension et le traitement des otites externes du chien.

4.1. La production de cérumen

Les glandes cérumineuses sont des glandes sudoripares apocrines modifiées. Leurs sécrétions associées à celles des glandes sébacées et aux cornéocytes desquamés forment le cérumen.

Cedernier assure différentes fonctions (25) :

- protection mécanique du conduit auditif par sa consistance gluante
- souplesse et élasticité de la membrane tympanique
- limitation des contacts des corps étrangers et micro-organismes avec l'épithélium et diminution des macérations par son caractère hydrofuge
- activité bactériostatique supposée

La densité en glandes cérumineuses varie beaucoup d'une race à l'autre, ce qui n'est pas le cas des glandes sébacées (33).

4.2. Le phénomène de migration épithéliale

Il s'agit d'un phénomène dont la compréhension n'est pas complète à l'heure actuelle mais dont on peut supposer les éléments suivants.

Le point de départ de la migration épithéliale se situerait au centre du tympan. Les cellules épithéliales du conduit auditif auraient la capacité de se renouveler en migrant de ce point jusqu'à l'ouverture du conduit. A la manière d'un tapis roulant et aidé par les mouvements de la mâchoire, ce phénomène permettrait l'évacuation des débris et du cérumen, qui s'accumulent sur la paroi, il en résulte un « nettoyage » physiologique du conduit auditif qui est d'une importance majeure.(25).

II. Classification, mécanisme et étiologie de l'otite externe

1. Classification

Selon l'état de la peau et des sécrétions, les otites sont classées en

- Otites érythémato-cérumineuses
- Otites suppurées
- Otites hyperplasiques chroniques
- Otites ulcératives

1-1. Otites érythémato-cérumineuses

Elles se caractérisent par :

- Congestion du conduit auditif
- Production excessive de cérumen (coloré) consécutif à l'hyperplasie des glandes cérumineuses (conduit bosselé).
- Déchets et squames forment avec le cérumen un milieu favorable au développement des micro-organismes.

1-2. Otites suppurées

Elles sont souvent une complication des autres types d'otites externes, les sécrétions sont purulentes, visqueuses et souvent malodorantes.

Dans Les cas chroniques, ces otites peuvent être compliquées d'ulcères très douloureux, dans ce cas de figure, le risque d'extension de l'infection à l'oreille moyenne est passible, leur pronostic est défavorable dans les cas chroniques.

1-3. Otites hyperplasiques chroniques

Ce type d'otite se caractérise par un renforcement des plis de l'oreille et des proliférations verruqueuses dans le conduit auditif, la lumière de ce dernier se trouve diminuée voire obstruée, les micro-organismes trouvent dans ces replis toutes les conditions favorables à leur développement, leur pronostic est défavorable, si obstruction totale du conduit auditif.

1-4. Otites ulcératives

Les ulcères sont souvent l'aggravation d'otites bactériennes à *Pseudomonas* sp ou *Proteus* sp, la douleur vive accompagnée d'une agressivité et parfois difficultés à la mastication ;leur Pronostic est défavorable.

2. Mécanisme inflammatoire

Quelle qu'en soit la cause, l'otite externe se développe selon un même schéma

2-1. En phase aiguë

Le conduit auditif devient érythémateux et œdémateux, L'évolution se traduit rapidement par une hyperplasie épidermique, une hyperkératose, des microfissures, dépôt de cornéocytes, l'activité glandulaire sébacée et apocrine est augmentée, la composition du cérumen produit est modifiée, Le taux de renouvellement des cellules épithéliales est diminué.

La combinaison épaisseur importante de l'épiderme, activité glandulaire accrue, diminution des capacités de renouvellement des cellules épithéliales est à l'origine d'une accumulation excessive de cérumen dans le conduit auditif conditions idéales à la prolifération des bactéries et levures.

2-2. En phase chronique

On note

- Une calcification voire une ossification des cartilages auriculaires
- Une fibrose dermique
- Une sténose complète du conduit auditif (portion verticale, le plus souvent. (19)

3-Etiologies

On distingue des facteurs primaires, prédisposants et perpétuants.

Tableau 01 : Les facteurs d'otite externe du chien et du chat par DN Carlotti (1994)

Facteurs prédisposants	Conformation de l'oreille	Oreille tombante Sténose du conduit auditif externe
	Environnement	Augmentation de la température Augmentation de l'humidité Natation
	Tumeur du conduit auditif	Céruminome Adénocarcinome des glandes cérumineuses Polype pharyngé
	Utilisation de topiques inadaptés	Inefficace Irritant
Facteurs primaires	Corps étrangers	Epillet
	Dysendocrinies	Hypothyroïdie Syndrome de Cushing Dysendocrinie sexuelle
	Ectoparasitoses	Otodectes cynotis
	Hypersensibilités	Dermatite atopique Allergie (intolérance) alimentaire Allergie de contact
	Maladies auto-immunes	Pemphigus foliacé
	Troubles de la kératinisation	Séborrhée idiopathique Dermatose répondant à la vitamine A
	Divers	Cellulite juvénile
Facteurs secondaires	Infection bactérienne	<i>Staphylococcus intermedius</i> <i>Pseudomonas spp.</i>
	Infection fongique	<i>Malassezia spp.</i>
Facteurs perpétuants	Altération de l'épithélium et du cartilage auriculaire	
	Sténose des conduits auditifs externes	
	Modification de la flore	
	Otite moyenne	Otite moyenne fongique Otite moyenne bactérienne

4. Complications

Les complications sont la conséquence des lésions provoquées par l'affection causale, parce qu'elles empêchent la résolution de l'otite, même si un traitement spécifique de l'affection sous-jacente a été mis en place, certains auteurs les nomment facteurs perpétuants.

Il s'agit essentiellement de la prolifération de microorganismes et des atteintes tympaniques et affections qui en découlent. Les produits du métabolisme bactérien et fongique (toxines, enzymes...) accentuent l'inflammation. Les anomalies tympaniques, voire les affections plus profondes, créent un foyer infectieux persistant (25).

Une étude, menée en 2001, a montré que le nombre de bactéries et de levures était significativement augmenté chez les chiens atteints d'otite externe. Dans la plupart des cas, des comptages élevés étaient associés à la présence de signes cliniques (15).

Chez le chien, des souches de *Staphylococcus intermedius* peuvent être isolées des conduits auditifs normaux ; cela représente jusqu'à 47,6% des prélèvements, mais cette bactérie est également la plus fréquemment isolée lors d'otites externes aiguës, viennent ensuite *Pseudomonas* spp, *Proteus mirabilis* et les streptocoques bêta-hémolytiques, ces trois espèces sont isolées dans moins de 5% des conduits auditifs normaux, en revanche, *Pseudomonas*,spp et *Proteus mirabilis* sont les genres les plus fréquemment isolés lors d'otites chroniques, Les infections mixtes sont, en général, constituées de *Staphylococcus intermedius* en association avec l'un ou l'autre de ces bacilles Gram négatif (29).

L'incidence de l'otite moyenne est difficile à évaluer, compte tenu de la difficulté de son diagnostic et de la variabilité des critères considérés dans les différentes études. Les chiffres les plus cités sont 16% d'otites moyennes en cas d'otite externe aiguë et jusqu'à 50% associées aux cas chroniques (25, 32).

III. Traitement des otites externes du chien

Le traitement des otites nécessite toujours une phase locale (nettoyage et traitement topique) et parfois une phase générale (traitement de la cause, éventuellement traitement symptomatique systémique). De nombreuses spécialités sont à la disposition du praticien, elles doivent cependant être utilisées au cas par cas et de façon raisonnée. (3)

1. Traitement local

1-1. Nettoyage du conduit auditif

Le succès du traitement d'une otite externe nécessite un nettoyage minutieux du canal auriculaire (1), l'intérêt de ce nettoyage est de réduire, voire d'éliminer, les débris cellulaires, le cérumen et les corps étrangers de petite taille. Ces éléments provoquent une macération, entretiennent l'inflammation et réduisent l'action des topiques, le choix du nettoyant est réalisé en fonction des données de la clinique (type d'exsudat observé). Idéalement, ce choix devrait être fait après avoir pu vérifier l'intégrité de la membrane tympanique (16), des substances antimicrobiennes sont fréquemment incorporées dans les nettoyants d'oreilles, pour retarder la prolifération des micro-organismes. Un nettoyant d'oreilles contenant du parachlorometaxylénol (PCMX) (Epi-Otic®) a montré une activité *in vitro* (24) et *in vivo* (7) contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus intermedius* et *Malassezia pachydermatis*. La chlorhexidine (1-3%) est active contre *Staphylococcus intermedius* et *Malassezia pachydermatis*, mais beaucoup moins contre *Pseudomonas aeruginos* (27).

Enfin, il est préférable d'avoir recours aux préparations auriculaires spécifiques disponibles en médecine vétérinaire.

1-2. Thérapeutiques topiques

L'évolution des otites est souvent similaire et non spécifique : dans de nombreux cas, on observe l'apparition d'un œdème, d'une hyperhémie et d'une hyperkératose, associés à une infiltration de cellules inflammatoires, une hyperplasie des glandes sébacées, une dilatation des glandes cérumineuses et une colonisation bactérienne et/ou fongique. La plupart des spécialités, disponibles en médecine vétérinaire, contiennent une association antibiotique/anti-inflammatoire avec plus ou moins un acaricide et un antifongique. Il est nécessaire d'attendre 20 à 30 minutes entre le nettoyage et l'application du traitement topique. (1).

a- L'anti-inflammatoire

Il s'agit d'anti-inflammatoires stéroïdiens. Du fait de leurs effets secondaires, leur usage est controversé, mais ils permettent de rompre le cycle prurit-lésions, qui contribue fréquemment à perpétuer l'inflammation (23). Les corticostéroïdes les plus utilisés dans les spécialités vétérinaires sont la dexaméthasone, la bétaméthasone, la triamcinolone et la prednisolone. (14).

b- L'antibiotique

Les bactéries sont fréquemment isolées des conduits auditifs de chiens atteints d'otite externe. Dans la majorité des cas, la culture bactérienne, associée à la réalisation d'un antibiogramme, n'est pas nécessaire. Les antibiotiques les plus fréquemment utilisés sont la néomycine, la framycétine, la gentamycine, la marbofloxacin, l'acide fusidique, la polymyxine B et le chloramphénicol (5).

Lorsque l'otite est rebelle au traitement mis en œuvre, il convient de réaliser une culture, suivie de la réalisation d'un antibiogramme. Les résultats qualitatifs obtenus sont confrontés aux résultats semi-quantitatifs et qualitatifs de la cytologie. C'est également le cas, lors d'otites suppurées, où des bâtonnets sont identifiés à la cytologie, ou lorsqu'une otite moyenne est présente (le prélèvement est fait, dans ce dernier cas, au niveau de la cavité tympanique) (25). La pharmacopée vétérinaire permet de disposer d'un large choix, mais l'utilisation d'antibiotiques injectables est également possible en instillation auriculaire.

Les antibiotiques seront donc choisis en fonction du diagnostic expérimental, en utilisant une substance probablement active sur les germes observés (coques : pénicilline, néomycine...; bacilles Gram- : polymyxine B, framycétine, marbofloxacin...) (17). Une à deux applications par jour, pendant une à trois semaines, convient en général.

c- Anti fongique

La combinaison kétoconazole (10mg)-gentamycine (5mg sous forme sulfate)-mazipredone (5mg sous forme hydrochloride) (dans 1mL de solvant combinant propylène glycol, éthanol et alcool benzylique) a démontré d'excellents résultats (22, 21).

La plupart des préparations nettoyantes ou spécialités traitantes mises à la disposition du praticien sont des associations, dont l'emploi est commode. Leur choix portera sur un diagnostic étiologique précis. Le traitement doit idéalement être poursuivi jusqu'à la normalisation de la cytologie, qui intervient souvent après la guérison clinique (4).

2. Traitement systémique

C. Griffin (16) considère qu'un antibiotique par voie systémique est utile lorsque :

- l'otite externe est sévère
- des remaniements prolifératifs importants sont présents,
- la cytologie continue à révéler la présence de granulocytes neutrophiles, alors que les traitements topiques ont été administrés correctement,
- la réponse au traitement topique est trop faible,
- les propriétaires ne parviennent pas à administrer le traitement topique,

- une réaction locale est suspectée.

2-1. Traitement antibiotique

Lorsque l'otite est fortement suppurée ainsi qu'en présence d'une pyodermite généralisée, d'une otite moyenne ou interne associée, il est possible que les remaniements soient si sévères qu'il ne soit pas envisageable d'administrer un traitement topique. Une antibiothérapie par voie générale peut alors être indiquée (17, 23). L'étude de L. Cole *et al.* de 1998 implique que cette antibiothérapie systémique est quasi indispensable dans les cas d'otite chronique externe, dans la mesure où une otite moyenne est très souvent (82.6% des cas) associée à celle-ci (8).

J.-D. Puyt indique que seules les fluoroquinolones de troisième génération atteindraient des concentrations thérapeutiques efficaces compte tenu de leur faible CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et de leur excrétion dans la sueur. Il précise que les traitements locaux devraient donc être préférés aux traitements systémiques (31).

Les molécules de première intention sont la combinaison triméthoprime-sulfamides ou les céphalosporines. En présence de *Pseudomonas aeruginosa*, l'enrofloxacin, la marbofloxacin ou la gentamycine peuvent s'avérer de meilleur choix (23). Dans l'étude de L. Cole *et al.* de 1998, la molécule de choix est la polymyxine B devant la tobramycine (8,6, 26, 29)

2-2. Traitement anti-inflammatoire

L'utilisation de corticoïdes par voie systémique est réellement justifiée, lorsque la douleur ou la sténose du conduit auditif rendent impossible tout traitement topique. C'est le cas, notamment, pour les otites prolifératives, dans lesquelles la thérapeutique anti-inflammatoire systémique permet d'obtenir un accès correct au conduit auditif, indispensable à la réalisation de soins locaux (nettoyage, injection de polypes.).

Les corticoïdes permettent également de diminuer l'exsudation, rendant ainsi le traitement local plus efficace. (21)

IV. Les staphylocoques

1. Généralité

Les staphylocoques (découverts par Louis Pasteur en 1880) sont des bactéries du genre : coques, Gram positifs, coagulase positive pour *Staphylococcus aureus*, négatif pour les autres.

Une vingtaine d'espèces de la famille des staphylocoques sont actuellement identifiées, dont l'espèce principale: *Staphylococcus aureus*, responsable de nombreuses infections humaines et animales.

Les staphylocoques sont présents sur de nombreux sites (ubiquitaires), ils sont capables de vivre :

- en saprophytes (dans l'environnement extérieur).
- en commensaux sur les épithéliums de l'homme et des animaux.

L'Homme est le réservoir de plusieurs espèces de staphylocoques.

- *Staphylococcus aureus* (ou staphylocoque doré) est retrouvé chez 15 à 30 % des individus sains (50 % si l'on compte les porteurs occasionnels) au niveau des fosses nasales et de la gorge, il est également présent (en plus faibles quantités) dans le tube digestif et au niveau du périnée, à partir du rhinopharynx, la bactérie est disséminée sur la peau (mains et visage) comme les staphylocoques résistent bien à la dessiccation, la transmission peut être non seulement directe (surtout mains du personnel soignant dans les hôpitaux), mais aussi indirecte par les objets et poussières.
- *Staphylococcus capitis* est présent au niveau du cuir chevelu.
- *Staphylococcus epidermidis* (ou *staphylococcus albus* = staphylocoque blanc) est présent sur la peau (en beaucoup plus grande quantité que *Staphylococcus aureus*). Le *Staphylococcus epidermidis* est un commensal de la peau chez pratiquement 100 % des humains ; ses propriétés lipolytiques lui permettent de prospérer dans le sébum. Il est en général inoffensif, mais il provoque d'authentiques infections comme des infections dermatologiques et des infections nasales comme des sinusites ou encore des infections urinaires. Il se rencontre parfois dans des septicémies.
- *Staphylococcus auricularis* est retrouvé autour et dans le conduit auditif externe. Les

animaux hébergent des espèces de staphylocoques qui ne sont pas tout le temps retrouvées chez l'homme: *Staphylococcus hyicus* chez les animaux de fermes et *Staphylococcus pseudintermedius* chez les chiens et les chevaux...

2. Pouvoir pathogène

L'espèce la plus pathogène de la famille des staphylocoques est *Staphylococcus aureus*. En effet, il peut être responsable de plusieurs infections, la plupart des autres espèces de staphylocoques ne sont pas pathogènes, cependant certaines espèces commensales sont dites pathogènes

opportunistes, elles peuvent entraîner des infections dans des conditions particulières:

- *S. epidermidis* peut être responsable d'infections de la peau, nasales et aussi d'endocardites et d'infections localisées chez les patients immunodéprimés.
- *Staphylococcus saprophyticus* peut être responsable d'infections urinaires.
- *Staphylococcus hyicus* et *staphylococcus pseudintermedius* peuvent être responsables d'infections diverses chez l'animal : dermite exsudative du porcelet (*S. hyicus*), furonculose du chien (*S. pseudintermedius*)...

Du point de vue épidémiologie, le caractère ubiquitaire des staphylocoques, leur donne relativement bonne résistance aux mécanismes d'épuration naturels (oxydation, dessiccation), leur grande capacité à donner des mutants résistants aux antibiotiques, expliquent le maintien et l'augmentation de la fréquence des infections staphylococciques. Ceci est particulièrement net en milieu hospitalier, où ces germes trouvent en outre un rassemblement de patients leur assurant un excellent terrain de développement, ils partagent avec les bacilles pyocyaniques le premier rôle dans les infections hospitalières.

3. Propriétés bactériologiques

3-1. Morphologie

Les staphylocoques sont des coques gram positifs arrondis, en amas réguliers ou par deux, de 0,7 à 1 µm de diamètre (les *S. blancs* sont souvent un peu plus volumineux que les *S. dorés*), immobiles, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent le plus souvent en amas dits en grappes de raisin.

3-2. Culture

Les staphylocoques poussent aisément sur les milieux usuels, donnant un trouble uniforme en milieux liquides et, sur gélose, des colonies rondes, lisses, blanches (*S. blancs* ou *S. Albus*) ou dorées (*S. dorés* ou *S. Aureus*), opaques, atteignant 2 à 3 mm de diamètre (ou un enduit confluent si l'ensemencement est massif). Ils sont catalase positifs et oxydase négatifs, aérobies - anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans gaz. Outre la couleur des colonies, qui n'est souvent pas assez tranchée, les staphylocoques potentiellement pathogènes se distinguent des commensaux par les principaux caractères suivants:

- Coagulase: *S. Aureus* + *S. Albus* -
- Désoxyribonucléase: *S. Aureus* + *S. Albus* -
- Phosphatase: *S. Aureus* + *S. Albus* -
- Fermentation du mannitol: *S. Aureus* + *S. Albus* -

Parmi les milieux sélectifs les plus utilisés on distingue : le milieu Chapman et le milieu Baird Parker. Le milieu de Chapman, par exemple, inhibe le développement de nombreux contaminants par sa teneur en NaCl (7,5 %) et permet de reconnaître les colonies de staphylocoques dorés par

la fermentation du mannitol. Le milieu de Baird et Parker contient notamment du tellurite (la réduction de ce sel par le *S. doré* donne aux colonies une coloration noire).

3-3. Caractéristiques de culture

Les cultures se développent dès 24 heures et résistent au vieillissement et à la diminution de l'activité de l'eau pendant plusieurs mois.

- **Aspect en bouillon** : trouble homogène le long du tube.
- **Aspect sur gélose ordinaire**: en aérobiose, colonies assez grandes de environ 1 mm de diamètre, rondes, régulières, bombées, lisses et brillantes : de type **Smooth**. Elles sont aussi crème ou pigmentées en jaune (suspensions de *staphylococcus aureus* si jaune-or).
- **Aspect sur gélose Baird Parker**: en aérobiose, colonies noires de 1 mm environ, (avec une zone claire de 2 mm de diamètre et un précipité dans la zone claire pour les *staphylococcus aureus*)

3-4. Caractéristiques biochimiques

L'activité métabolique des **staphylocoques** est relativement bien marquée. Ils possèdent de nombreuses enzymes capables de catalyser de nombreux substrats. Ces enzymes varient d'une espèce à une autre.

- Cependant, tous les staphylocoques ont les caractéristiques suivantes:
 - o Présence d'une catalase qui décompose l'eau oxygénée, contrairement aux streptocoques qui ne possèdent pas de catalase.
 - o Absence d'une oxydase.
 - o Fermentation du glucose sans production de gaz.
- Les caractéristiques étudiées sur les staphylocoques sont:
 - o L'utilisation de nombreux oses et osides (voir glucides) dont le lactose et le glucose.
 - o L'utilisation des nitrates (présence de nitrate-réductase).
 - o Les acides de fermentation (test VP et Test du rouge de méthyle).
 - o Et la présence de nombreuses enzymes : phosphatase alcaline (PAL), arginine dihydrolase (ADH), uréase...
 - o Recherche de la staphylocoagulase ou coagulase libre (mise en culture dans du plasma de lapin).
 - o Recherche de la coagulase liée (soit par un test d'agglutination sur lame direct, c'est la reconnaissance entre un récepteur spécifique à une molécule, le fibrinogène).
 - o Recherche de la thermonucléase (le bouillon est chauffé au bain-marie à 70 °C pendant 5 minutes puis on ensemence à l'aide d'une strie unique un milieu à base d'ADN et de bleu de toluidine).

3-5. Enzymes et toxines

a- Coagulase

C'est généralement la principale (souvent la seule) substance recherchée pour établir la nature "aureus" d'un staphylocoque. Il existe, en réalité, deux coagulases généralement associées: la coagulase liée ou clumping factor qui provoque la formation de grumeaux lorsqu'on émulsionne une culture de staphylocoques dans une goutte de plasma sanguin sur lame et la coagulase sécrétée qui provoque l'apparition d'un caillot lorsqu'on cultive le staphylocoque dans un milieu additionné de plasma (dilué à 1/4).

Ces coagulases semblent bien jouer un rôle dans la pathogénie des infections in vivo: elles permettent en effet au staphylocoque qui ne possède normalement pas de capsule, de s'en procurer une en coagulant autour de lui le plasma ou les humeurs intercellulaires.

b- Hémolysines

La plus importante est l'hémolysine alpha qui lyse, in vitro, les hématies de lapin. Elle est caractéristique des *S. dorés* d'origine humaine.

In vivo, elle détruit les membranes cellulaires, provoquant des nécroses (nécrotoxine) et peut même être létale (danger des solutions injectables contaminées par des staphylocoques !).

Les hémolysines bêta (agissant sur les hématies de mouton) et gamma (agissant sur les hématies humaines) sont inconstantes et se trouvent parfois aussi chez le *S. albus*.

c- La leucocidine de Panton-Valentine lyse les neutrophiles, les monocytes et les macrophages

d- L'entérotoxine

Sécrétée par certaines souches, joue un rôle dans 2 maladies intestinales d'origine staphylococcique ; D'abord une intoxication alimentaire due à l'accumulation de cette entérotoxine par le développement d'une souche productrice dans un aliment préparé d'avance, ayant séjourné un certain temps à une température supérieure à 10 °C, les aliments le plus souvent en cause sont les desserts à base de laitages et crèmes pâtisseries ainsi que diverses sauces: mayonnaise, etc... (Le staphylocoque tolère aussi bien d'assez fortes concentrations de sucre que de NaCl). Cette entérotoxine est thermostable, elle peut donc rester active dans un aliment réchauffé dont les staphylocoques ont été tués, elle provoque après une incubation brève: 3 à 6 heures, un état nauséux, avec vomissements éventuels et diarrhées violentes, ces troubles, souvent intenses et angoissants, disparaissent sans trace après quelques heures. C'est la plus fréquente et la plus bénigne des intoxications alimentaires d'origine bactérienne.

Par contre, l'entérite fulminante à staphylocoques présente une extrême gravité. Il s'agit du développement des staphylocoques producteurs d'entérotoxine dans l'intestin même.

Normalement, les staphylocoques de passage dans l'intestin ne peuvent s'y implanter ni s'y

multiplier, étant inhibés par la flore commensale normale. Mais si celle-ci est éliminée par des antibiotiques auxquels le staphylocoque résiste, cette implantation devient possible: c'est donc une complication de l'antibiothérapie, survenant principalement en milieu hospitalier, surtout chez des opérés du système digestif dont on a tenté de stériliser le contenu intestinal en vue de l'opération. Il importe dans ces cas d'obtenir un diagnostic rapide et de trouver un antibiotique auquel la souche est encore sensible.

3-6. Antigènes

La paroi des staphylocoques contient 2 antigènes principaux:

1. une protéine A vis-à-vis de laquelle tout le monde a des Ac.
2. l'acide teichoïque, à base de polyribitol chez *S. aureus* et de polyglycérol chez *S. albus*, cet acide teichoïque est très résistant au lysozyme et aux enzymes des globules blancs.(37)

4. Diagnostic biologique

4-1. Examen direct

Après coloration de Gram, les staphylocoques apparaissent comme des cocci à Gram positif. Ils peuvent être isolés, en diplocoques ou en amas. Les amas sont les plus caractéristiques du genre staphylocoque.

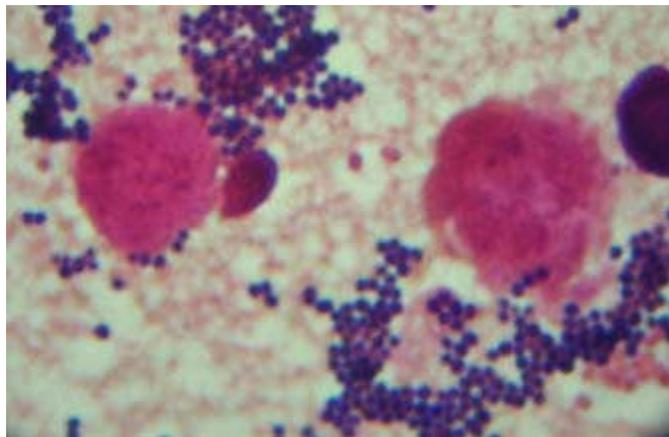


Figure 03 : Amas de staphylocoque après coloration de Gram (9)

L'examen direct du prélèvement s'il est possible donne une orientation diagnostique importante. En effet, l'association de cocci Gram positif et de polynucléaires dans un prélèvement évoque fortement une infection à staphylocoque. Cependant, le diagnostic définitif du genre et de l'espèce ne sera obtenu qu'après la culture et l'identification des souches.

4-2. Caractères cultureux

Les staphylocoques se développent rapidement à 37°C sur les milieux usuels.

La plupart des souches de *S. aureus* élaborent un pigment qui donne une couleur jaune-orangé aux colonies (à gauche).

Colonies de *S. epidermidis* (à droite).



Figure 04 : *S. aureus* à gauche, *S. epidermidis* à droite. (9)

4-3. Diagnostic de genre et d'espèce

a- Catalase

La catalase est un caractère quasi-constant chez les staphylocoques. La mise en évidence de la catalase permet de distinguer parmi les cocci à Gram positif les staphylocoques et les streptocoques.

b- Coagulase

Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*. Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma de lapin et de la souche à tester. L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°C. Le test de la coagulase permet l'identification de 99% des souches de *S. aureus* mais certaines souches ne produisent pas de coagulase. L'identification de l'espèce est dans ce cas réalisée par d'autres tests.



Figure 05 : Le test coagulase. (9)

c- Tests d'agglutination

Plusieurs tests d'agglutination détectant un ou plusieurs antigènes ou récepteurs de surface (récepteur pour le fibrinogène, protéine A, antigènes capsulaires) sont commercialisés.

En pratique, il est recommandé d'utiliser deux tests pour l'identification de *S. aureus* : la détection de la coagulase et un test d'agglutination. Toute discordance entre les deux devra conduire à une identification biochimique

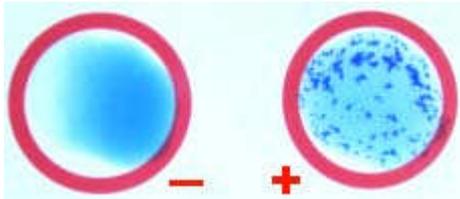


Figure 06 : test d'agglutination. (9)

d- Identification biochimique

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

Ils sont partiellement ou totalement automatisés. Ces galeries sont utilisées essentiellement pour l'identification des staphylocoques à coagulase négative.



Figure 07 : test par galeries a staphylocoques. (9)

Les staphylocoques et en particulier les staphylocoques à coagulase négative font partie de la flore naturelle de l'organisme, Ainsi, l'interprétation devra toujours tenir compte du site d'isolement de la bactérie, des signes cliniques et cytologiques d'infection (présence de polynucléaires). Il sera généralement nécessaire de répéter les prélèvements ; l'isolement répété de la même souche étant un argument en faveur d'une infection.

4-4. Sensibilité aux antibiotiques

Les staphylocoques peuvent être sensibles à divers antibiotiques mais se caractérisent par une aptitude remarquable à acquérir de multiples caractères de résistance.

Pénicilline M: oxacilline (OXA)
Aminoglycosides: Gentamicine (GM)
Tobramycine (TM)
Macrolides : Erythromycine (E)
Synergistines: Pristinamycine (PRI)
Lincosamides: Clindamycine
Fluoroquinolones : Ciprofloxacine
Glycopeptides: Vancomycine (VAN)
Rifampicine (RIF)
Acide fusidique (FA)
Fosfomycine (FOS)

Figure 08 : principaux antibiotiques à tester les staphylocoques. (9)

Un antibiogramme sera réalisé sur toutes les souches considérées comme pathogènes étant donnée la fréquence des souches multi résistantes, notamment en milieu hospitalier. Le choix de l'antibiothérapie sera guidé par l'antibiogramme et le contexte clinique. (9)

V.L'action des antibiotiques et mécanismes de la résistance des staphylocoques

1. antibiotiques et mode d'action

1-1. Définition

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne
- Activité en milieu organique
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte.

1-2. Les mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie, ils agissent par :

● Toxicité sélective au niveau de la :

- Synthèse de la paroi bactérienne
- Membrane cytoplasmique
- Synthèse des protéines
- Acides nucléiques

● **Inhibition compétitive** : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (15)

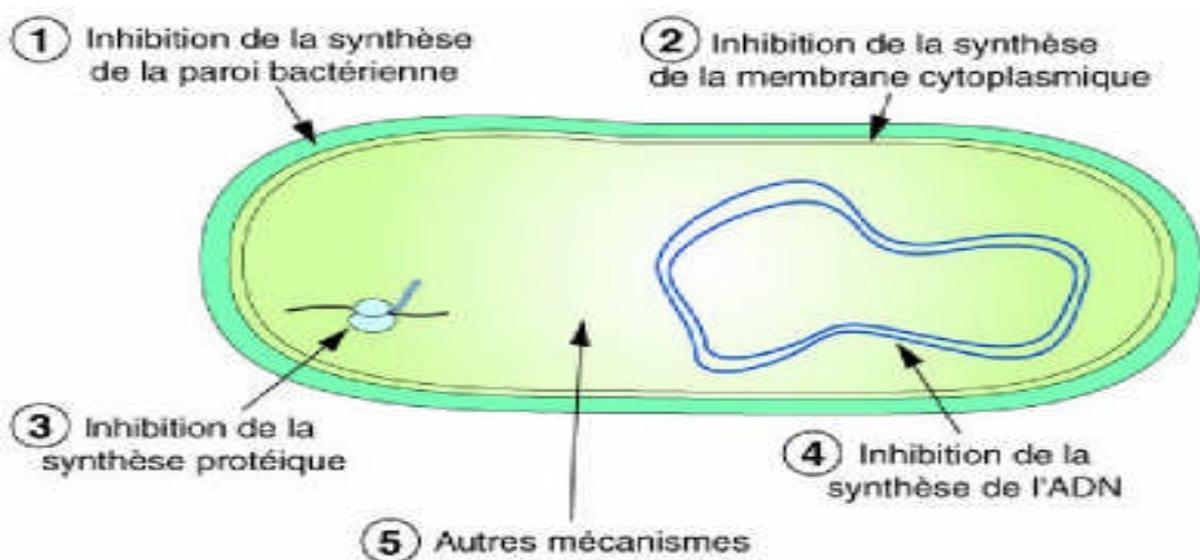


Figure 09 : mode d'action des antibiotiques
www.bacteriologie.net

Les différentes molécules d'une même famille partagent le même site d'action sur la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane), sur les synthèses protéiques ou sur la réplication de l'ADN

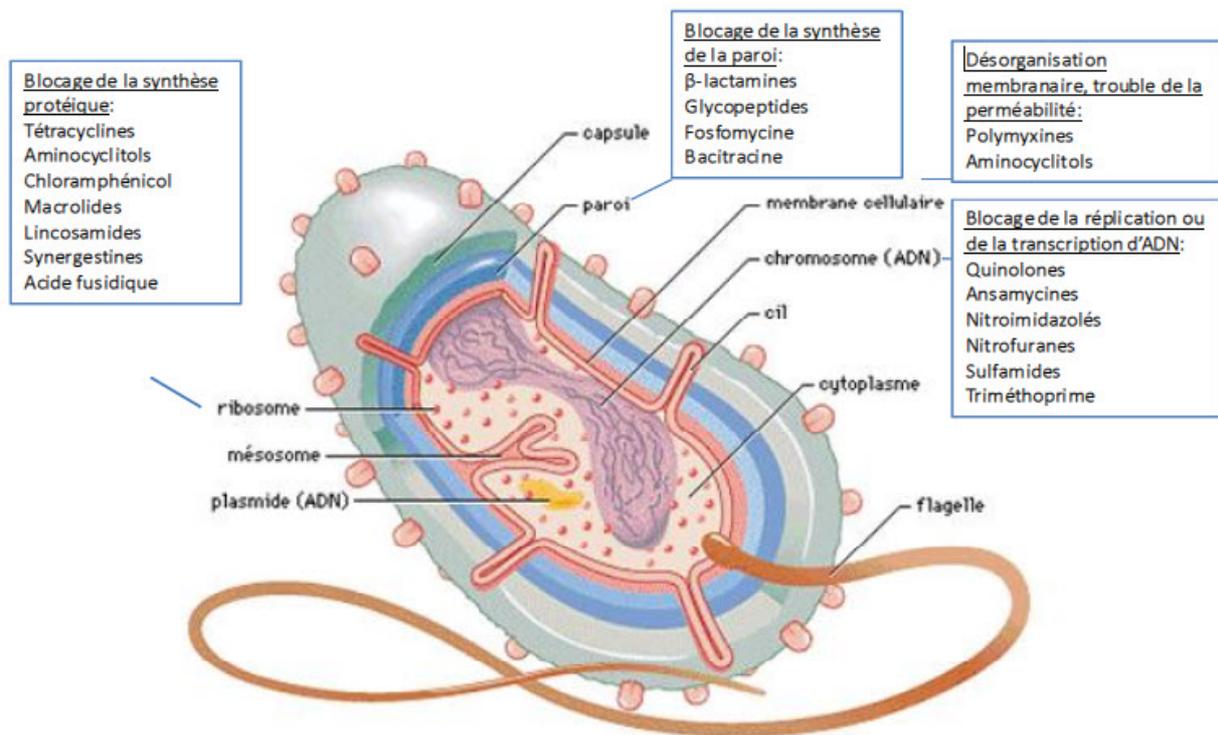


Figure 10 : Sites d'action des antibiotiques. (52)

2. Résistance des bactéries aux antibiotiques

2-1. Résistance naturelle

Caractéristique propre à toutes les souches d'une même espèce bactérienne qui définit le phénotype sauvage, exemples : entérobactéries résistent aux Pénicilline G, Klebsiella résiste aux Ampicilline et Ticarcilline, l'importance de sa connaissance est d'identification des bactéries, spectre des antibiotiques et aussi pour l'antibiothérapie probabiliste et prophylactique

2-2. Résistance acquise

Une souche bactérienne appartenant à une espèce réputée naturellement sensible est dite résistante à un antibiotique quand, suite à une modification de son capital génétique, elle tolère des concentrations d'antibiotiques nettement plus élevées que celles qui inhibent la croissance in vitro de la majorité des souches de la même espèce dite sensibles.

En d'autres termes, la CMI de l'antibiotique pour cette souche est nettement augmentée.

Pour le clinicien, une souche est sensible à un antibiotique quand la probabilité de succès thérapeutique avec cet antibiotique est élevée et résistante si la probabilité d'échec thérapeutique est forte. Les définitions bactériologiques et cliniques de la résistance acquise ne sont pas obligatoirement superposables. Si, suite à une modification génétique, la CMI est faiblement augmentée (résistance de bas niveau), un traitement avec cet antibiotique pourra se révéler efficace. (52)

3. Résistance chez les staphylocoques

Staphylococcus aureus (SA) et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) occupent une place importante en pathologie nosocomiale, ces micro-organismes présentent très souvent une résistance multiple aux antibiotiques.

3-1. Résistance aux B-lactamines

La résistance aux B-lactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes qui sont identiques pour les SA et pour les SCN : un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP.

3-2. Résistance par production de B-lactamases

Une B-lactamase est une enzyme qui hydrolyse le cycle B-lactame des pénicillines, les rendant inactives. L'existence d'une pénicillinase entraîne une résistance à la pénicilline G et aux pénicillines A (ampicilline, amoxicilline, etc.), aux carboxypénicillines (ticarcilline), et aux uréidopénicillines (pipéracilline). Ce mode de résistance est présent chez 90 % des isolats cliniques de SA

3-3. Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle: la PLP2a

Les PLP sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyltransférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédant une affinité pour les B-lactamines.

La résistance à la méticilline, qui entraîne une résistance à toutes les B-lactamines, est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (*mecA*) qui code pour la PLP2a. Cette PLP additionnelle à moins d'affinité pour les B-lactamines et en particulier pour la méticilline, Ce mécanisme est présent chez les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et chez les SCN.

La régulation du gène *mecA* est principalement sous la dépendance de deux gènes : les gènes *mecI* (répresseur du gène *mecA*) et *mecR* (anti répresseur), la résistance conférée par *mecA* peut être homogène (résistance exprimée par toutes les souches) ou hétérogène (résistance exprimée seulement par une proportion des colonies filles issues d'une colonie mère exprimant la résistance).

3-4. Autres mécanismes de résistance

Certaines souches présentent une résistance intermédiaire à la méticilline. Ces souches sont dites « borderline » et possèdent des CMI de l'oxacilline entre 4 et 16 µg/mL, Ces souches sont caractérisées par l'absence du gène *mecA* , Deux types de mécanismes peuvent être impliqués.

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

Ce mécanisme définit les souches de type modified *Staphylococcus aureus* (MODSA) présentant une résistance homogène de bas niveau à l'oxacilline (CMI < 16 µg/mL) chez des souches non productrices de B-lactamases.

Le mécanisme impliqué peut résulter de mutations au sein des gènes codant pour les PLP, conduisant à une diminution d'affinité pour les B-lactamines ou à une hyperproduction d'une de ces PLP.

b- Mécanisme enzymatique

La résistance de telles souches peut également s'expliquer par une hyperproduction de pénicillinase ou par la production d'une méticillinase, enzyme hydrolysant les B-lactamines de classe M, (oxacilline, dicloxacilline, méticilline) inductibles par la méticilline (CMI de l'oxacilline 0,5–2 µg/mL). La sensibilité de ces souches aux B-lactamines est restaurée en présence d'un inhibiteur de B-lactamases .

3-5. Résistance aux aminosides

Ces antibiotiques agissent en inhibant la synthèse d'ARN. Ils se répartissent en deux groupes chimiquement distincts : le groupe de la streptidine (comprenant la streptomycine) et le groupe de la 2-désoxystreptamine (kanamycine, gentamicine, amikacine, nétilmicine). Cette classe d'antibiotique a naturellement une action bactéricide sur les staphylocoques .

3-6. Résistance aux macrolides

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS), inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation du ribosome et du complexe ARN de transfert- peptide. Cela entraîne une terminaison réversible de l'élongation protéique.

Les macrolides et les lincosamides (lincomycine et clindamycine) n'ont qu'une activité bactériostatique sur les staphylocoques alors que les streptogramines (pristinamycine, quinupristine–dalfopristine), qui résultent de l'association de deux composés A et B agissant en synergie et possédant une activité bactéricide.

Trois mécanismes sont impliqués : une modification de la cible de l'antibiotique, un mécanisme d'efflux et une modification enzymatique de la drogue.

a- Résistance par modification de la cible de l'antibiotique

Le mécanisme repose sur l'action d'une enzyme (méthylase) réalisant la méthylation d'une adénine de la sous- unité 23s de l'ARN ribosomique, ces méthylases sont codées par les gènes *erm* dont il existe au moins 20 variants, Le support des gènes *erm* peut être chromosomique ou plasmidique.

b- Résistance par efflux

Trois gènes codant pour des systèmes d'efflux ont été décrits chez les cocci à Gram positif. Leur produit forme un transporteur protéique qui diminue l'accumulation de l'antibiotique dans la cellule.

Les gènes *msrA* et *msrB* sont responsables d'un phénotype de résistance de type MS, c'est-à-dire d'une résistance inductible vis-à-vis des macrolides dont le noyau comporte 14 et 15 carbones (C14 et C15) et au composé B des streptogramines, après induction par l'érythromycine, le gène *mef* entraîne un phénotype de résistance nommé M, caractérisé par une résistance limitée aux macrolides en C 14 et en C 15. Il est localisé sur des éléments chromosomiques transférables par conjugaison et n'a jamais

été retrouvé sur un plasmide, Les gènes *vga*, *vgaB* codent pour des protéines d'efflux du seul composé A des synergistines. Tous ces gènes sont retrouvés chez différentes espèces de SCN et chez SA.

c- Résistance par enzymes inactivatrices

Ces enzymes, qui modifient l'antibiotique lui-même, peuvent appartenir à la classe des hydrolases (gènes *vgb* et *vgbB* pour virginiamycine facteur B hydrolase), des acétyltransférases (gènes *linA* et *vat*) ou des phosphotransférases (gène *mphC*), le support de ces gènes est souvent plasmidique.

- résistance de type MSgB (macrolides et streptogramines B) : elle est inductible par l'érythromycine et touche les macrolides en C 14 ou en C 15 et les streptogramines B. Le gène responsable est *msrA* ;
- résistance aux associations synergiques (SgA+ SgB) : toutes les souches résistantes aux associations le sont au composé A (avec des CMI SgA $\geq 8 \mu\text{g/mL}$) et à ses dérivés (pristinamycine II, virginiamycine M ou dalfopristine), sans l'être obligatoirement au composé SgB. La résistance à ce type de composé rapportée chez les SA et les SCN est habituellement liée à l'accumulation de différents mécanismes tels que *vga* et *vat* et *vgb* situés sur différents plasmides, en association avec des gènes de méthylases ;
- la résistance aux lincosamides seule est médiée par le gène *linA*, rencontré chez SA et chez *S. haemolyticus*.

3-7. Résistance aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones inhibent la croissance bactérienne par arrêt de la réplication de l'ADN. Ces molécules ont une action ciblée sur les topo-isomérases, les topoisomérases regroupent les topo-isomérases de classe II, les gyrases, constituées de deux sous-unités GyrA et GyrB (codées par les gènes *gyrA* et *gyrB*) et impliquées dans le relâchement de l'ADN, et par les topoisomérases de classe IV (composées de deux sous-unités codées par les gènes *griA* et *griB*) qui entraînent un désenchevêtrement de l'ADN à la fin de la réplication.

3-8. Résistance aux glycopeptides

Le mécanisme de résistance reste à ce jour imparfaitement connu et semble être multifactoriel. Chez les SCN, le problème existe chez deux espèces, *S. haemolyticus* et *S. epidermidis*. Ces espèces affichent des CMI 50 à la teicoplanine supérieures à celles de la vancomycine .

Concernant les staphylocoques dorés intermédiaires aux glycopeptides (GISA), les données récentes traduisent l'existence de nombreuses modifications de la paroi bactérienne avec notamment une production accrue de précurseurs du peptidoglycane. Le mécanisme exact reste inconnu. (51)

Le but de notre travail consiste à évaluer l'action de quelques antibiotiques sur des staphylocoques en cas d'otite chez le chien. Pour ce faire nous avons pris un échantillon de chiens présentant une otite externe aux quels nous avons réalisé des prélèvements de cérumen. L'isolement et l'identification des espèces de staphylocoques sont les deux primordiales étapes qui ont précédé la réalisation d'antibiogrammes, technique nous renseignant sur la résistance et la sensibilité des bactéries isolées vis-à-vis de certains antibiotiques.

1. L'échantillon

Notre étude a porté sur 20 chiens ayant une otite de l'oreille externe, présents en clinique canine et en chirurgie de l'ENSV (Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire) au cours de l'année 2013/2014. Pour chaque cas nous avons noté l'espèce, le sexe et l'âge.

L'échantillon comporte 12 males et 8 femelles âgés de 3 à 72 mois.

2. Prélèvements

Des prélèvements de cérumen, bilatéraux ou unilatéraux ont été réalisés à l'aide d'écouvillons stériles puis acheminés rapidement et adéquatement au laboratoire de microbiologie (ENSV).

3. Pré enrichissement

Les échantillons sont placés dans des tubes contenant le milieu d'enrichissement (BHIB) non sélectif, puis incubés pendant 24h à 37°C.

4. Isolement des staphylocoques

Nous avons réalisé l'isolement des staphylocoques sur le milieu sélectif : milieu Chapman par la méthode des stries serrées à partir des BHIB ensemencés et incubés.

5. Examen microscopique

Après l'isolement sur milieu Chapman, nous avons procédé à une coloration de gram. L'observation au microscope nous permet d'obtenir une information rapide sur la forme et le type de bactéries présentes dans les échantillons.

6. Identification du genre staphylocoque

Pour identifier les bactéries après isolement sur milieu Chapman, nous avons effectué quelques tests biochimiques :

- Test de la coagulase
- Test de la catalase

- Test du mannitol mobilité
- Test du VP et RM
- Test de l'action de la Novobiocine et Bacitracine

6-1. La coloration de gram

Objectif: précise le type de la paroi.

Matériel utilisé: bec de benzène, anse de platine, lame, microscope optique colorants (Iugole, fuschine), alcool.

Mode opératoire : A l'aide de l'anse de platine stérile on étale l'inoculum bactérien sur la lame. On sèche la lame, Puis on passe à la coloration la coloration par le violet de gentiane pendant 1 minute, puis fixation par Iugole, La décoloration par l'alcool s'effectue pendant 30 secondes, puis on lave frottis.

La dernière étape consiste à une recoloration par le fuschine et enfin on termine par un lavage et un séchage.

Observation: par microscope optique $G \times 100$.



Figure 11 : les étapes de la coloration GRAM.

6-2. Test de la Catalase

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène selon la réaction suivante :



Matériel utilise : lame, eau oxygéné, anse de platine.

Mode opératoire : Sur une lame on dépose une quantité de l'inoculum à la quelle on rajoute 2 à 3 gouttes d' H_2O_2 .

Observation: Formation ou absence de bulles gazeuses.

Résultat: l'apparition de bulles signifie que le test est positif, la bactérie est Catalase⁺, elle possède cette enzyme.

6-3. Test de la staphylocoagulase libre

Matériel utilisé: Pipette graduée, tube stérile, plasma de lapin

Mode opératoire: Préparation d'une suspension bactérienne dans le milieu BHIB

- On prend 3ml du plasma dans le tube stérile et on ajoute 3ml de la suspension bactérienne.
- On incube le tube pendant 24h à une température 37° C.

Observation: Formation ou non d'un caillot.

Résultat: s'il y'a une coagulation, Le test est positif, La bactérie possède la coagulase.

6-4. Test du mannitol mobilité

Matériel utilisé : anse de platine, tube avec milieu semi solide (mannitol)

Mode opératoire: on ensemence les bactéries dans le milieu par pique centrale à l'aide d'une anse de platine verticalement dans le centre du milieu.

- Et on incube le tube pendant 24h à température 37 c.

Observation: Changement de couleur du rouge vers le jaune juste au niveau de la région de la pique.



Figure 12 : résultats de test mannitol mobilité pour quelques tubes.

Résultat

- Le test est positif ; les bactéries sont mannitol⁺.
- Pour la mobilité le test est négatif.

6-5. Test VP (Voges Proskauer)

Caractère recherché: La réaction de Voges Proskauer (VP) consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne formé lors de la dégradation du glucose par les bactéries.

Mode opératoire

- Ensemencer sur milieu Clark et lubs
- Incuber 24 h à température optimale puis
- Ajouter 10 gouttes d'alpha naphthol et le même volume de soude concentrée (ou de potasse)
- Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation, Attendre quelques min à 1 heure.

Résultat

Si le milieu prend la couleur

- Rouge : le test est positif : VP+
- Jaune : le test est négatif : VP-

6-6. Test RM (Red Methyl)

Caractère recherché: Mise en évidence les acides organiques formés lors de la dégradation du glucose par les bactéries.

Mode opératoire :

- Ensemencer le milieu Clark et lubs

-Incuber 24-48 h à t°C optimale. Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle. La lecture est immédiate.

Résultat :

Si le milieu prend la couleur

- Rouge: le test est positif : RM+
- Jaune: le test est négatif : RM-



Figure 13 : résultats de test RM pour quelques tubes.

6-7. Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé

Nous avons utilisé la technique par écouvillonnage.

Préparation de la dilution : diluer la solution bactérienne au 1/4 puis mettre 1 ml de la première dilution dans 9 ml d'eau physiologique.

Le milieu utilisé est la gélose Mueller-Hinton. A l'aide d'un écouvillon qu'on a trempé dans la solution diluée préparée, puis essoré, on ensemence toute la surface du milieu (3 passages à orientation décalée de 60° pour la boîte et l'écouvillon) et on laisse sécher 15 minutes.

Dépôt: on dépose des disques d'antibiotique à l'aide d'une pince stérile. L'incubation est de 18-24 heures à 37°C .les antibiotiques utilisés sont :

3 standards (Oxacilline 5µg, Gentamicine 15 µg, Erythromycine 15 UI) et 5 complémentaires (Pénicilline G 6µg, Streptomycine 10 UI, Triméthoprim 5 µg, Chloramphénicol 30 µg, GTétracycline 30 UI)

Lecture :

Pour chaque antibiotique, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle puis on détermine la catégorie clinique de la bactérie vis à vis de chaque antibiotique testé (sensible, intermédiaire, résistant), en comparant nos résultats aux valeurs internationales utilisées .

(Tableau 03)

Tableau 03 : Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (c.j. Soussy, 2013)

Antibiotiques	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
		S	R
Pénicilline G	6µg (10)	≥29	<29
Oxacilline	5µg	≥20	<20
Tétracycline	30 UI	≥ 19	<17
Chloramphénicol	30 µg	≥ 23	<23
Gentamicine	15 µg	≥ 18	<16
Triméthoprime	5 µg	≥ 20	<16
Streptomycine	10 UI	≥ 15	< 13
Erythromycine	15 UI	≥ 22	< 17
Bacitracine	130µg	≥2	<2
Novobiocine	15 µg	≥ 1	< 2

L'isolement sur 40 boîtes (20 chiens) de pétri contenant le milieu Chapman a abouti à une poussée visible de colonies uniquement sur 14 boîtes.

1. Caractères cultureux

Après examen des boîtes incubées, nous avons remarqué de nombreuses colonies de couleur blanchâtre d'aspect lisse, rondes, bombées.

Dans la majorité des boîtes nous rapportons virage de la couleur du milieu du rouge vers le jaune ce qui prouve une dégradation du mannitol par les bactéries.

2. Caractères microscopiques

La coloration de Gram nous a permis de voir des bactéries de forme cocci et colorées en violet.

Elles sont regroupées en amas ou en grappes de raisins.

Ces résultats nous ont renseignés dans un premier temps sur le genre de bactéries responsables d'otite au sein de l'échantillon étudié. Il s'agit très probablement de staphylocoques

3. Tests biochimiques

3-1. Test de la catalase

Le résultat était positif dans les 14 échantillons étudiés.

Nos bactéries sont catalase +. Ce sont des staphylocoques car les streptocoques ne possèdent pas cette enzyme.

3-2. Test de la coagulase

Après incubation des sérums de lapin, une prise de masse au fond du tube était visible dans 10 tubes soit 71,42% de nos échantillons, c'est-à-dire dans 5 cas. Ces résultats montrent que la majorité des échantillons contiennent des staphylocoques coagulase positif. Il s'agit de staphylocoques pathogènes : Des staphylocoques aureus.

3-3. Test du VP (Voges Proskauer)

40% des bactéries isolées dégradent le glucose par la voie de production d'acétoïne. Elles sont VP positifs.

3-4. Test du RM (Red Methyl)

Dans 60% des échantillons le test du RM s'est avéré positif, ils contiennent des bactéries qui utilisent la voie des acides mixtes en dégradant le glucose.

3-5. Test du mannitol mobilité

Nous avons remarqué le virage de la couleur rouge vers le jaune après incubation dans 71,42% des tubes, la majorité des bactéries responsables d'otite dans notre étude sont mannitol positif, elles dégradent le mannitol.

4. Test de la résistance à la Novobiocine et la Bacitracine

Dans tous les cas nous avons noté une résistance à la Bacitracine et une sensibilité à la Novobiocine

5. Identification des espèces

Pour identifier les espèces de staphylocoques impliqués dans ces cas d'otites étudiés nous nous sommes basés uniquement sur les tests biochimiques précédents. Les critères utilisés sont regroupés dans le tableau 05

Tableau 04: Les caractères d'identification les 3 staphylocoques étudiés (12, 36)

	S .aureus	S.epidermidis	S.intermedius
coagulase	+	-	+
Catalase	+	+	+
VP	-	+	-
RM	+	-	+
mannitol	+	-	+
Mobilité	-	-	-
novobiocine	S	S	S
bacitracine	R	R	R

D'après les critères différentiels cités dans le tableau 05, nous avons pu identifier 3 espèces:

Le Staphylocoque aureus, le Staphylocoque intermedius et le Staphylocoque epidermidis.

Résultats

Tableau 05 : classification des staphylocoques isolés selon les caractéristiques biochimiques

Echantillon	Espèce bactérienne	catalase	Coagulase	mannitol	mobile	VP	RM	Nov	Bac
01	<i>S.aureus</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
02	<i>S.aureus</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
03	<i>S. aureus</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
04	<i>S.aureus</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
05	<i>S.aureus</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
06	<i>S.intermedius</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
07	<i>S.aureus</i>	+	-	-	-	+	-	S	R
08	<i>S.epidermidis</i>	+	-	-	-	+	-	S	R
09	<i>S.epidermidis</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
10	<i>S.aureus</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
11	<i>S.aureus</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
12	<i>S.aureus</i>	+	+	+	-	-	+	S	R
13	<i>S.epidermidis</i>	+	-	-	-	+	-	S	R
14	<i>S.epidermidis</i>	+	-	-	-	+	-	S	R

Tableau 06 : Effectifs et pourcentages des staphylocoques isolés et identifiés

	S .aureus N=9(64,28%)	S.epidermidis N=4(28,59%)	S.intermedius N=1(7,14%)
coagulase	+	-	+
Catalase	+	+	+
VP	-	+	-
RM	+	-	+
mannitol	+	-	+
Mobilité	-	-	-
novobiocine	S	S	S
bacitracine	R	R	R

Les résultats montrent que 64,28 % et 28,59% des otites étaient causées respectivement par le *Staphylocoque aureus* et le *Staphylocoque intermédiaire*. le *Staphylocoque epidermidis* était impliqué uniquement dans 7,14 % des cas.

Tableau 07: Fréquences des espèces des staphylocoques isolés

Staphylocoques	Effectif	%
<i>S.aureus</i>	9	64,28
<i>S.intermedius</i>	1	7,14
<i>S.epidermidis</i>	4	28,58
Total	14	100

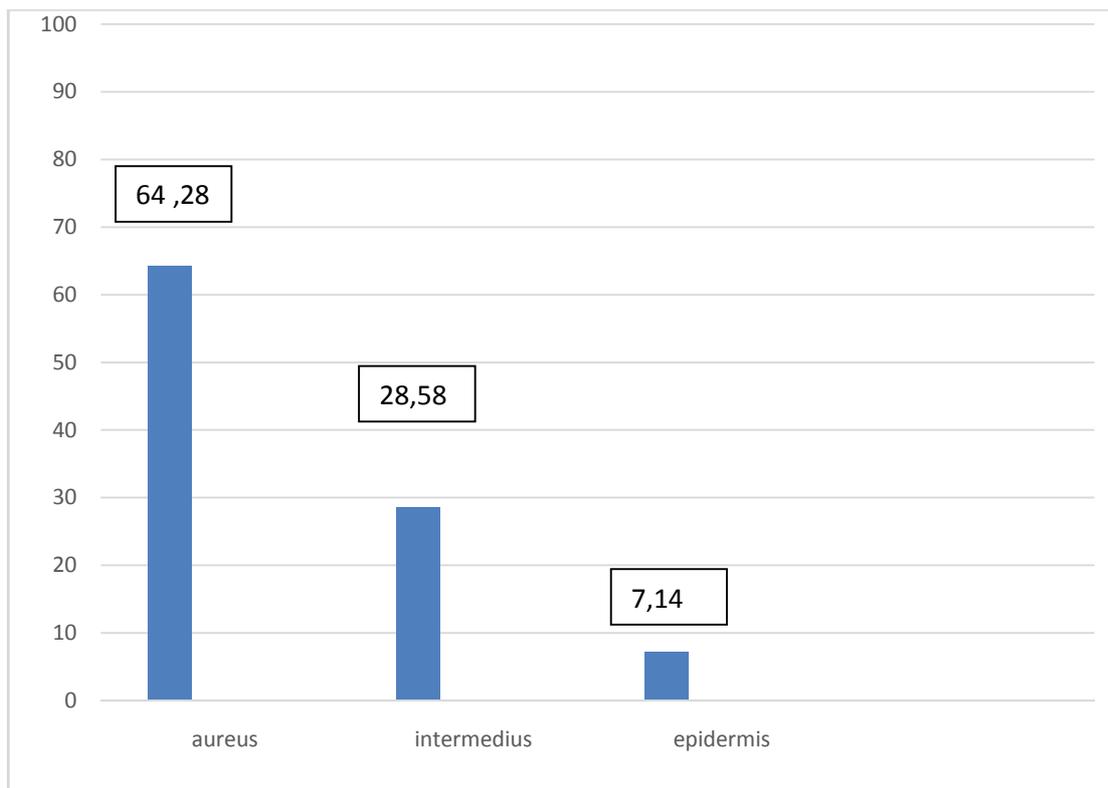


Figure 14 : pourcentage des espèces de staphylocoques impliqués dans ces cas d'otites étudiés

6. Action des antibiotiques

Nous avons réalisé l'antibiogramme de diffusion par écouvillonnage pour déceler la résistance et la sensibilité de ces espèces de staphylocoques vis-à-vis des antibiotiques suivants :

-Pénicilline G 6 μ g, Oxacilline 5 μ g, Streptomycine 10 UI, Gentamicine 15 μ g, Erythromycine 15 UI, Chloramphénicol 30 μ g, Tétracycline 30 UI, Triméthoprim 5 μ g.

Résultats

Tableau 08 : Résistance et sensibilité des staphylocoques isolés aux antibiotiques

Staphylocoques	Pénicilline	Oxacilline	Streptomycine	Gentamycine	Erythromycine	Chloramphénicol	Tétracycline	Triméthoprime
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	R	R	R	S	R	R
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	S	R	R	S	R	R
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	R	R	R	R	R	S
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	R	S	R	S	S	S
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	R	S	R	S	S	S
<u><i>S. intermedius</i></u>	R	R	R	R	R	S	R	R
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	R	R	R	S	S	R
<u><i>S. epidermidis</i></u>	R	R	S	S	R	S	S	S
<u><i>S. epidermidis</i></u>	R	R	R	S	R	S	R	R
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	R	S	R	S	R	S
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	S	R	R	S	R	S
<u><i>S. aureus</i></u>	R	R	S	R	R	S	R	R
<u><i>S. epidermidis</i></u>	R	R	S	R	R	S	R	R
<u><i>S. epidermidis</i></u>	R	R	R	S	R	S	R	S

La lecture des antibiogrammes a mis en évidence une résistance de 100% du *Staphylocoque aureus* et de *Staphylocoque epidermidis* pour la pénicilline, l'oxacilline et l'érythromycine, et une sensibilité à 100% au chloramphénicol.

Tableau 09 : taux de résistance et de sensibilité des espèces isolées aux antibiotiques

Taux de résistance et de sensibilité en % aux antibiotiques						
Antibiotiques	<i>S. aureus</i>		<i>S. intermedius</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	R	S	R	S	R	S
Penicilline	100	0	100	0	100	0
Oxacilline	100	0	100	0	100	0
Streptomycine	66,66	33,33	100	0	50	50
Gentamycine	55,55	44,44	100	0	50	50
Erythromycine	100	0	100	0	100	0
Chloramphenicol	0	100	100	0	0	100
Tetracycline	77,77	22,23	100	0	50	50
triméthoprime	55,55	44,44	0	100	50	50

R : Résistant

S : Sensible

Résultats

D'après nos résultats 50% des ces 2 staphylocoques (*aureus et epidermidis*) sont résistants à la Gentamycine et à la Triméthoprime. Par contre l'espèce *intermedius* est résistante à tous les antibiotiques utilisés sauf à la Triméthoprime.

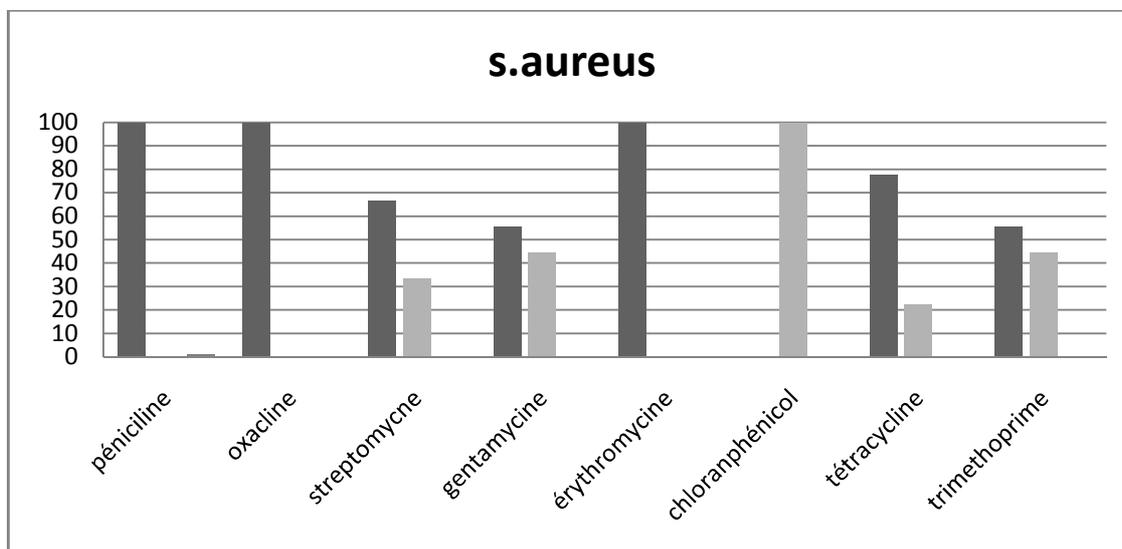


Figure 15 : les résultats de sensibilité / résistance de S.aureus

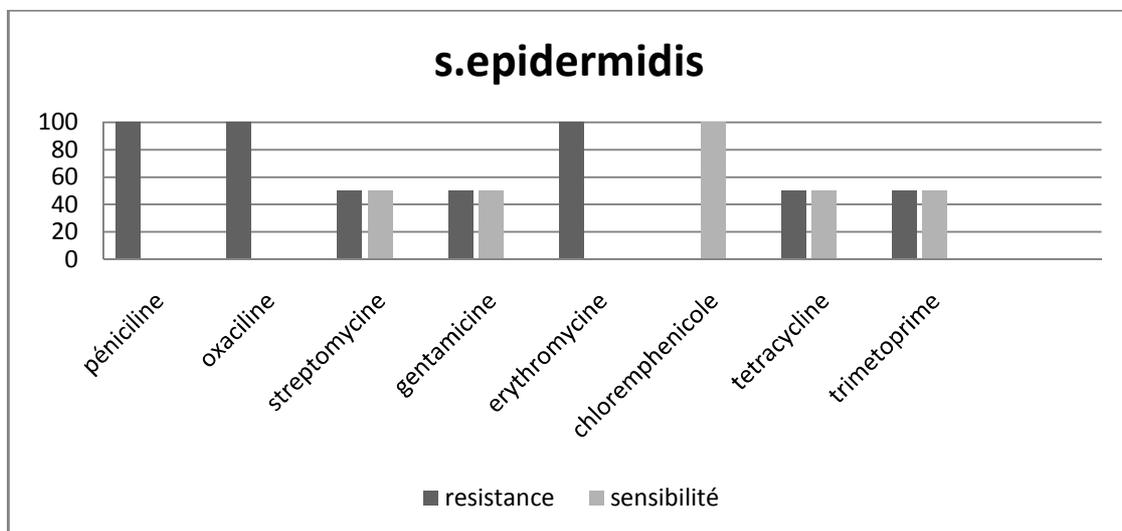


Figure 16 : les résultats de sensibilité / résistance de S.epidermidis

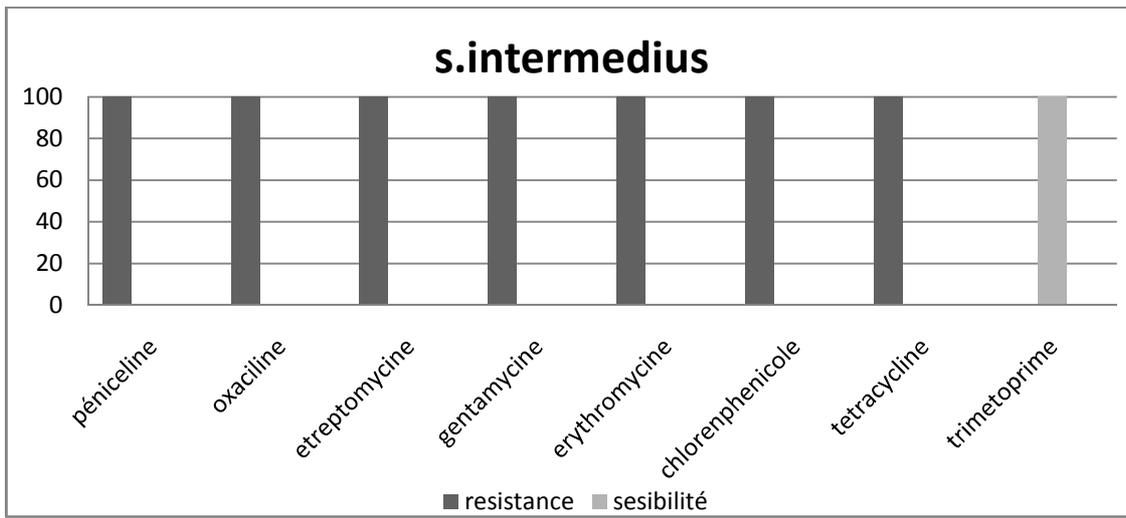


Figure 17 : les résultats de sensibilité / résistance de *S.intermedius*

DISCUSSION

La multi résistance des bactéries aux antibiotiques est en augmentation depuis plusieurs années ; ce qui pose de sérieux problèmes thérapeutiques, les staphylocoques sont parmi les micro-organismes qui causent des otites chez les animaux entre autres le chien, les récurrences de ces infections après traitement sont perçues de plus en plus.

Notre étude a pour but d'évaluer l'action de quelques antibiotiques sur les staphylocoques causant des otites externes chez un échantillon de chiens.

Les résultats ont montré une résistance de 100% des staphylocoques isolés à savoir *S.aureus*, *S.epidermidis* et *S.intermedius* aux trois antibiotiques : la pénicilline G, l'oxacilline et la tétracycline.

Pour la gentamycine la résistance est de 55,55% et de 50% respectivement pour *S.aureus* et *S.epidermidis*, ces pourcentages obtenus concordent avec ceux obtenus dans d'autres travaux.

En effet Garnier et ses collaborateurs (en 2002) rapportent que 41% des staphylocoques aureus étaient résistants à la gentamycine ainsi que El Hamzaoui (en 2009) au Maroc et son équipe de recherche ont obtenu un taux de 53,93% de staphylocoque aureus résistants à ce même antibiotique.

Nous avons constaté visiblement que les staphylocoques aureus représentent plus de la moitié soit 64,28% de l'ensemble des staphylocoques isolés à partir des échantillons étudiés, les staphylocoques epidermidis et *S.intermedius* sont présents respectivement à 28,58% et 7,14%.

On a obtenu une résistance à 100% des Staphylocoques aureus à l'oxacilline ce qui prouve indirectement leur résistance élevée à la méticilline, En effet l'oxacilline est inefficace contre les staphylocoques aureus résistants à la méticilline étant donné que ces deux antibiotiques ont le même spectre d'action, Ils sont conçus contre les bactéries possédant les pénicillinases comme les staphylocoques aureus.

Ces résultats assez limités pourront fournir des informations importantes aux cliniciens, l'aidant aux bons choix de l'antibiothérapie. Des études futures dans le même thème sont à encourager.

Références bibliographiques

1. **BARONE R.** 2000, Anatomie comparée des Mammifères domestiques. Tome second : Arthrologie et Myologie.-4ème édition.- Paris : Vigot.-984 pages.
2. **BENSIGNOR E, LEGEAY D, MEDAILLE CH.** Etude prospective sur les otites externes du chien adulte en France. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 2000, 35, 405-414. (introduction)
3. **BENSIGNOR E, PRELAUH P, HERIPRET D.** Approche médicale. Les otites externes. *Action Vet. Ed.spéciale : Otites-Novembre*, 2001, 2-6.
4. **BERNIER, L.**, 1987 La surdité chez le Chien : Le point vétérinaire, 19 4(106) : 325-3 33.
5. **CARLOTTI DN.** Otite externe du chien et du chat. *Encyclopédie vétérinaire*, Paris, 1994, dermatologie 3300, 6p.
6. **CHESTER DK.** Medical management of otitis externa. *Vet. Clin. North Am.: Small. Anim. Pract.*, 1988, 18(4), 799-812.
7. **COLE LK, KWOCKHA KW, KOWALSKI JJ, HILLIER A, HOSHAW-WOODARH SL.** Evaluation of an ear cleanser for the treatment of infectious otitis externa in dogs. *Veterinary Therapeutics*, 2003, 4(1), 12-23.
8. **COLE LK, KWOCKHA KW, KOWALSKI JJ, HILLIER A.** Microbial Eora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. *JAVMA*, 1998, 212(4), 534-538.
9. **Cours préparé par Isabelle Verdier, Gérard Lina, Yves Gillet et François Vandenesch** , Centre National de Référence des Staphylocoques, INSERM E0230, Faculté de Médecine Laennec, Lyon(<http://www.microbes-edu.org/etudiant/staph.html>)
10. **DEGUEURCE C.** L'oreille. Polycopié d'enseignement d'anatomie, 2002, 1-18.
11. **DN Carlotti (1994)** Otite externe du chien et du chat.-Paris : Encyclopédie vétérinaire.-6p
12. **FICHE TECHNIQUE : staphylococcus intermedius**, Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne le 30 Octobre 1973 et enregistrée sous le n° 8-543
13. **FLANDROIS**, 1997. Bactériologie médicale, collection Azay, Presses universitaires de Lyon, pages 309.
14. **GHUBASH R, MARSELLA R, KUNKLE G.** Evaluation of adrenal function in small- breed dogs receiving otic glucocorticoids. *Veterinary Dermatology*, 2004, 15, 363-368.
15. **GINEL PJ, LUCENA R, RODRIGUEZ JC, ORTEGA J.** A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. *Veterinary Dermatology*, 2002, 13(3), 151-156.

16. **GRIFFIN CE.** Otitis treatment tips. 4th World Congress of Veterinary Dermatology, San Francisco, USA. 2000, Proceedings: 89-96.
17. **GUAGUERE E.** L'otite externe des Carnivores. *Action Vet.*, 1994, n°1296, 25-30.
18. **J.C. QUINCAMPOIX, J.L. MAINARDI,** 2001 , Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif 10 : 267-75 page 268
19. **JEAN-LUC CADORE, DIDIER FAU, MENA MIDOUN, GENEVIEVE MARIGNAC, CHRISTINE PROST, FRANÇOISE ISE DELISLE, PATRICK DEVAUCHELLE,**2000, Otites des carnivores domestiques
20. **JOALLAND G.** Otologie. Une discipline d'avenir. *Action Vet. Ed.spéciale : Otites- Novembre,* 2001, 12-13. (introduction)
21. **KISS G, RADVANYI S, SZIGETI G, LUKATS B, NAGY G.** New combination for the therapy of canine otitis externa. II. Efficacy in vitro and in vivo. *J. Small Anim. Pract.*, 1997, 38(2), 57-60.
22. **KISS G, RADVANYI S, SZIGETI G.** New combination for the therapy of canine otitis externa. I. Microbiology of otitis externa. *J. SmallAnim. Pract.*, 1997, 38(2), 51-56.
23. **LITTLE C.** Medical treatment of otitis externa in the dog and cat. *In Practice,* 1996, 18(2), 66-69.
24. **LLOYD DH, LAMPORT AI, GATTO H, REME C.** Potency of two ear cleansers in vitro against *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia pachydermatis*.
25. **MARIGNAC G.** Atlas des otites chez les carnivores domestiques. Paris : MED'COM Editions, 2000, 118p.
26. **MARIGNAC G.** Vade-Mecum de Dermatologie Vétérinaire. Paris : MED'COM Editions, 1998, 145p.
27. **NUTTALL T, COLE LK.** Ear cleaning : the UK and US perspective. *Veterinary Dermatology,* 2004, 15(2), 127-136.
28. **PAVAUX C.,** 1987 Ostéologie comparative des animaux domestiques.-Toulouse : ENVT. - 284p
29. **PELLERIN JL.** L'apport du laboratoire de bactériologie dans le diagnostic et le traitement des pyodermites et des otites suppurées des carnivores domestiques. *Point Vet.*, 1995, 26(164), 743-754.
30. **PETIT C.,** 1997. Le bon choix d'un anti-infectieux chez les carnivores, *Revue de Médecine Vétérinaire,* **148,** 677-688.
31. **PUYT J.** Traitement antibiotique dans le cas d'une otite récidivante. *Point Vet.*, 2002, 33(222), 72.
32. **SCHORDERET M. et al.** Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. 2^{ième} ed. Paris/Genève : Frison-Roche/Slakine, 1992, 932p.

- 33. STOUT-GRAHAM M, KAINER RA, WHALEN LR, MACY DW.** Morphologic measurements of the external horizontal ear canal of dogs. Am. J. Vet. Res., 1990, 51(7), 990-994.
- 34. THESE, RAMSEYER Jérémie,** 11 janvier 2010, Guide d'Antibiothérapie Raisonnée des Infections Bactériennes du Chien, l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
- 35. TOME SECOND.** Anatomie comparée des Mammifères domestiques.: Arthrologie et Myologie.-4ème édition.- Paris : Vigot.-984 pages.
- 36. www.vetbact.org**
- 37. www.wikipédia.com « anonyme »**

Résumé

Les staphylocoques sont parmi les bactéries dont la résistance aux antibiotiques pose un problème de traitement. Notre étude consiste à évaluer l'action de certains antibiotiques sur les staphylocoques responsables d'otites externes chez le chien. Nos résultats ont montré une forte résistance des *S.aureus*, *S.epidermidis* et *S.intermedius* à la pénicilline G et à l'oxacilline avec une fréquence de 100%. La sensibilité est de 50% pour la gentamycine et la triméthoprime uniquement pour les *S.aureus* et *S.intermedius*. Par ailleurs ces espèces présentent une sensibilité de 100% au chloramphénicol.

Mots clés : staphylocoques –Antibiotiques-otites.

Abstract

The staphylococci are among the bacteria of which the resistance to the antibiotics pose a problem of treatment. Our survey consists in valuing the action of some antibiotics on the staphylococci responsible for external otitis among the dog. Our results showed a strong resistance of the *S.aureus*, *S.epidermidis* and *S.intermedius* to the G penicillin G and to the oxacilline with a frequency of 100%. The sensitivity is solely of 50% for the gentamycine and the trimethoprim for the *S.aureus* and *S.intermedius*. Otherwise these species present a sensitivity of 100% to the chloramphenicol.

Key words: staphylococci , Antibiotiques-otitis.

الخلاصة

بكتيريا المكورات العنقودية المسؤولة عن التهاب الأذن عند الكلاب هي من بين البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية. دراستنا هي تقييم تأثير بعض المضادات الحيوية على هذه البكتيريا، أظهرت نتائجنا مقاومة قوية من بكتيريا اوريوس و انترمديوس و ابيدارميديس للبنيسيلين ج و الاوكساسلين بنسبة 100/100 و 100/50 للجنتامسين و التريمثوبريم فقط للاوريوس و الانترمديوس علاوة على ذلك هذه البكتيريا حساسة بنسبة 100/100 للكورامفينكول

الكلمات المفتاحية : بكتيريا المكورات العنقودية , المضادات الحيوية , التهاب الأذن