

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences vétérinaires
Mémoire de Master

THEME

Etude de la Sensibilité aux antibiotiques des
***Staphylocoques* isolés dans un abattoir avicole**
d'Alger

Présenté par :
Mme. SAKHRAOUI Hadjer

Soutenu publiquement, le 15 /09/2022, devant le jury :

- Président :	Mr GOUCEM.R	Professeur à l'ENSV
- Promotrice :	Mme BOUAYAD. L	Professeure à l'ENSV
- Examinatrice :	Mme BOUHAMED. R	Maitre de conférences B à l'ENSV

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience pour rédiger ce modeste travail.

Je remercie spécialement au fond du cœur Docteur MAATALAH Asma pour m'avoir idée à l'élaboration de ce travail, pour ces conseils et sa gentillesse.

A ma chère Mme BOUAYAD L pour d'avoir bien voulu accepter d'être ma promotrice et me guider et m'orienter vers le bon chemin.

A doctorante BOUCENAFI H, que j'ai le plaisir de partager ma partie expérimentale avec elle et d'avoir l'expérience et la confiance à mes résultats.

A Mme Louisa la responsable du laboratoire d'HIDAOU Pour sa gentillesse et disponibilité.

A docteur DJEZZAR Pour sa générosité et son soutien pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier les membres de jury :

Mr. GOUSSEM R qui m'a fait l'honneur de présider le jury.

Mme BOUHAMED qui m'a fait l'honneur de juger mon travail.

Je présente aussi tous mes remerciements à toute ma famille et mes amis.

Mes remerciements s'étendent également à tous mes enseignants durant les années d'étude.

Mes remerciements vont enfin à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces :

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

A la mémoire de mes défunts :

Mon grand-père SAID et ma grande mère ZOUBA

Mes chers oncles Yazid et Iekhmissi et Dada Mohamed

Mon beau père SALEH et Ma belle-mère Fatima Zohra

Qui nous avons quitté tôt, et que j'ai aurait bien aimé vivre ce moment avec eux. Je vous aime fort.

A mon très cher père pour son encouragement, son soutien surtout pour son amour

A ma très chère mère qui m'a donné toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

A mon mari, qui est mon support dans ma vie qui m'a appris m'a supporté et m'a dirigé vers la gloire pour son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

A mes adorables frères Mohamed et Rabeh et sœurs Hanane et sa fille Shahd

Et surtout ma petite sœur Meriem qui été la main droite pour moi.

A mes enfants princes Younes et Aoues qui m'ont donné la force de continuer et combattre jusqu'à la fin, qui ont été toujours la source de ma force pour affronter les déférents obstacles.

A ma meilleure collègue MAHNENE Amira pour son soutien et encouragement.

Quoi que je fasse ou que je dise je ne me saurais point vous remercier comme il se doit ma famille.

Déclaration sur l'honneur

Je soussignée madame **SAKHRAOUI Hadjer** déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'S. Khraoui', written in a cursive style.

Tables des matières

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction.....	1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : *Staphylocoques*

I.1. Généralité.....	2
I.2. Taxonomie et classification	2
I.3. Caractères généraux.....	3
I. 3.1 Caractères morphologiques	3
I.3.2 Caractères biochimiques	5
I. 3.3 Caractères Hémolytiques.....	7
I.4. Ecologie et habitat.....	7
I.5. Pouvoir pathogènes.....	9
I.6. Méthodes d'isolements et identification	10
I.6.1. Milieux d'isolement et Caractères cultureux.....	10
I. 6.1 .1. Milieux non sélectifs	10
I. 6.1.2. Milieux sélectifs	11
I. 6.2. Méthodes d'identification	12
I.6.2.1. Méthodes phénotypiques.....	12

I .6.2.2. Méthodes génotypiques.....	12
--------------------------------------	----

Chapitre II : ANTIBIOTIQUES :

II.1. Définition.....	13
II.2. Type des antibiotiques.....	13
II.2.1. Origine naturelle.....	13
II.2.2. Origine synthétique.....	13
II.3. Mode d'action des ATB.....	13
II.3.1. Bactéricide.....	13
II.3.2. Bactériostatique.....	14
II.4. Spectre d'action des ATB.....	15
II.4.1. Antibiotiques à spectre étroit.....	15
II.4.2. Antibiotiques à spectre large.....	15
II.5. Mécanisme d'action des ATB.....	15
II-1-5-1. Action Sur la paroi bactérienne.....	15
II.1.5.2. Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique.....	16
II.1.5.3 : Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléique.....	16
II.1.5.4. Antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques.....	16

Chapitre III : RESISTANCE DES STAPHYLOCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES :

III.1. Introduction.....	18
III.2. Sensibilité des <i>Staphylocoques</i> aux antibiotiques.....	18
III.3. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des <i>Staphylocoques</i>	18
III.4. Types de résistance aux antibiotiques.....	19
III.4.1. Résistance naturelle.....	19
III.4. 2. Résistance acquise.....	20

III.4.2.1. Acquisition par mutation	20
III.4. 2.2. Acquisition par transfert horizontal.....	20
III.5. Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	21
III.5.1. Inactivation de l'antibiotique par une enzyme bactérienne	21
III.5. 2. Diminution de la quantité d'antibiotique atteignant la cible	21
III.5. 3. Modification de la cible.....	21
III. 6. Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques	22
III.6.1. Mauvais usage des antibiotiques dans les pays en développement.....	22
III.6.2. Dissémination des bactéries résistantes.....	23
III.6.3. Usage des antibiotiques chez les animaux	23
III.6. 4. Pression de sélection exercée par les antimicrobiens.....	24

Deuxième partie : partie expérimentale

I. Objectifs de l'étude	25
II. Matériels et Méthodes.....	26
II.1. Matériels	26
II.1.1. Lieu et période de l'étude	26
II.1.2. Matériels de laboratoire, milieux de culture et réactifs	26
II.1.2.3. Disques d'antibiotique	26
II.2. Méthodes	27
II.2.1. Caractérisation phénotypique de résistance aux antibiotiques	27
II.2.2. Préparation de milieu de culture	27

II.2.3. Préparation de l'inoculum	28
II.2.4. Ensemencement des boites	29
II.2.5. Application des disques d'antibiotiques	29
II.2.6. Lecture.....	31
III. Résultats et discussion	33
III.1. Résultats de l'antibiogramme	33
III.2. Pourcentage de résistance et sensibilité des <i>Staphylocoques</i> aux ATB.....	36
Conclusion et recommandations	39
Références bibliographiques	40

Liste des abréviations :

ADH : Arginine Dihydrolase.

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATB : Antibiotique.

C ° : degré Celsius.

ENSV : Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire.

HIDAOA : Hygiène et Industrie des Denrées alimentaire d'Origine Animale.

Iso : Organisation internationale de normalisation.

µg : microgramme.

ml : millilitre.

OMS : Organisation mondiale de santé.

PCR : polymerase Chain reaction ; l'amplification en chaîne par polymérase.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SARM : *S. aureus* résistant à la méthicilline.

Spp : abréviation signifiant plusieurs espèces.

PCR : polymerase Chain reaction ; l'amplification en chaîne par polymérase

SCN : les *Staphylocoques* à coagulase négative.

SCP : les *Staphylocoques* à coagulase positive.

TSE : Typtonne sel eau.

UI : Unité Internationale

Liste des tableaux :

Tableau 1 : taxonomie de *Staphylococcus aureus* (**Prescott et al, 2010**).

Tableau 2 : morphologie des colonies des espèces de *Staphylocoques* isolés chez l'animal et l'homme (**Brun et al.,2007**).

Tableau 3 : principaux caractères biochimiques des SCP (**Kloos et Bannerman,1999**).

Tableau 4 : Antibiotiques bactériostatiques et bactéricides (**Le Loir et al., 2010**).

Tableau 5 : Antibiotiques testés et limites critiques d'interprétation.

Tableau 6 : Diamètres d'inhibition obtenus et classification de la sensibilité des isolats.

Tableau 7 : Pourcentage de sensibilité et de résistance aux antibiotiques des isolats.

Liste des figures :

Figure 1 : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000) (**Anonyme, 2022**).

Figure 2 : Cellule bactérienne et modes d'action des antibiotiques (**Pascal ,2014**).

Figure 3 : Différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques (**Pascal, 2014**).

Figure 4 : Préparation de milieu de culture (MH) (**Photos personnelle**).

Figure 5 : Application des disques d'ATB et incubation des boites de pétri

(Photos personnelles).

Figure 6 : Lecture de résultat à l'aide d'un pied à coulisse (**Photos personnelles**).

Figure7 : Résultat de l'antibiogramme de la souche de référence ATCC 25923

(Photos personnelles).

Figure 8 : Pourcentage de résistance et sensibilité des isolats aux ATB.

Figure 9 : Pourcentage des isolats multi résistants aux ATB.

Résumé :

L'étude de la sensibilité des isolats de *Staphylocoques* isolés à partir des carcasses de volailles, est réalisée pour évaluer les éventuelles apparitions de nouvelles résistances aux antibiotiques au sein du genre *Staphylococcus spp* isolé dans les abattoirs avicoles.

27 isolats de *Staphylococcus spp* ont été soumis à un test d'antibiogramme avec une gamme d'antibiotiques (9 ATB) de différentes familles par l'utilisation de la méthode standard recommandée par le CLSI. Les résultats ont révélé que 100% des échantillons étaient sensibles à Gentamicine, Rifampicine, Sulfonamides et Chloramphénicol contre 100% de résistance à la tétracycline et au cotrimoxazole.

Il a été observé des résistances multiples de certains isolats à plusieurs familles d'antibiotiques

Mot clés : *Staphylocoque*, Volailles, Antibiotique, Sensibilité, Résistance.

Abstract

The study of the susceptibility of *Staphylococcal* isolates isolated from poultry carcasses, is carried out to evaluate the possible appearance of new antibiotic resistances with in the genus *Staphylococcus spp* isolated in poultry slaughterhouses.

27 isolates of *Staphylococcus spp* were tested with a range of antibiotics (8 TBAs) from different families using the standard method recommended by the CLSI. The results revealed that 100% of the samples were sensitive to Gentamicin, Rifampicin, Sulphonamides and Chloramphenicol against 100% resistance to Tetracycline and Cotrimoxazole.

Multiple resistance of some isolates to several families of antibiotics has been observed.

Key words : *Staphylococcus*, Poultry, Antibiotic, Sensitivity, Resistance.

ملخص

أجرى دراسة حساسية *Staphylococcus* لعائلات *Staphylococcus* العسوتية في جثث الذواج نخقوى انظهر

انحتم تقاويت جذدة نهضادات انخيت داخم جس *Staphylococcus spp* انعسول في

يسانخ اندواج.

حتى إخضاع 72 عسنت *Staphylococcus spp* الخبار يضاد حى بذي

انضادات انخيت (9 ATB) في عائلت يخخهفت باسخخذاو انطرقت انقاست

يىم به في قيم CLSI. أظهرت انخائج 0.11% في انغاث كاج حساست

نهجخايس و انرفايس و انسهفئايداث وانكهيرايفوكىل يقابم

يقاويت 0.11% نهخخراسك و انكىجرنكسازول.

نىحظ حعدد اتقاويت نبعض انعسالت نهعدذ في عائلت انضادات انخيت. انكهات انفخايت: انكىراث انخيت، اندواج، انضادات انخيت، انحساست، اتقاويت

Introduction :

Les infections sont les maladies les plus courantes qui touchent les humains et les animaux. Elles sont causées par des microorganismes qui se trouvent un peu partout dans l'air, les plantes, les végétaux, le sol, l'eau, la nourriture et les animaux. Ils sont également présents sur et dans nos corps **(Faucher, 2014)**.

Parmi les microorganismes le plus incriminé dans les infections, Le *Staphylocoque* est une source constante d'infections, parfois mortelles qui accompagne l'homme au quotidien. Cette bactérie est un habitant commensale la peau et des muqueuses de l'Homme et des animaux à sang chaud **(Le Loir et al., 2010)**. Cette bactérie occupe une place privilégiée, son pouvoir pathogène, son caractère ubiquiste et l'absence d'exigences nutritionnelles font d'elle un exemple d'adaptation à l'environnement **(Faucher, 2014)**.

Les infections de *Staphylocoque* sont devenues de plus en plus difficiles à traiter à cause de l'apparition de la résistance aux antibiotiques telle que la méticilline (SARM) et s'étend à la résistance envers la majorité des bêta-lactamines. La vancomycine est considérée comme l'une des dernières lignes de défense **(Sulaiman, 2016)**.

Ce travail s'intéresse à l'évaluation de la sensibilité et l'étude de profil de résistance aux antibiotiques des différents isolats de *Staphylocoques* obtenues à partir des carcasses des volailles dans un abattoir avicole.

Il est scindé en deux parties :

_une partie bibliographique contenant la description du genre *Staphylocoque*, sa résistance et sensibilité à différents antibiotiques.

_une partie expérimentale visant à l'étude de sensibilité des isolats de *Staphylocoques* aux antibiotiques.

Première partie :

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : *Staphylocoques*

I.1. Généralité :

Les *Staphylocoques* sont des coques à gram positif, immobiles, non capsulés, non sporulés, aéro-anaérobies, leur pH optimal de croissance est neutre ou alcalin (entre 6 et 9) et la température optimale est entre 15 et 45. Ils résistent bien à la dessiccation pendant plusieurs mois **(Cristian et al., 2015)**.

Les *Staphylocoques* se retrouvent en amas sous la forme de grappes de raisins et dans de rares cas : isolés, en paires (diplocoques), en tétrades, ou en chaînettes (3 à 4 cellules). Les amas sont particulièrement nets dans des préparations faites à partir de cultures sur milieux solides **(Götz, et al.,2006)**.

Le genre *Staphylocoque* est actuellement composé de cinquante espèces et sous-espèces.

Staphylococcus aureus est la plus connue des espèces, il est fréquemment la cause d'infections et toxi-infection variés chez l'homme **(J._L. Pellerin et al. ,2010)**.

I.2. Taxonomie et classification :

Staphylocoque fait partie de l'ordre des Cocci Gram positif, de la famille des *Micrococaceae* qui est Composée de 5 genres : *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Planococcus* (rencontré en bactériologie marine), *Stomatococcus*, et *Leuconostoc* **(Djedji, 2002)**.

Selon la 9ème édition du Bergey's Manual, les *Staphylocoques* sont Classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, l'introduction de techniques génomiques en 1976 a permis la vérification de certaines classifications tout en engendrant de nombreuses modifications, amenant progressivement à la taxonomie actuelle **(Hill, 1981) (Tableau I)**.

Tableau 1 : Taxonomie de *Staphylococcus spp* (Prescott et al., 2010).

Règne	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylocoques</i>

Il existe 2 groupes de *Staphylocoques* : les *Staphylocoques* à coagulase négative (SCN) (*S. simulans*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, *S. epidermidis* Etc) et les *Staphylocoques* à coagulase positive (SCP) : (*S. aureus*, *S. delphini*, *S. Pseudintermedius*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lutrae*, *S. schleiferi* etc.) (Fomba, 2006).

En tenant compte que *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus* sont les espèces les plus essentiels et souvent impliqués en pathologie humaine et animales, par contre *S. delphini*, *S. schleiferi* et *S. pseudintermedius* sont moins isolés (J._L. Pellerin et al,2010).

Parmi ces nombreuses espèces et sous espèces, seules dix-huit espèces ont été retrouvés chez l'homme et la majorité sont retrouvés que chez l'animal dont les *Staphylocoques* à coagulase négative (SCN) sont non dangereux et moins pathogènes que les *Staphylocoques* à coagulase positive (SCP) (J._L. Pellerin et al,2010).

I.3. Caractères généraux :

I. 3.1. Caractères morphologiques :

Au microscope électronique (Figure 1) : les *Staphylocoques* apparaissent après coloration de Gram sous forme de Cocci gram+ 0,5a1mm de diamètre, isolés en diplocoques, en courtes chainettes ou en amas (Tableau 2) (Brun et al.,2007).

Tableau 2 : Morphologie des colonies des espèces de *Staphylocoques* (SCP) isolées chez L'animal et l'homme (**Brun et al.,2007**).

SCP	Morphologie
<i>S. aureus</i>	Colonies de 6 à 8 mm, lisses, légèrement convexes, translucides, bords réguliers dentelés, pigment jaune a jaune orange, la plupart sont homolytiques (alpha -hémolysine) et se lissent rapidement, certaines souches produisent des colonies naines.
<i>S. Schleiferi</i>	Colonies de 3 à 5 mm lisses, brillantes, légèrement convexes, à bord réguliers, non pigmentées (gris, blancs).
<i>S. Delphini</i>	Colonies de 5 à 7mm, circulaire, légèrement convexes, lisses, brillantes, opaque a translucide après incubation prolongé, non pigmentées.
<i>S. Hyicus</i>	Colonies de 3 à 5mm légèrement convexe, opaque, luisantes, non pigmentées
<i>S. intermeduis</i>	Colonies de 5 à 6,5mm, légèrement convexes, bords réguliers, opaques, brillantes, habituellement non pigmentées.
<i>S. Lutrae</i>	Colonies de 3,5 à 4,5 mm, circulaire, légèrement convexes, lisses, brillantes, opaques, non pigmentées.

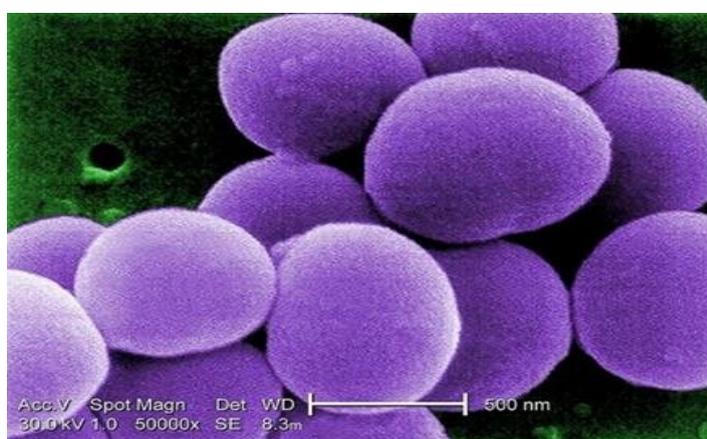


Figure 1 : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000) (**Anonyme, 2022**).

I .3.2 Caractères biochimiques :

De nombreuses études ont permis de dresser des profils métaboliques pour la plupart des espèces de *Staphylocoques*, dont les principaux caractères biochimiques sont : la production de la catalase, la capacité à métaboliser les sucres et la production d'arginine d'hydrolase (ADH) (Le Loir et al. ,2010).

Les principaux caractères biochimiques des *Staphylocoques* sont résumés dans le **tableau 3** :

Tableau 3 : Principaux caractères biochimiques des SCP (Kloos et Bannerman,1999)

Caractères	<i>S. aureus</i>	<i>S. Delphini</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. intermeduis</i>	<i>S. lutrae</i>	<i>S. schleiferi</i>
Staphylocoagulase	+	+	d	+	+	-
Clumping factor	+	-	-	d	-	+
Thermonucléase	+	-	+	+	()	+
Hémolyse	+	+	-	d	+	(+)
Catalase	+	+	+	+	+	+
Oxydase modifié	-	-	-	-	-	-
Phosphatase alcaline	+	+	+	+	+	+
Pyrrolidonyl arylamidase	-	ND	-	+	ND	+
Ornithine décarboxylase	-	ND	-	-	ND	-
Uréase	d	+	d	+	+	-
Glucosidase	+	ND	d	d	ND	-
B glucorinidase	-	ND	+	-	ND	-
B galactosidase	-	ND	-	+	+	(+)
Arginine dihydrolase	+	+	+	d	-	+
Production d'acétoïne	+	-	-	-	-	+
Réduction du nitrate	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'esculine	-	ND	-	-	ND	-
Résistance à la novobiocine	-	-	-	-	-	-
Production d'acide en anaérobie à partir de :						
D-Tréhalose	+	-	+	+	+	d
D-Mannitol	+	(+)	-	(d)	d	-

D-Mannose	+	+	+	+	+	+
D-Turanose	+	ND	-	d	ND	-
D-Xylose	-	-	-	-	+	-
D-Cellobiose	-	+	-	-	ND	-
L-Arabinose	-	+	-	-	ND	-
Maltose	+	+	-	()	+	-
Saccharose	+	+	+	+	ND	-
N-acétylglucosamines	+	ND	+	+	ND	(+)

Symboles : + : concerne 90 % ou plus des souches ; - :90% des souches sont négatives ; d :11a 89 % des souches sont positives ; ND : non déterminé ; () indique une réaction retardée. Adapté de **(Kloos et Bannerman,1999 ; Kloos et schleifer,1986 ; SCHLEIFER 1986)**.

Caractères distinctifs des différentes espèces de *Staphylocoques* à coagulase positifs :

A) Staphylocoagulase libre :

C'est une coagulase libre, qui se lie à la prothrombine de l'hôte, elle provoque l'activation de cette dernière qui va transformer le fibrinogène en fibrine **(Brun et al., 2003)**.

La recherche de cette coagulase est le test essentiel qui permet de distinguer les souches pathogènes, car la staphylocoagulase joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de *Staphylocoque* (lutter contre la phagocytose et les anticorps) **(Brun et al., 2003)**.

B) ADNase Thermosbale (thermonucléase) :

C'est une endonucléase résistante aux température élevés (15 minutes à 100 C°).

Caractéristique des trois espèces : *S. intermedius*, *S. hyicus* et *S. aureus* **(Brun et al., 2003)**.

C) Phosphatase acide :

La phosphatase acide de *S. aureus* est un critère de pouvoir pathogène discuté, très utile mais pas de valeur absolue, car comme elle est présente dans des lésions caractéristiques, elle peut aussi parfois trouver sur la peau normale saine **(Le loir et al.,2010)**.

I.3.3. Caractères hémolytiques (FRENEY et al., 2007) :

L'activité hémolytique des *Staphylocoques* peut être mise en évidence sur des milieux gélosés contenant des globules rouges humains ou animaux :

A) Chez *S. aureus* :

Quatre exotoxines hémolysines ou staphylolysines (alpha, β , δ et Gamma-hémolysine) sont produites. L'hémolysine Alpha est produite par 95% des souches de *S. aureus*.

B) *S. Lutrae* :

Produisent une hémolyse sur sang de mouton.

C) *S. Schleiferi* :

Produisent une hémolyse totale sur sang de mouton.

D) *S. Delphini* :

Produisent une hémolyse sur du sang humain.

E) Chez *S. intermedius* :

100% des souches produisent des β , δ hémolysines.

I.4. Ecologie et habitat :

Les *Staphylocoques* sont très répandus dans la nature et occupent une variété de niches écologiques. Les espèces du genre *Staphylococcus* sont très ubiquitaires. Présentes sur la peau et les muqueuses des humains, des animaux à sang chaud, le sol, l'air et l'eau. On les retrouve surtout dans les fosses nasales et le pharynx (20 à 50% des individus), tubes digestifs, téguments. Ils sont considérés comme pathogènes opportunistes, avec un pouvoir invasif et toxigène (**Cristian et al., 2015**).

I.4.1. Chez l'homme :

50% des individus sont porteurs des différentes espèces de *Staphylocoques*. Celles-ci se retrouvent dans le nez et la gorge, sur les mains et le périnée ainsi que dans les selles

(**Bannerman et al., 2007**).

A) Peau :

De nombreuses espèces de *Staphylocoques* se retrouvent sur la peau surtout *S. aureus* et peuvent être présentes en tant que bactéries résidentes ou bien transitoires. Les bactéries résidentes sont des bactéries autochtones à l'hôte ; tandis que les bactéries transitoires sont dérivées de sources exogènes. Ces bactéries transitoires sont généralement éliminées en quelques heures ou quelques jours, à moins que les obstacles normaux de défense de l'hôte soient compromis (**Götz et al.,2006**).

B) Muqueuses :

Les *Staphylocoques* se retrouvent sur la plupart des muqueuses humaines. Toutefois, la distribution de ces espèces, sur les différentes muqueuses, varie en fonction de leurs préférences écologiques (**Bannerman et al. ,2007**).

Les muqueuses nasales sont un site majeur de colonisation, où *S. aureus* est très répandu, en particulier chez l'adulte et adhère de manière sélective aux cellules de l'épithélium nasal (**Götz, et al.,2006**).

I.4.2. Chez les animaux :

Comme chez l'homme, les *Staphylocoques* retrouvés chez les animaux ont pour habitat principal la peau et les muqueuses. *S. hyicus* est un résident des ongulés (bovins, caprins, équins...), *S. intermedius* est isolé chez nombreuses espèces.

Néanmoins, les espèces de *Staphylocoques* hébergées chez les animaux ne sont pas tout le temps retrouvées chez l'homme (**Götz et al., 2006**).

I.4.3. Dans l'environnement :

Ces bactéries ont été isolées de façon sporadique à partir d'une grande variété de sources environnementales telles que le sol, le sable de plage, l'eau de mer, l'eau douce et la surface des plantes.

Les *Staphylocoques* sont également isolés des denrées alimentaires (viande, volaille et produits laitiers), mais aussi sur les surfaces des batteries de cuisine, les ustensiles, les meubles, les vêtements, les couvertures, les tapis, les toiles, le papier-monnaie ainsi que la poussière et l'air dans les zones habitées (**Götz et al., 2006**).

I.5. Pouvoir pathogènes :

La symptomatologie clinique des infections à *Staphylococcus aureus* est liée à une série d'enzymes et de toxines extracellulaires comme les coagulase plasmatiques, les hémolysines, les leucocidines, les exfoliatives, les entérotoxines et la toxine du syndrome de choc toxique (**FRITZ et al. ,2008**).

Les infections causées par les *Staphylocoques* sont subdivisées en 2 groupes :

I.5. 1. Infections invasives suppuratives : sont des infections locales avec formation de pus (furoncles, pneumonie, impétigo bulleux) (**FRITZ et al. ,2008**).

A. Infections de la peau et des tissus :

Ce sont des infections bénignes ou sévères, Il s'agit souvent d'auto-infection à partir de la flore endogène, on distingue : anthrax, furoncle.....etc (**FRITZ et al. ,2008**).

B. Infections du tractus respiratoire :

Pneumopathie Staphylococcique : rare mais grave (fièvre, toux productive, nécrose, abcès),

S. aureus est responsable de 10% des cas de pneumopathies nosocomiales et de 1% des pneumopathies aiguës communautaire (**Brun et al.,2007**).

C. Infections du système nerveux centrale :

L'infection survient par voie hématogène ou contiguë après chirurgie ou traumatisme. On distingue : abcès du cerveau, empyème sous durale associé ou non à une ostéite crânienne et la thrombophlébite du sinus caverneux (furoncle de l'aile du nez) (**Brun et al.,2007**).

D. Infections urinaires :

Rares mais peut provoquer une infection parenchymateuse des reins (avec ou sans abcès) (**Brun et al ,2007**).

E. Infections musculaires et osseuses :

Cas des ostéomyélite aiguës, ostéomyélites chroniques, ostéomyélites sur prothèse articulaire, les arthrites septiques et les bursites (**Cunningham et al. ,1996**).

I.5. 2. Toxicoses :

Intoxication alimentaire qui surviennent après ingestion d'un aliment contaminé par les entérotoxines de *Staphylocoque*. Il y a apparition des nausées, vomissements et diarrhée quelques heures après l'ingestion (**Brun et al.,2007**).

I.6.Méthodes d'isolement et identification :

I.6.1. Milieux d'isolement et caractères cultureux :

I.6.1.1. Milieux non sélectifs :

Les *Staphylocoques* peuvent pousser sur des géloses ordinaires non sélectives comme la gélose nutritive, gélose tryptase soja, milieu gélosé non sélectif enrichi de sang et gélose cœur cerveau (**Brun et al.,2007**).

La plupart des colonies sur ces milieux ont un diamètre de 1 à 3mm après 24h et 3 à 8mm après 3j d'incubation à 35°C en aérobie. Sur gélose au sang, les colonies sont souvent beta-hémolytiques (**Brun et al.,2007**).

I.6.1.2 Milieux sélectifs :

- Gélose de Chapman (75g /l de Na Cl) qui inhibe le développement de nombreux contaminants et permet de reconnaître les colonies de *Staphylocoques* dorés par fermentation de mannitol (**Chantal, 1976**).

Les colonies observées après 24 heures d'incubation sont lisses, opaques, convexes et présentent un bord net ; la pigmentation jaune à jaune-orangée n'est pas toujours apparente (**Chantal, 1976**).

- Gélose Baird Parker, en aérobiose, les colonies sont noires de 1mm de diamètre (**Chantal, 1976**).

Baird Parker est enrichi au jaune d'œuf et au tellurite de potassium, il permet la révélation d'une part de la lécithinase par la présence d'un halo d'éclaircissement du jaune d'œuf et d'autres part la réduction du tellurite en tellure (colonies noires) (**Chantal, 1976**).

I.6.2. Méthodes d'identification :

I.6.2. 1.Méthodes phénotypiques :

Chez les *Staphylocoques* les méthodes phénotypiques reposent sur des tests de croissance ou sur des caractéristiques biochimiques à l'aide de trousse d'identification commerciale qui sont des méthodes très utilisés en routine car elles sont rapides et pas couteuses, parmi ces tests on distingue :

- **Galeries d'identification sur critères biochimiques :**

La détermination de l'espèce peut être réalisé à l'aide des galeries biochimiques d'identification miniaturisé comme les galeries API Staph ; les ID Staph 32 (qui peuvent distinguer les espèces à coagulase positives ; le Système VITEK 2 (bio Mérieux) et le Système BD Phoenix (Becton Dickision) **(Pellerin et al., 2010)**.

I.6.2. 2. Méthodes génotypiques :

Reposant sur l'ADN, elles consistent à caractériser des traits particuliers de l'ADN chromosomique, plasmidique ou ADN total de la souche à identifier.

Le but est d'analyser des paramètres du génome et détecter un polymorphisme de séquence d'ADN par des méthodes directes comme le séquençage ou indirectes avec amplification (test PCR).

Ces méthodes présentent l'avantage d'être indépendantes de l'expression de gènes spécifiques dans les conditions de culture (milieu de laboratoire), elle ne nécessite pas de culture in vitro et permettent facilement l'identification de l'espèce qui est difficilement cultivé **(Pellerin et al., 2010)**.

Chapitre II : ANTIBIOTIQUES

II.1. Définition :

Un antibiotique (ATB) est un composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse. La plupart des ATB sont des substances hémi-synthétiques issues de la modification chimique de molécules naturelles produites par des microorganismes du sol **(Turpin et Velu ,1957)**.

II.2. Types des antibiotiques :

II.2.1. Origine naturelle :

20 % proviennent de champignon, 70 % proviennent d'actinomycètes et 10 % Proviennent des bactéries (non actinomycètes) en particulier des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* **(Mehdi ,2008)**.

II.2.2. Origine synthétique :

Les ATB sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. On distingue les sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluoroquinolones **(Mehdi ,2008)**.

Il existe aussi des antibiotiques d'origine semi synthétique, ils sont obtenus en modifiant au laboratoire une substance produite par un microorganisme **(Mehdi ,2008)**.

II.3. Mode d'action des ATB : Les antibiotiques peuvent avoir 2 modes d'action (Tableau 4)

II.3.1. Bactéricide :

C'est une dose thérapeutique qui est capable de provoquer la mort de la cellule bactérienne.

Mesurée par la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) ou la plus petite concentration d'ATB capable de détruire de 99,99% d'un inoculum bactérien **(Le Loir et al.,2010)**.

II.3.2. Bactériostatique :

C'est l'action d'une molécule d'antibiotique qui a une dose thérapeutique capable d'inhiber la croissance d'une population bactérienne.

Mesurée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI, ou plus petite concentration d'ATB capable d'inhiber la croissance de cette population (**Le Loir et al., 2010**).

La distinction entre les deux types d'activité peut se faire en comparant in vitro la CMI (Concentration minimale inhibitrice) et la CMB (Concentration minimale bactéricide).

- CMI et CMB sont proches voir similaires pour les ATB bactéricides
- Un antibiotique dont la CMB est très supérieure à la CMI, sera considéré comme bactériostatique.
- Un antibiotique bactériostatique ne peut à lui seul éradiquer une infection ; il empêche la prolifération bactérienne, et facilite la destruction des germes par les défenses de l'hôte.
- Un antibiotique bactéricide est préférable pour les infections grave et surtout chez les patients dont les défenses immunitaires sont déficientes (**Le Loir et al., 2010**).

Tableau 4 : Antibiotiques bactériostatiques et bactéricides (Le Loir et al., 2010)

ATB à action bactériostatique	ATB à action bactéricide
Macrolides	β -lactames
Sulfamidés	Fluoroquinolones
Tétracyclines	Aminoglycosides
Lincosamides	Nitroimidazoles
Nitrofuranes	Glycopeptides (bactéricidie lente)
Phénicolés	Polymyxines
Ethambutol	Synergistines
Cyclosérine	Ansamycines
	Acide fusidique
	Isoniazide
	Pyrazinamide

II.4. Spectre d'action des ATB : il existe deux grandes catégories :

II.4.1. Antibiotiques à spectre étroit :

Ils ne tuent qu'un nombre limité de bactéries. Ils peuvent cibler et tuer les bactéries à l'origine de la maladie tout en laissant en vie les autres bactéries, qui peuvent être bénéfiques. Ces antibiotiques sont habituellement prescrits lorsque la bactérie à l'origine de l'infection est exactement connue **(Pascal ,2014)**.

II.4.2. Antibiotiques à spectre large :

Ils sont efficaces contre de nombreuses bactéries, y compris certaines bactéries résistantes aux antibiotiques à spectre étroit. Ce type d'antibiotique est prescrit lorsque l'on ne connaît pas exactement quelle est la bactérie à l'origine de l'infection ou lorsque la maladie est causée par plusieurs bactéries différentes **(Pascal ,2014)**.

II.5. Mécanisme d'action des ATB (Figure 2) :

II.5.1. Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne :

Les bactéries sont entourées d'une coque en peptidoglycane, polymère de sucres réticulé par des ponts de nature peptidique. Plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi. Dans cette catégorie, nous trouvons :

- ✓ Les β -lactames, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi .
- ✓ Les glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse.
- ✓ Quelques molécules d'intérêt mineur (fosfomycine, cyclosérine, bacitracine, acide

Fusidique, polymyxine et, dans une certaine mesure, la néomycine) **(Françoise et al.,2007)**.

II.5.2. Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique :

Il existe des inhibiteurs de :

- ✓ La sous-unité 50S des ribosomes, qui empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance (phénicolés) ou le transfert de la chaîne en croissance du site A vers le site P (macrolides, lincosamides, streptogramines).
- ✓ La sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines, aminoglycosides) **(Françoise et al.,2007)**.

II.5.3 : Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques :

On distinguera les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs.

- ✓ Les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines, tandis que les inhibiteurs de l'ADN-gyrase regroupent les quinolones.
- ✓ Les sulfamidés agissent sur la synthèse de l'acide folique.
- ✓ Les diaminopyridines inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne **(Pascal ,2014)**.

II.5.4. Antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques :

Chez les bactéries, le métabolisme procède de voies très variées car ils ont acquis une capacité d'adaptation à la vie dans des milieux nutritifs et des conditions de survie très différents des eucaryotes. Malgré ce fait, le nombre de molécules d'antibiotiques agissant à ce niveau et utilisables en clinique est très réduit **(Françoise et al.,2007)**.

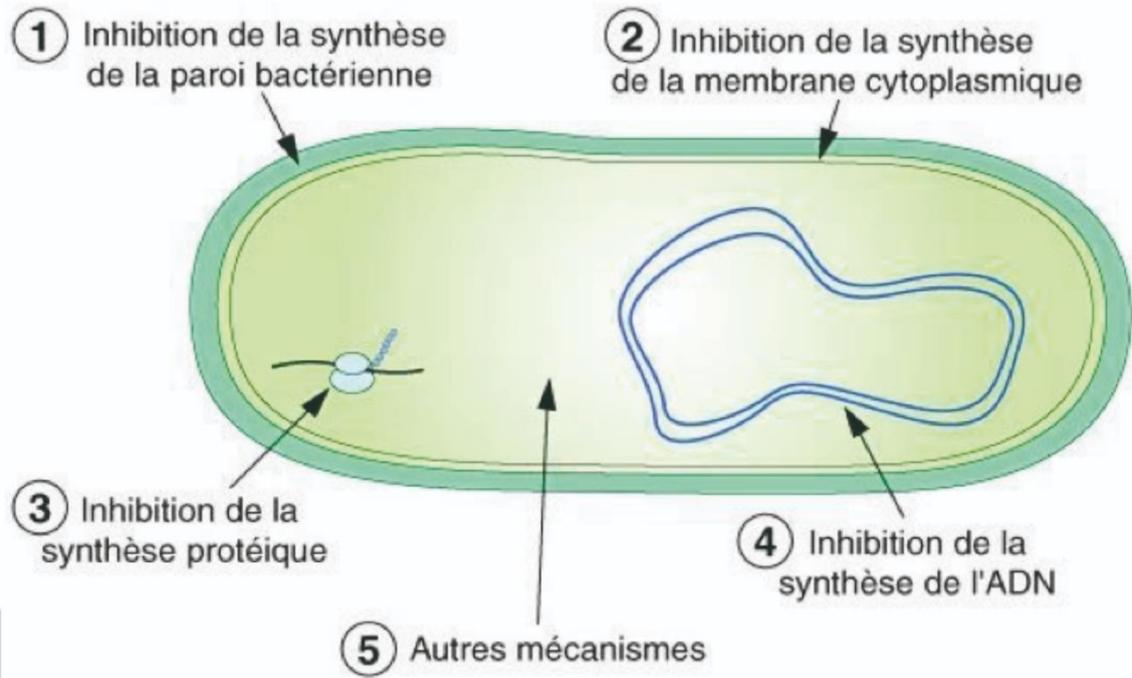


Figure 2. Cellule bactérienne et modes d'action des antibiotiques (Pascal L,2014).

Chapitre III : RESISTANCE DES STAPHYLOCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES :

III.1. Introduction :

Le traitement anti bactérien est un traitement dirigé contre un agent infectieux ; c'est un anti-infectieux d'où les antibiotiques qui sont considérés comme le groupe le plus important **(Fritz. et al. ,2008)**.

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a publié sa première liste « d'agents pathogènes prioritaires » résistants aux antibiotiques, contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques. La liste de l'OMS comporte trois catégories selon l'urgence du besoin de nouveaux antibiotiques : critique, élevée ou moyenne **(OMS, 2017)**.

Staphylococcus aureus, a montré de la résistance à la méthicylline, résistance intermédiaire ou complète à la vancomycine qui sont classées dans la liste des catégories" élevée".

Cette liste a été établie pour essayer d'orienter et de promouvoir la recherche-développement de nouveaux antibiotiques, dans le cadre des efforts de l'OMS pour lutter contre la résistance croissante aux antimicrobiens dans le monde **(OMS,2017)**.

III.2. Sensibilité des *Staphylocoques* aux antibiotiques :

En 1928, l'observation de l'inhibition de croissance d'une culture de *Staphylocoques* autour d'une colonie de penicillium par Alexander Fleming conduira à la production de Pénicilline G, premier véritable antibiotique utilisé en thérapeutique, comme traitement des infections Staphylococciques **(Ito et Hiramastu, 1998)**.

III.3. Epidémiologie de la résistance des *Staphylocoques* aux antibiotiques :

Dès 1930, sont apparues les premières souches de *Staphylococcus aureus* résistantes aux sulfonamides et à la pénicilline **(Jean-Claude, 2015)**.

L'augmentation du nombre des *Staphylocoques* résistants à la pénicilline s'est accrue

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 % (**Leclercq, 1999**).

Pendant longtemps, ces souches se trouvaient au milieu hospitalier ou elles provoquaient des maladies nosocomiales, mais maintenant elles sont plus fréquentes hors hôpital. Aussi, on est en face d'un grand problème de l'efficacité futur des antibiotiques confrontés à ces souches pathogènes multirésistantes (**Jean-Claude, 2015**).

Il est urgent de revoir la stratégie d'application des antibiotiques existants pour éviter au mieux le risque de dissémination des souches résistantes existantes et d'apparition de nouvelles souches résistantes afin de lutter contre les espèces pathogènes (**Jean-Claude, 2015**).

III.4. Types de résistance aux antibiotiques :

Les bactéries ont un grand pouvoir d'adaptation qui leur permet d'acquérir de nouvelles propriétés (modification de leur génome ou information génétique nouvelle) leur permettant de résister aux antibiotiques (**Pascal, 2014**).

La résistance aux ATB peut être une propriété intrinsèque des cellules mais peut être acquise soit par mutation, soit par transfert horizontal.

III.4.1. Résistance naturelle :

Concerne toutes les souches d'une espèce bactérienne et pré-existe à l'usage des antibiotiques.

Cette résistance est chromosomique et a un caractère permanent transmissible aux cellules filles lors de la réplication bactérienne, C'est une propriété intrinsèque des bactéries (**Pascal, 2014**).

Exemple : Résistance naturelle de *S. aureus* aux ATB :

Presque toutes les classes majeures d'antibiotiques ont une action sur *S. aureus*, mais quelques

ATB échappent à la règle et n'ont aucune action anti staphylococcique, il s'agit de :

- L'aztréonam représenté par la classe de beta lactamine.
- Quinolones de première génération (fluméquine, acide pipémidique, acide nalidixique et acide oxolinique).
- Des peptides cycliques (polymyxine B et polymyxine E ou colymicine).

Ces résistances naturelles ont été mises à profit dans la conception de milieux de culture de bactériologie sélective pour les *Staphylocoques* (**Larpent et al ,2010**).

III.4. 2. Résistance acquise :

Concerne une partie des souches d'une espèce bactérienne normalement sensible et apparait à la suite de l'utilisation des antibiotiques (**Pascal,2014**). L'acquisition d'un nouveau mécanisme de résistance résulte soit :

III.4.2.1. Acquisition par mutation :

La résistance par mutation est spontanée. De nombreuses études montrent que ce phénomène joue un rôle important dans l'évolution de la résistance aux antibiotiques, Ce phénotype mutateur peut conférer un avantage sélectif à la souche qui le possède (**Jean-Claude L, 2015**).

III.4. 2.2. Acquisition par transfert horizontal :

C'est l'acquisition d'une information génétique provenant d'une bactérie déjà résistante.

La résistance et la multirésistances surtout, peuvent être acquises par transfert des plasmides multi résistants à large spectre d'hôte, pouvant se maintenir et s'exprimer de façon stable dans de nombreuses espèces bactériennes tant Gram+ que Gram- (**Jean-Claude L,2015**).

La résistance acquise aux antibiotiques est la conséquence délétère directe de deux causes synergiques liées à l'activité humaine :

- l'utilisation massive d'antibiotiques en santé humaine et animale, qui entraîne la sélection des bactéries les plus résistantes.
- la dissémination des bactéries résistantes ainsi sélectionnées, directement par transmission au sein des populations humaines et animales « transmission croisée », et indirectement via l'environnement (**Jarlier, 2019**).

III.5. Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Figure3) :

III.5.1. Inactivation de l'antibiotique par une enzyme bactérienne :

C'est la situation la plus fréquente (**Pascal, 2014**).

III.5. 2. Diminution de la quantité d'antibiotique atteignant la cible :

L'antibiotique n'est pas modifié, mais il ne peut pas accéder à sa cible au sein de la bactérie :

- Soit parce qu'il ne peut plus y pénétrer en raison de la baisse de la perméabilité membranaire.
- Soit parce qu'il est expulsé activement vers l'extérieur de la bactérie par des protéines jouant le rôle de pompe (systèmes d'efflux) (**Pascal, 2014**).

III.5. 3. Modification de la cible :

- Modifications quantitatives : par exemple, l'absence de paroi chez les bactéries du genre *Mycoplasma* est responsable de leur résistance naturelle aux β -lactamines.

- Modifications qualitatives : la modification de la structure de la cible peut diminuer son affinité pour l'antibiotique. C'est un mécanisme fréquent de résistance acquise (**Pascal, 2014**).

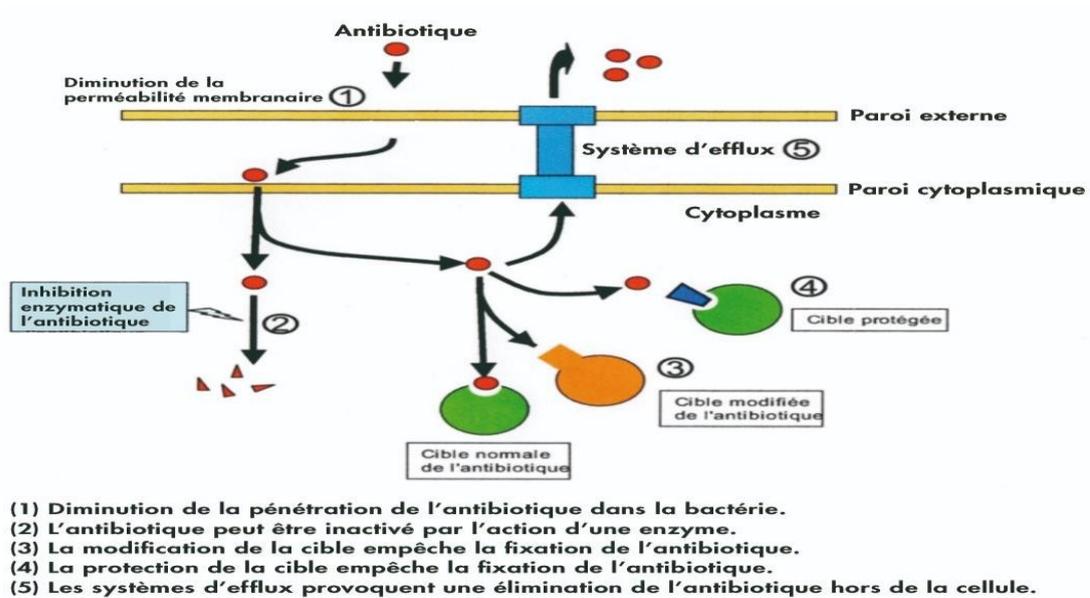


Figure 3. Différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques (**Pascal, 2014**).

III. 6. Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques :

III.6.1. Mauvais usage des antibiotiques dans les pays en développement :

- L'équipement insuffisant des laboratoires rendent le diagnostic précis difficile face à une situation infectieuse, donc problème d'identification bactérienne.
- La prescription de traitement de façon empirique face à une infection virale ou parasitaire (paludisme) sont inadaptés et inutiles.

- La durée d'utilisation trop courte ou la dose des antibiotiques trop faible, parfois pour des raisons économiques (problème du coût).
- L'usage des antibiotiques est parfois mal contrôlé avec beaucoup d'automédications. L'ensemble de ces phénomènes conduit à une augmentation des résistances qui est préoccupante **(Oliver, 2014)**.

III.6.2. Dissémination des bactéries résistantes :

Elle se fait essentiellement par les contacts interhumains. Beaucoup de bactéries sont transmises par un défaut d'hygiène des mains. Les lieux de soins jouent également un rôle crucial, certains malades porteurs de bactéries multirésistantes ne sont pas isolés des patients fragiles. L'utilisation intensive et prolongée d'antimicrobiens avec des règles d'hygiène souvent déficientes favorise l'émergence et la dissémination de bactéries résistantes ou multi résistantes. Celles-ci sont responsables « d'infections nosocomiales » qui peuvent également devenir communautaires avec des germes résistants **(Oliver, 2014)**.

III.6.3. Usage des antibiotiques chez les animaux :

L'augmentation des besoins alimentaires pour une population mondiale de plus en plus nombreuse a conduit à l'utilisation en routine dans les élevages des antibiotiques comme activateurs de croissance et agents de prévention.

En Amérique du nord et en Europe, on estime que 50 % des quantités d'antimicrobiens produites sont destinés aux animaux d'élevage et aux volailles. Ces pratiques ont contribué à l'augmentation de la présence de micro-organismes résistants qui peuvent se transmettre de l'animal à l'homme, comme les salmonelles **(Oliver, 2014)**.

III.6. 4. Pression de sélection exercée par les antimicrobiens :

Des milliards de souches microbiennes sont présents chez une personne normale, parmi lesquelles certaines sont sensibles et d'autres résistantes. L'utilisation d'antimicrobiens pour traiter une infection agit non seulement sur l'agent pathogène spécifique responsable de la maladie, mais décime également des populations d'organismes sensibles dans l'ensemble du corps (tube digestif en particulier) **(Oliver, 2014)**.

Deuxième partie :

Etude expérimentale

I. Objectifs de l'étude :

Les objectifs de la présente modeste étude sont :

- En premier lieu, d'évaluer la sensibilité des isolats de staphylocoques obtenus des surfaces dans un abattoir avicole.

- En second lieu d'établir les profils de résistance des isolats étudiés.

« Il est à rappeler, que notre étude fait partie d'un projet de thèse de doctorat dont le thème principal est l'étude de la sensibilité des *Staphylocoques* d'origine aviaire aux antimicrobiens ».

« Des antibiogrammes sont réalisés sur des isolats déjà isolés et conservés pour les tests ultérieurs ».

II. Matériels et Méthodes :

II.1. Matériels :

II.1.1. Lieu et période de l'étude :

Cette étude a été réalisée, au niveau de laboratoire d'IDAOA, département Clinique, de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) Alger. Sous la direction de Dr. BOUIYAD L durant la période de Mars – Avril de l'année 2022, afin d'évaluer la sensibilité des souches de *Staphylocoques*.

Les 27 isolats de *Staphylocoques* ont été prélevé à partir des carcasses des volailles de l'abattoir avicole, qui ont été offert par Doctorante BOUCHENAF.H.

II.1.2. Matériels de laboratoire, milieux de culture et réactifs :

Le matériel et les milieux utilisés dans cette étude sont :

- Densitomètre (Accuchek).
- Etuve 37° (Memmert).
- Autoclave.
- Balance de précision
- Milieux de culture : MULLER HINTON (MH).
- Disques d'antibiotiques (Biorad).
- Agitateur magnétique.
- Pipettes pasteur.
- Micropipette.

II.1.2.3. Disques d'antibiotiques :

Les antibiotiques choisis pour cette étude appartiennent aux familles d'antibiotiques qui étaient disponibles au laboratoire afin de réaliser l'antibiogramme.

Les 09 disques d'antibiotiques utilisés (BioRad) avec leurs charges sont :

Pénicilline G (10µg), Erythromycine (15µg), Gentamicine (10µg), ; Cefoxitine (30 µg), Rifampicine (5µg), Tétracycline (30µg), Chloramphenicol (30µg). Sulfa-Trimethoprim (25µg) ; Sulphonamides (300).

II.2. Méthodes :

II.2.1. Caractérisation phénotypique de résistance aux antibiotiques :

27 isolats et une souche de référence ATCC ont fait l'objet d'une étude de sensibilité aux antibiotiques.

L'antibiogramme est réalisé, selon la méthode de diffusion sur gélose selon les normes du Clinical Laboratory Standard institute (CLSI) et selon le guide de « Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS » 2002.

Pour la validation de la méthode et des résultats, une souche de contrôle *Staphylococcus aureus* :

ATCC 25923 a été testée dans les mêmes conditions que les isolats à tester

II.2.2. Préparation de milieu de culture :

Pour la préparation du milieu MULLER HINTON (milieu exigé pour la technique de diffusion sur gélose) :

- Mettre 38 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète pendant une heure à l'aide d'un agitateur magnétique afin d'obtenir un mélange homogène.
- Stériliser à l'autoclave à $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 15 minutes.

- Le milieu préparé Répartir dans un flacon stérile pour ensuite remplir les boites de Pétri de 90mm à raison de 15 ml pour chaque boite.



Figure 4 : préparation de milieu de culture (MH) (Photos personnelle).

II.2.3. Préparation de l'inoculum :

- À partir d'une culture pure de 24 heures sur gélose nutritive un inoculum est préparé.
- Quelques colonies (3 à 5) bien isolées et identiques sont raclées à aide d'une pipette et mises dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %.
- La suspension bactérienne est homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0.5 Mc Farland.
- Fur à mesure la suspension bactérienne est ajustée en rajoutant, soit de la culture, soit de l'eau physiologique stérile.

II.2.4. Ensemencement des boîtes :

Un ensemencement sur milieu Mueller-Hinton (MH) est réalisé et doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

- A l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne, bien essoré en le pressant sur la paroi du tube afin de le décharger au maximum puis frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées.
- La totalité de la surface gélosée est frottée, 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.

II.2.5. Application des disques d'antibiotiques :

Nous avons utilisé 9 antibiotiques, six disques sont appliqués par boîte, pour tester la sensibilité de toutes les isolats (27), par la méthode de l'antibiogramme standard, par diffusion sur gélose de MH.

- Chaque disque d'antibiotique est appliqué manuellement à l'aide d'une pince métallique stérile.
- L'incubation est réalisée pendant 24 heures à 37°C.
- Les disques d'antibiotiques utilisés (BioRad) avec leurs charges ainsi que les seuils critiques de l'interprétation sont mentionnés dans le **tableau 5** :

Tableau 5 : Liste des antibiotiques testés et leur diamètre critique.

Antibiotique testés	Charge des disques	Diamètre critique :		
		R	I	S
B-lactamines :				
Pénicilline G P-10	10 U	≤28		≥29
Cefoxitine 30 CX30	30 µg	≤21		≥22
Aminosides :				
Gentamicine GEN 10	10µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Rifamycines :				
Rifampicine 5 RA5	5µg	≤16	17-19	≥20
Macrolides :				
Erythromycine E15	15µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23
Tétracyclines :				
Tétracycline TE 30	30µg	≤ 14	15-18	≥ 19
Phénicolés :				
Chloramphénicol C 30	30µg	≤ 12	13-17	≥ 18
FOLATE-antagonistes :				
Sulfa-Trimethoprim COT25	25µg	≤ 10	11-15	≥ 16
Sulfonamide	300 µg	≤12	13-16	≥17
UI : Unité Internationale ; µg : microgramme				

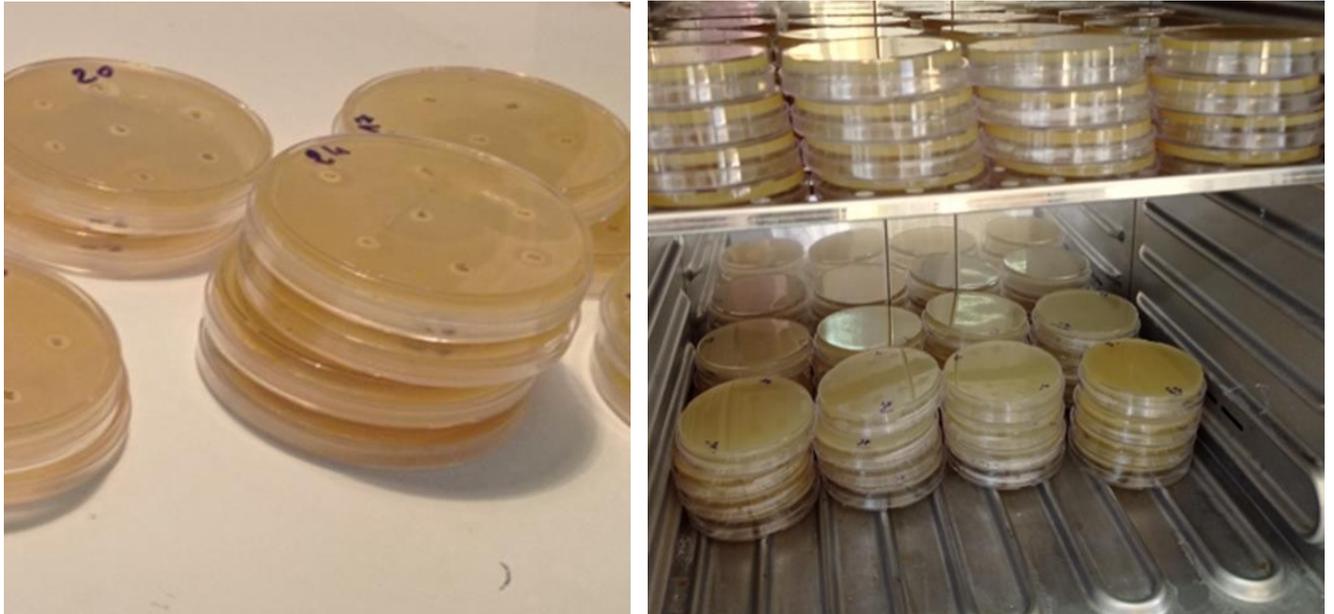


Figure 5 : Application des disques d'ATB et incubation des boîtes de pétri

(Photos personnelle).

II.2.6. Lecture :

- Après incubation, les disques d'antibiotiques s'entourent d'une zone d'inhibition orbiculaire correspondant à un halo (absence de croissance).
- La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition obtenu autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'une règle ou d'un pied à coulisse.
- L'interprétation des résultats est réalisée en comparant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques aux valeurs critiques.
- L'isolat est ensuite classé dans l'une des catégories : Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R)

24	28 R	14 I	31 S	32 S	9 R	36 S	34 S	28 S	0 R
25	34 S	11 R	23 S	27 S	11 R	33 S	28 S	32 S	11 R
26	38 S	12 R	23 S	26 S	0 R	32 S	26 S	32 S	10 R
27	28 R	9 R	22 S	29 S	11 R	34 S	29 S	27 S	0 R
R	30 S	27 R	18 S	32 S	32 S	34 S	25 S	31 S	8 R



Figure7 : Résultat de l'antibiogramme de la souche de référence ATCC 25923

(Photos personnelle).

III.2. Pourcentage de résistance et sensibilité des *Staphylocoques* aux ATB :

Les pourcentages de résistances et de sensibilités sont classés dans le **tableau 7** et **Figure 8** :

Tableau 7 : pourcentage de sensibilité et de résistance aux antibiotiques des isolats.

ATB	N=27					
	R		S		I	
	n	%	n	%	n	%
P-10	7	26 %	20	74 %	0	00%
E-15	24	89 %	0	0%	3	11 %
Gen-10	0	00%	27	100%	0	00%
Cot-25	7	26%	19	70%	1	4%
TE 30	27	100%	0	00%	0	00%
RA 5	0	00%	27	100%	0	00%
S-300	0	00%	27	100%	0	00%
C 30	0	00%	27	100%	0	00%
Cx 30	27	100%	0	00%	0	00%

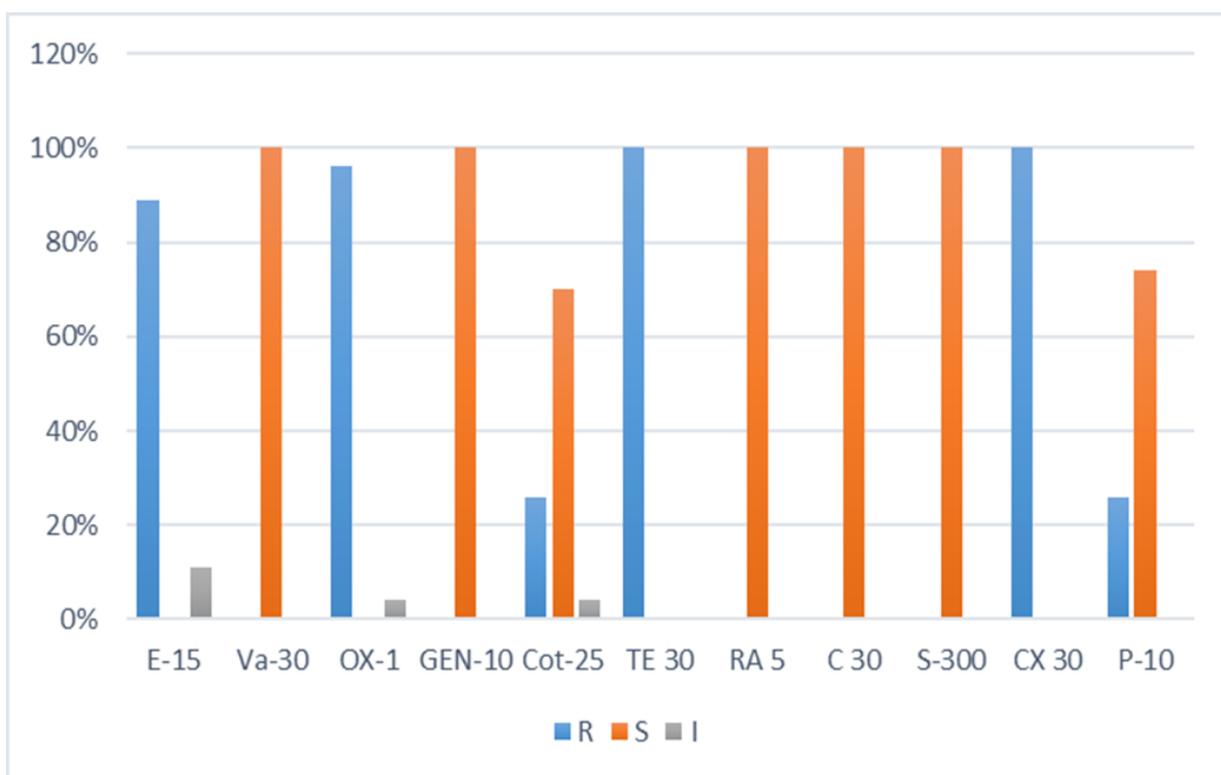


Figure 8 : Pourcentage de résistance et sensibilité des isolats aux ATB.

Les résultats obtenus montrent que 100 % des isolats sont sensibles à la Gentamicine, Rifampicine, Sulphonamides et Chloramphénicol contre 100% de résistance à la tétracycline et au cotrimoxazole.

Des résistances intermédiaires ont été observées pour l'érythromycine (11%), le reste des isolats (89%) étaient résistants (**tableau 7**) et (**Figure 8**).

Nous observons aussi que certains isolats montrent de la résistance à plus d'une famille d'antibiotique :

- Le cas de l'isolat 1 qui résiste aux Macrolides (érythromycine), aux tétracyclines, antagonistes de folates et aux bêta lactames (cefoxitine).

- Ce cas n'est pas unique, d'autres isolats aussi montrent des résistances à plusieurs familles d'antibiotiques (**Figure 9**).

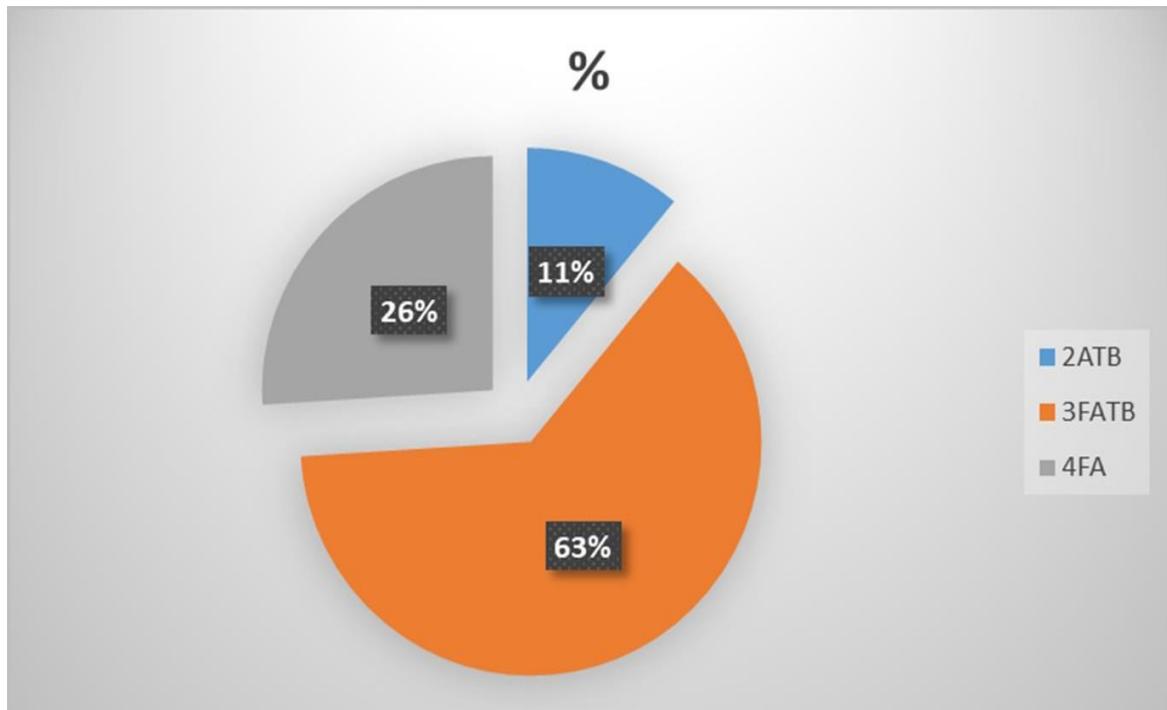


Figure 9 : Pourcentage des isolats multirésistants aux ATB .

Les résultats obtenus (Figure 9) montrent que 100% des isolats sont résistants à "2" ou plus de "2" familles d'ATB ; d'où nous observons que 11% des isolats résistants à "2" familles d'antibiotiques.

Par contre 63% sont résistants à "3" familles d'antibiotiques et 26% sont résistants à "4" familles d'antibiotiques, c'est-à-dire que 89% des isolats sont multirésistants.

On conclure que la plupart des isolats testés possèdent résistance à plus de deux familles d'antibiotique : c'est la multirésistance.

Conclusion et recommandations :

Les résultats de cette étude indiquent que les isolats de *Staphylocoques* testés sont tout sensibles à Gentamicine, Rifampicine, Sulphonamides et Chloramphénicol et en même temps tous résistants à la tétracycline et au cotrimoxazole. 89% des isolats étaient résistants à l'érythromycine.

Certains isolats ont même présenté des résistances variables à l'égard de quatre familles d'antibiotiques) à savoir les Macrolides (érythromycine), les tétracyclines, les antagonistes de folates et les bêta lactames (cefoxitine).

Cette étude rapporte des résultats inquiétants quant à l'utilisation inappropriée des antibiotiques dans élevages et qui pourrait participer à l'émergence de souches de *Staphylococcus* résistantes chez la volaille, mais aussi à la propagation de ces dernières à l'homme, notamment par la chaîne alimentaire.

La résistance des *Staphylococcus* spp aux antibiotiques représente une menace sanitaire majeure et un problème de santé publique. Pour cela, afin de contrôler la survenue de l'antibiorésistance.

Les recommandations suivantes sont proposées :

- Prévenir la transmission de germes multi-résistants en améliorant les conditions d'élevage.
- Surveiller la résistance aux antibiotiques en suivant les évolutions des Populations microbiennes afin de détecter précocement les souches résistantes d'importance majeure pour la santé publique.
- Sensibiliser les vétérinaires ainsi que les éleveurs sur le danger de l'usage abusif des antibiotiques et le phénomène d'antibiorésistance.
- Surveiller l'utilisation des antibiotiques et limiter leur prescription en élevage.

Références bibliographiques :

Anonyme, 2022 : Aspect de S. aureus en microscopie électronique (X 20000)

<http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/medecine/>.

Bannerman T. et al.,2007 : Bannerman T. L, and S. J. Peacock. 2007. Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive Cocci. In Manual of clinical microbiology 9th edition (Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H, Landry, M. L., & Pfaller, M. A., Eds) : 1 pp 390-411. ASM Press, Washington, DC, USA.

Brun et al.,2003 : Brun Y, Bes M, Vandenesch F, 2003. Actualité permanente en bactériologie clinique,55p.

Brun et al.,2007 : Yvonne brun, Michèle bes et François vandenesch, 2007: Précis de bactériologie clinique ,2ème édition, sous la direction de : Jean FRENEY, François FENAULD, Roland LECLERQ et Philippe RIEGEL, ESKA 2007. Paris, 796, 805- 808, 810 et 821 p.

Chantal, 1976 : Dr Chantal Ruf, variation de l'activité bactéricide en fonction du pH et de l'anaérobiose : Application a la gentamicine et a la Sosomicne sur staphylococcus aureus, Paris V-Descartes, thèse de médecine ,1976,37pp<http://fr.wikipedia.org/wiki/staphylococcus>

Cristian C et al., 2015 : Cristian Carip, Marie -Hélène Salavert, Armand Tandeau : microbiologie, hygiène et droit alimentaire 2ème édition Lavoisier paris TEC et DOC pp : 104-105, 340 p.

Cunningham et al.,1996 : Cunningham R. A, Cockayne and H. Humphrey ,1996. Clinical and molécular aspects of the pathogenesis of staphylococcus aureus bone and joint infections. Med. Microbiol.44 :157-164.

Djedji, 2002 : Djedji A. (2002). Etude de Portage Nasal de Staphylococcus aureus Méthicillino – Résistant chez les personnels soignants du Centre National Hospitalier Universitaire Hubert MAGA de Cotonou (Bénin). In CES de bactériologie- virologie appliqué au diagnostic. UFR des Sciences Médicales : Université de Cocody-Abidjan, 49p.

Faucher, 2014 : Faucher, N. (2014). Immunologie et Microbiologie (éd. 2e). (L. E. CEC, Éd.) Québec, Canada : Group Livre Québecor Média inc.

Fomba, 2006 : Fomba M. (2006). Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des acinetobacter et des Staphylococcus à coagulase négative à l'hôpital du point G. Thèse Pharmacie. Université de Bamako. 24-27p.

Françoise V B et al., 2007 : Françoise Van Bambeke, Dr Sc. Pharm et Paul Tulkens, Dr. Méd. Pharmacologie et Pharmacothérapie : Anti-infectieuse1. Antibiotiques et anti fongique, Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire, Université catholique de Louvain, avec la collaboration de Youri Glupczynski (Dr Méd) Marie-Paule Mingeot-Leclercq (Dr Sc. Pharm., Lic. Sc.) et d'Etienne Sonveaux (Dr Sc.) année 2007-2008.

FRENEY. J et al., 2007 : Jean FRENEY, François RENAULD, Roland LECERCQ et Philippe RIEGEL, 2007. Précis de Bactériologie clinique, 2ème édition, p 812 gros livre, ESK ; Paris ;812p.

FRITZ H. K et al.,2008 : FRITZ H. KAYSER, ERIK C. BOTTGER : manuel de poche de microbiologie médicale, France 2008, p 245-247 ,11.

Götz, et al.,2006 : Götz, F., T. Bannerman, and K.-H. Schleider. 2006. The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In Prokaryotes 3rd edition (Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., & Stackebrandt, E., Eds) : 4 pp 4-75. Springer, New York, NY, USA.

Hill L.R, (1981) : Taxonomy of the *Staphylococci*. H Macdonald A., Smith G. (Eds.), The *Staphylococci*. Proceedings of the Alexander Ogston Centennial Conference, Aberdeen University Press, Aberdeen., Mémoire en vue de l'obtention du Master en médecine vétérinaire, Thème : Etude de Sensibilité des souches *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques dans le lait mammiteux, Présenté par : Mr. DIB Alae Eddine, Soutenu le 07/07/2021, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Alger.5p.

Ito et Hira mastu,1998 : Ito. T, Hiramatsu.K,1998. Acquisition of methicillin resistance and progression of multiantibiotic résistance in methicilin -resistant staphylococcus aureus. Yonsei Med J 39 :526-533 p.

Jarlier, 2019 : V. Jarlier, 2019 : La transmission croisée dans la résistance aux antibiotiques : son contrôle dans les hôpitaux français, Role of cross-transmission in resistance to antibiotics Control procedures in French hospitals,

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001407919300573?via%3Dihub>

<https://doi.org/10.1016/j.banm.2019.04.001>.

J-L. Pellerin et al., 2010 : J-L. Pellerin, M. Gautier, Y. le Loir ,2010 ; *Staphylococcus aureus* ; monographies de microbiologie collection dirigée par Jean-Paul, la voisier ; paris p 1,4,6,7 et 16.

Jean-Claude L et al., 2015 : Luciano Paolozzi et Jean-Claude Liébart ,2015 Microbiologie (licence, mater, ecole d'ingénieur), Dunod, 2015, Paris, p459-460.

Kloos et Bannerman,1999 : Kloos W. E et Bannerman T. L ;1999. Staphylococcus and micrococcus,276p.

Kloos et schleifer,1986 : Kloos W. E et Schleifer K.H (1986). Simplified scheme for routine identification of human staphylococcus species. J Clin Microbiol,1 : 82-8p.

Larpen et al.,2010 : Jean -Paul Larpen, Yves le Loir et Michel Gautier, Monographie de microbiologie, staphylococcus aureus, Lavoisier ;2010. P 113-114.

Le Loir et al., 2010 : Le Loir, Y., & Gautier, M. (2010). Staphylococcus aureus (collection Monographies de microbiologie) (éd. TEC ET DOC). Paris : Lavoisier 66 P.

Mehdi. S ,2008 : La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassani de Settat. THESE. [En ligne]. Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.

Oliver R ,2014 : Dr Oliver ROGEAUX Infectiologue, Centre hospitalier de Chambéry, France
20 AVRIL 2014. La résistance aux antibiotiques : un problème mondial majeur de santé publique : <https://devsante.org/articles/la-resistance-aux-antibiotiques-un-probleme-mondial-majeur-de-sante-publique>.

OMS 2017 : ORGANISATION MONDIALE DE SANTE, <https://www.who.int/fr/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed#> ,27 février 2017 Communiqué de presse GENÈVE.

Pascal, 2014 : Pascale Lesieur, pharmacien, Paris ,07 AVRIL 2014, Antibiotiques : modes d'action, mécanismes de la résistance <https://devsante.org/articles/antibiotiques-modes-d-action-mecanismes-de-la-resistance>.

Pellerin et al., 2010 : J-L. Pellerin, M. Gautier, Y. le Loir ,2009 ; staphylococcus aureus ; monographies de microbiologie collection dirigée par Jean-Paul, la voisier ; paris p 1,4,6-9 ,16 p.

Prescott et al., 2010 : Prescott L.M, Harley J.P, Klein D. (2010). Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université.

Sulaiman, 2016 : Sulaiman, A. M. (2016, Février) : Detection des enzymes B-lactamases chez *Staphylococcus* isolé de la cavité nasale des élèves en bonne santé. Journal international des sciences chimiques et biomoléculaires, 2(1), 32-37.

Turpin. R. A et al.,1957 : Turpin. R. A, Velu. H, 1957. Thérapeutique antibiotique. Doin, Paris