REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

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

Etude de la sensibilité et la résistance des souches de *Staphylocoque aureus* aux antibiotiques

Présenté par :
DJERBIB Sami
DJERBIB Achraf

Soutenu le : 01/06/2015

Devant le jury

-Président : Mme GHALMI. Maitre de conférences classe A

-Promoteur : Mme AZZAG. Maitre de conférences classe A

-Examinateur : Mme TENAH. Maitre de conférences classe A

-Examinateur : Mr LAAMARI. Maitre assistant classe A

Année Universitaire 2014/2015

Remerciements

Nous remercions en premier lieu Dieu tout puissant de nous avoir donné la force pour réaliser ce modeste travail.

Nous exprimons toute notre gratitude et toute notre reconnaissance à Mme AZZAG pour avoir accepté de nous encadrer. Nous la remercions pour sa confiance, son soutien et sa disponibilité.

Nous remercions également Mme GHALMI de nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Nos remerciements vont aussi à nos examinateurs : Mme TENAH et Mr LAAMARI pour avoir accepté de prendre en charge l'examination de ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à Mme BENEFDEL Sihem pour nous avoir assistés tout au long de notre travail au laboratoire de microbiologie du département clinique de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

Nous voudrions par ailleurs exprimer notre profonde reconnaissance à Mr BEKARA Amine qui a contribué à la réalisation de la partie statistique de ce projet.

Nous n'oublierons pas de remercier tout le personnel de la bibliothèque de l'ENSV, en particulier Mr OUARED Younes, pour son aide précieuse.

Pour finir, nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et notre gratitude à tous ceux et celles, qui de loin ou de près, ont rendu possible l'élaboration de ce projet.

Dédicaces

Nous dédions ce mémoire à :

Notre chère mère, qui n'a de cesse veillé et œuvré pour notre réussite, à travers l'éducation qu'elle nous a donnée. Pour son amour, sa présence, sa patience et pour tous les sacrifices consentis à notre égard. Qu'elle trouve, à travers ce modeste travail, l'expression de notre sincère reconnaissance.

Notre père, qu'il reçoit, par le biais de ce projet, le signe de notre gratitude pour tout le dévouement consenti et pour toutes les valeurs morales inculquées toute au long de ces années.

Notre sœur Selma et notre frère Mohamed Amine, nos ainés, qui ont été pour nous des modèles de réussite, à travers leur soutien permanant et leurs conseils prodigués.

A notre grande famille, Kawthar, Loubna, notre Grand-mère Amineh, qui nous on permis de grandir et de nous épanouir dans un environnement sain, rempli de joie, d'amour et de tolérance.

A tout le corps enseignant et administratif de l'ENSV qui a veillé, tout au long de ces cinq merveilleuses années, à nous prodiguer la meilleure des formations.

A nos amis, qui ont contribué à faire de nous ce que nous sommes aujourd'hui, voyez en ce modeste travail, le signe de notre profonde sympathie.

Résumé :

Un intérêt sans cesse croissance est porté à l'étude de la résistance des souches de *Staphylocoques aureus.* Cela s'explique par le rôle que jouent ces bactéries en pathologie humaine et vétérinaire, mais aussi en raison de l'émergence de phénomènes de multirésistances aux antibiotiques, ce qui représente un problème majeur en santé publique mettant régulièrement les cliniciens dans des impasses thérapeutiques.

L'objectif de ce travail était dans un premier temps d'isoler puis de caractériser les souches de *Staphylocoques aureus* à partir d'animaux malades et dans un second temps tester leur sensibilité vis-à-vis de certains antibiotiques par la réalisation d'antibiogrammes.

Les résultats obtenus confirment le constat alarmant établi à travers d'autres études, puisque la quasi-totalité des souches isolées présente au moins une résistance à un antibiotique, alors que presque la moitié manifeste une multirésistance.

Mots clés : *Staphylocoque aureus*, résistance, sensibilité, antibiotiques.

Summary :

A constantly growing interest is brought to the study of the resistance of *Staphylococcus aureus*. This study reflects the role of these bacteria in both human and veterinary pathology, but also because of the emergence of phenomena of multi-drug resistance to antibiotics, which is a major public health problem regularly putting clinicians in therapeutic impasses.

The objective of this work was initially to isolate and characterize *Staphylococcus aureus* strains from sick animals and in a second place test their sensitivity towards certain antibiotics.

The results confirm the alarming assessement that was already established through multiple studies, since almost all of the isolated strains have at least one antibiotic restistance, while almost half of them are showing a multi-drug resistance.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, resistance, sensitivity, antibiotics.

ملخص:

تولى دراسة مقاومة سلالات المكورات العنقودية الذهبية اهتماما كبيرا. و هدا يعكس دور البكتيريا في مجال الصحة البشرية و الطب البيطري. و ايضا بسبب ظهور ظاهرة المقاومة للمضادات الحيوية,و هي مشكلة صحية رئيسية عامة تضع الاطباء في مأزق علاجي.

الهدف من هدا العمل كان في البداية عزل و وصف سلالات المكورات العنقودية الذهبية من الحيوانات المريضة, ثم اختبار حساسيتها تجاه بعض المضادات الحيوية.

و تؤكد هده الدراسة النتائج المقلقة التي نشرت خلال الدراسات السابقة' حيث ظهر ان معظم السلالات المعزولة لديها مقاومة للمضاد حيويا واحدا على الاقل, في حين نصفها تقريبا لديها مقاومة متعددة.

كلمات البحث:المكورات العنقودية الذهبية, المضادات الحيوية, المقاومة, الحساسية.

Table des matières

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction……..1

Etude bibliographique

Chapitre 1 : Staphylocoque aureus

I. Staphylocoque aureus……...2
I. 1. Historique…….2
I. 2. Taxonomie…….……...2
I. 3.Caractères morphologiques……..……...……..4
I. 4. Caractères culturaux et biochimiques…….……..4
II. Habitat……5
III. Pathogénie……5
III. 1. Facteurs de virulence……5
III. 1.1. Protéines de surfaces…….5
III. 1.2. Facteurs de virulence solubles……..8
III. 2. Régulation génétique de l'expression des facteurs de virulence……11
III. 2.1. Système à deux composants……11
III. 2.2. Régulateur de la transcription……12
III. 2.3. Facteur stress……..12
III. 3. Physio pathogénie……..12
IV. Epidémiologie……13
IV. 1. Portage……13
IV. 2. Résistance……...13
IV. 3. Facteurs de risque……...13
IV. 4. Transmission……..14
V. Manifestations cliniques……..…..14
V. 1. Carnivores domestiques……14
V. 2. Espèces aviaires…….15

V. 3. Espèce bovine……15
V. 4. Homme……..……16

Chapitre 2 : Antibiotiques et antibiorésistance bactérienne

I. Définition……..17
II. Historique……..18
III. Les familles d'antibiotiques……..20
III. 1. Les béta-lactamines……20
III. .1.1. Les Pénicillines……...20
III. 1.2. Les Céphalosporines……...….21
III. 2. Les Cyclines…….……..21
III. 3. Les Macrolides……...22
III. 4. Les Quinolones……..22
III. 5. Les Aminosides……22
IV. Mode d'action des antibiotiques……23
IV. 1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne……...24
IV. 2. Inhibition de la synthése membranaire……...25
IV. 3. Antibiotiques actifs sur les acides nucléiques……26
IV. 3.1. Inhibition de la réplication……..26
IV. 3.2. Inhibition de la transcription……...27
IV. 3.3. Inhibition de la synthése……..27
IV. 4. Inhibition de la synthése protéique……27
IV. 4.1. Action sur la sous-unité 30S du ribosome……...27
IV. 4.2. Action sur la sous-unité 50S du ribosome……...28
V. Les antibiotiques en Médecine Vétérinaire……28
V. 1. Antibiothérapie humaine/Antibiothérapie animale……28
V. 2. Contraintes de l'usage d'antibiotiques en médecine vétérinaire……30
VI. Résistance bactérienne aux antibiotiques……...30
VI. 1. Résistance naturelle……30
VI. 2. Résistance acquise……..……30
VI. 2.1. Résistance de mutation chromosomique……31
VI. 2.2. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène……..……...31
VII. Mécanismes de résistance……..31
VII. 1. Résistance par diminution de la pénétration d'un antibiotique……31
VII. 2. Résistance par augmentation de l'excrétion d'un antibiotique……32

VII. 3. Résistance par modification de la cible……32
VII. 4. Résistance par inactivation enzymatique de l'antibiotique……32
VII. 5. Résistance par modification du métabolisme……32
VIII. Evaluation de la résistance bactérienne aux antibiotiques……32
VIII. 1. Méthodologies des testes de sensibilité aux antibiotiques……33
VIII. 2. Choix de l'antibiotique à utiliser……33
VIII. 3. Choix de la méthode……33
VIII. 4. Testes de sensibilité……34
VIII. 4.1. Méthode de dilutions en bouillon et gélose……34
VIII. 4.2. Utilisation de bandes et bandelettes……34
VIII. 4.3. Méthode de diffusion en disque……34
VIII. 4.4. Tendance future dans la détection de la sensibilité……35

Matériels et Méthodes

I. Objectifs……36
II. Echantillons et méthodes de prélèvements……36
III. Enrichissement et mise en culture……37
III. 1. Pré-enrichissement sur bouillon BHIB……37
III. 2.Examen microscopique……37
III. 3. Ensemencement sur gélose……38
III. 4. Galerie API……39
III. 5. Réalisation d'un antibiogramme……40

Résultats……42

I. Prélèvement……42
II. Isolement des souches……42
III. Pré-enrichissement des prélèvements……44
IV. Analyses bactériologiques……45
IV. 1. Coloration de Gram……45
IV. 2. Isolement sur milieu Chapman……45
IV. 3. Identification biochimique par API®StaphBioMérieux®……46
V. Sensibilité des Staphylocoques aux ATB……47

Discussion……52

Conclusion et recommandations……54

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

agr : d'accessorygeneregulator.

ARN : Acide Ribonucléique.

ARNm : ARN messager.

ARNr : ARN ribosomaux.

AST :antimicrobialsusceptibilitytesting.

ATB : antibiotique.

ATP : Adénosine Triphosphate.

AW : Activity of Water.

Clf : Protéine de liaison au fibrinogéne.

CLSI : ClinicalLaboratoryStandart Institute.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

Cna : Protéine de liaison au collagène.

DHB : la dermo-hypodermite bactérienne.

DHBN : la dermo-hypodermite bactérienne nécrosante.

EbPS : Protéine de liaison à l'élastine.

ENSV : Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

FN :fasciites nécrosantes.

FnBP : Protéines de liaison à la fibronectine.

IgG :immunoglogulines G.

IL : Interleukine.

ITELV : Institut technique des élevages.

K+ : Potassium.

LB : Lymphocytes B.

LPV : Leucocidine de Panton Valine.

MSCRAMM : Microbial Surface Component RecognizingAdhesive Matrix Molecules.

Na+ : Sodium.

NO2 : Dioxyde d'azote.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PLP : Protéines liant la Pénicilline.

RAP : RAN III-ActivatingProtein.

sar : StaphyloccocalAccessorygeneRegulator.

SARM : Staphylocoque aureus résistant à la méticilline.

SCCmec : Staphylococcal Cassette Chromosome mec.

SERAM : SecretableExpandedRepertoireAdhesiveMolecules.

SHT : toxines synergo-hyménotrops.

Spa : Protéine A.

SVrA : StaphylococcalVirulencRegulator.

TACE : TumorNecrosis Factor-Alpha converting enzyme.

TIAC : Toxi-infection Alimentaire Collective.

TNRF1 : TumorNecrosis factor receptor.

TRAP : Target of RAN III-ActivatingProtéin.

TssT1 : Toxine de Syndrome de Choc Toxique.

Liste des figures

Figure 1: Organisation structurale des protéines de surface de S. aureus…….....6

Figure 2 : Système agr et son interaction avec le système TRAP…….12

Figure 3: Mode d'action des antibiotiques…….....23

Figure 4 : Composantes des parois bactériennes Gram négative/Gram positive……24

Figure 5 : Ecouvillons……...37

Figure 6 : Bouillons nutritifs BHIB……..37

Figure 7: Ensemencement d'écouvillon dans un bouillon BHIB……..37

Figure 8 : Incubation des bouillons BHIB…….37

Figure 9 : Coloration de Gram……..38

Figure 10: Examen microscopique……38

Figure 11: Gélose Chapman……..39

Figure 12: Galerie API® Staph Bio Mérieux®…….39

Figure 13: Chèque API® Staph Bio M2rieux®……40

Figure 14 : Staph médium…….40

Figure 15 : Gélose MULLER HINTON……40

Figure 16 : Dépôt des disques d'antibiotiques……..41

Figure 17 : Type de prélèvements……44

Figure 18 : Espèces animales prélevées……44

Figure 19 : Bouillons BHIB après incubation……..44

Figure 20 : Coloration de Gram……45

Figure 21 : Aspect microscopique……45

Figure 22 : Aspect des colonies de *Staphylocoque aureus* sur milieu Chapman……45

Figure 23 : Résultat de la galerie API® staphBioMérieux® pour la souche *Staphylocoque aureus*……..46

Figure 24 : Antibiogramme de *Staphylocoque aureus*……..49

Figure 25 : Antibiogramme de *Staphylocoque aureus* (Bis)…….49

Figure 26 : Histogramme de sensibilité/résistance aux ATB des souches *Staphylocoque aureus*……..50

Figure 27 : Dendrogramme……50

Liste des tableaux

Tableau 1 : espèces et sous espèces du genre Staphylocoque et hôtes associés…….3

Tableau 2 : Différents modes d'action des antibiotiques……..23

Tableau 3 : Composition du milieu Chapman……...38

Tableau 4 : Composition du milieu MUELLEUR HINTON……...….40

Tableau 5 : Nature de prélèvements……..…42

Tableau 6 : Espèces animales étudiées……..….42

Tableau 7 : Fréquence d'isolement des souches *Staphylocoque aureus*……...…43

Tableau 8 : Souches de *Staphylocoques aureus* isolées……43

Tableau 9 : Tableau de lecture de la galerie API®staphBioMérieux®……...46

Tableau 10 : Résultats des antibiogrammes pour les souches de *Staphylocoque aureus*…….47

Tableau 11 : Profil d'antibiorésistance (nombres et pourcentages)……..…48

Tableau 12 : répartition des profils selon les différentes espèces animales……..51

Introduction

Lors de la réunion de Malt le 29 Novembre 2006, les responsables des réseaux méditerranéens de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques sous l'égide de l'union européenne et de l'OMS, quatre objectifs précis ont été fixés pour les Cinque années suivante :

1) Développer la surveillance en réseau de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

2) Étudier la consommation des antibiotiques.

3) Mettre en pratique les activités d'hygiène hospitalière notamment le lavage des mains.

4) Informer le grand public par les moyens audio-visuels sur la nécessité de prescrire les antibiotiques quand il le faut.

Si depuis 2010, des modifications ont été apportées par le CLSI pour la partie médicale, la partie vétérinaire est restée inchangée (K.Rahal, 2010).

L'initiative entreprise par les responsables des réseaux méditerranéens pour la surveillance régulière de la résistance bactérienne aux antibiotiques illustre la réelle difficulté que trouvent les cliniciens humains et vétérinaires dans la prescription de molécules antimicrobienne tant le profil de résistance évolue au fil des années.

Dans notre travail, nous nous sommes limités à l'étude du profil d'antibiorésistance des souches de *Staphylocoques aureus* en médecine vétérinaire. En effet, cette bactérie est l'une des espèces les plus incriminée en consultation vétérinaire car elle provoque chez les espèces animales de nombreuses pathologies telles que les dermatoses, otites, mammites, arthrites, furoncles avec également des cas d'intoxications alimentaires.

L'utilisation excessive d'antibiotiques en thérapie vétérinaire mais également le caractère inter-transmissible du locus du gène de résistance aux antimicrobiens font que le profil d'antibiorésistance des *Staphylocoques aureus* évolue régulièrement dans le temps, d'où la nécessité d'une surveillance régulière de cette dernière dans l'optique de contrecarrer ce phénomène et d'optimiser l'antibiothérapie en clinique vétérinaire.

Etude bibliographique

Chapitre1 : *Staphylocoque aureus*

I. *Staphylocoque aureus* :

I.1. Historique :

C'est en 1871 que les *Staphylocoques* ont été isolés pour la première fois à partir de pus provenant d'abcès. Quelques années plus tard, Robert-Koch (Allemagne, 1878) et Louis Pasteur (France, 1880) décrivent des grappes de coques (Karthik, 2007). Ce regroupement en grappe inspire Alexendre Ogston qui proposera le nom de «*Staphylococcus*»: Staphylé = grappe et Kokkos = grain (Spicer, 2003 ; Stephen et Hawkey, 2006). Mais c'est Anton Julius Friedrich Rosenbach qui donnera la première description du genre du *Staphylococcus* après l'avoir cultivé sur milieu solide (Ananthanarayan et Paniker, 2006). Il différencia ainsi *Staphylocoque aureus* de *Staphylocoque albus* par la coloration des pigments produits par les colonies.

Staphylocoque aureus appartient au groupe des *Staphylocoques* coagulase positif. Il est de ce fait considéré comme l'une des espèces les plus pathogènes (Corne, 2004 ; Quinn et al., 2011) fréquemment incriminées dans des infections suppuratives et des intoxications (TIAC), notamment en présence de facteurs favorisant.

I.2. Taxonomie :

D'après la classification parue dans la deuxième édition de Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology (Bergey, 1994), *Staphylocoque aureus* présente la taxonomie suivante:

- Domaine : Bacteria.
- Phylum : Firmicutes.
- Classe : Bacilli.
- Ordre : Bacillales.
- Famille : Staphylococcaceae.
- Genre : *Staphylococcus*.

Tableau 1 : espèces et sous espèces du genre Staphylocoque et hôtes associés (Stepan et al., 2004)

Espèce	Hôte ou source
S.arletti	Caprin, volaille
S. aureus subsp. anaerobius	Ovin
S. aureus subsp. Aureus	Homme, animaux, environnement
S. auricularis	Homme
S. capitissubsp. capitis	Homme
S. capitissubsp. Ureolyticus	Homme, primates
S. caprae	Homme, caprins
S. camosussubsp. Carnosus	Produits carnés
S. camosussubsp. Utilis	Aliments
S. chromogenes	Animaux, lait
S. cohniisubsp. cohnii	Homme
S. cohniisubsp. Urealyticum	Homme, animaux
S. condimenti	Sauce au soja
S. delphini	Dauphins
S. epidermidis	Homme, animaux, environnement
S. equorumsubsp. equorum	Chevaux, bétail
S. equorumsubsp. Linens	Surface fromage affiné
S. felis	Chats
S. fleurettii	Fromage lait de chèvre
S. gallinarum	Volailles, oiseaux
S. haemolyticus	Homme, animaux domestiques, environnement
S. hominissubsp. hominis	Homme
S. hominissubsp. Novobiosepticus	Homme
S. hyicus	Animaux, aliments
S. intermedius	Mammifére, oiseaux, rarement Homme
S. kloosii	Animaux sauvages
S. lentus	Animaux, rarement Homme
S. lugdunensis	Homme
S. lutrae	Loutre
S. muscae	Mouches, porcs
S. nepalensis	Chèvre
S. pasteuri	Homme, animaux, aliments
S. pettenkoferi	Homme
S. piscifermentans	Poisson fermenté
S.pseudintermedius(Devriese et al., 2005)	Animaux
S. saccharolyticus	Homme
S. saprophyticussubsp. bovis	Animaux
S. saprophyticussubsp. Saprophyticus	Homme, animaux
S. schleiferisubsp. coagulans	Chiens
S. schleiferisubsp. Schleiferi	Homme
S. sciurisubsp. carnaticus	Produits carnés
S. sciurisubsp. lentus	Animaux
S. sciurisubsp. rodentium	Rongeurs, animaux
S. sciurisubsp. Sciuri	Homme, animaux
S. simiae(Pantucek et al., 2005)	Signe
S. simulans	Homme, mammifère
S. succinussubsp. Casei	Surface de fromage affiné
S. succinussubsp. Succinus	Ambre
S. vitulinus(anciennement *S.pulvereri*)	Animaux, aliments
S. warneri	Homme, primates
S. xylosus	Homme, animaux, environnement

Le genre *Staphylococcus* regroupe environ 50 espèces classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre: *les Staphylocoques* à coagulase + considérés comme les plus pathogènes (Corne, 2004 ;Quinn et al., 2011) grâce à leur aptitude à échapper au système immunitaire de l'hôte atteint par la formation d'un embole septique suite à l'action de la coagulase sur le fibrinogène. Les *Staphylocoques* à coagulase - comprennent peu de souches pathogènes (Von Eiff et al.,2002 ; Blaiotti et al.,2004).

I.3. Caractères morphologiques :

Les *Staphylocoques* sont des cocci gram + de 0.5 µm à 1µm de diamètre (Robert-Koch, 1870; Louis Pasteur, 1880).Ce sont des bactéries immobiles, non sporulées, non capsulées, donc très résistantes dans le milieu extérieur. Elles sont disposées en amas et sont de caractère oxydase -, catalase +, ce qui les distingue des *Streptocoques* qui eux sont catalase -.

Les *Staphylocoques aureus* sont des bactéries coagulase + et mannitol + (Couture, 1990 ; Guiraud et Rosec, 2004), thermosensibles (température de croissance comprise entre 6°c et 46°c, avec un optimum de 37°c), neutrophiles (PH compris entre 4 et 9,8). Quand ils sont présent dans l'aliment, les *Staphylocoques aureus* tolèrent une AW réduite à 0,83 donc survivent dans les aliments déshydratés et par conséquent résistent assez bien à la conservation par déshydratation. Par contre, ils ne supportent pas la compétition et leur pathogénicité peut être inhibée par une flore compétitive.

I.4. Caractères culturaux et biochimiques :

Par leur caractère aéro-anaérobique facultatif, les *Staphylocoques aureus* ont la capacité de se développer en aérobiose dans la plupart des milieux utilisés en laboratoire microbiologique. Cependant, le milieu sélectif pour ces bactéries reste le milieu de Chapman qui met en évidence tous les caractères culturaux de la souche bactérienne. Après 24 heures d'incubation à 37°c les *Staphylocoques aureus* donnent des colonies rondes, lisses et opaques d'un diamètre compris entre 2 mm et 4 mm (Ananthanarayan et Paniker, 2006). Deux autres faits caractérisent les colonies de *Staphylocoque aureus* : la coloration jaune dorée qu'elles prennent grâce à leur caractère mannitol + (Guiraud et Rosec, 2004) ainsi que l'apparition de zones claires en périphérie des colonies qui traduit leur caractère béta-hémolytique sur gélose au sang (Couture, 1990).

II. Habitat :

Les *Staphylocoques aureus* sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses ainsi que des cavités naturelles des animaux à sang chaud (Quinn et al., 2011). Ce sont également des bactéries ubiquitaires (Nagase et al., 2002 ; Quinn et al., 2011) présentes dans l'environnement naturel (sol, eau douce, prairies,…), de l'Homme (cuisine, électroménager,…) et des animaux (étable, nurserie, salle de traite,…).

L'habitat de cet agent pathogène explique son mode d'infection. Ainsi, la contamination peut être exogène à partir des bactéries du milieu ambiant ou endogène à partir de la flore commensale de l'hôte. Ce deuxième mode de contamination qui est le plus fréquemment décrit est conditionné par l'incapacité du système immunitaire à assurer convenablement sa fonction protectrice lors d'immunodépression, troubles métaboliques et endocriniens ou encore lors d'infections intercurrentes. En effet, les *Staphylocoques aureus* sont des bactéries saprophytes qui s'avèrent particulièrement pathogènes lors de circonstances favorables à leur développement (Le Loir et al., 2003).

III. Pathogénie :

III.1. Facteurs de virulence :

Les facteurs de virulence sont des protéines synthétisées par les souches bactériennes de *Staphylocoque aureus*. Ils servent à initier l'infection en permettant l'adhésion de la bactérie aux cellules hôtes favorisant son extension (Arvidson, 2000 ; Fauchere, 2002 ; Hiron, 2007). Ils sont également impliqués dans la protection de la bactérie contre le système immunitaire lors de sa progression dans l'organisme.

Staphylocoque aureus produit deux sortes de facteurs de virulence : des protéines de surface essentiellement impliquées dans l'adhésion aux cellules hôtes (Stephan et al., 2006) et des facteurs de virulence solubles essentiels à l'extension de l'infection et à la protection des bactéries. Ce deuxième type comprend des toxines et des enzymes.

III.1.1. Protéines de surface :

L'adhésion des *Staphylocoques aureus* à leurs hôtes permet l'initiation du cycle de division cellulaire pour démarrer le processus d'invasion. Les bactéries se fixent par deux mécanismes; le premier est non-spécifique et se produit via des interactions de type hydrophobe. Le second, plus

spécifique fait appel aux protéines de surface. Cette fixation se fait grâce à la reconnaissance spécifique des tissus de l'hôte par ces protéines.

Les protéines de surface ou adhésines sont subdivisées en deux classes :

- **Les MSCRAMM (Microbial Surface Component RecognizingAdhesive Matrix Molecules) :**

Ces protéines partagent un ensemble de caractères structuraux : elles possèdent un motif consensus LPXTG pour s'ancrer à la paroi bactérienne par l'intermédiaire d'une réaction de transpeptidation et un peptidesignale en région N-terminale qui leur permet de s'adresser vers la membrane plasmique (Foster et Hook, 1998). Cinq groupes de protéines de surface ont été décrits au niveau moléculaire : Cna, Spa, FnBP, Clf, EbPS.

Protéine A (Spa) : protéine de 42 KDa, cette entité est présente chez 90 % des souches cliniques de *Staphylocoque aureus*. Elle est sécrétée ou reste liée au peptidoglycane. Cette adhésine représente la protéine de surface majeure des *staphylocoques aureus* et joue un rôle primordial dans la virulence bactérienne (Sutra et Poutrel,1994). En effet, la protéine A s'emploie essentiellement pour contourner les défenses immunitaires. Tout d'abord cette protéine bloque le phénomène d'obsonisation de la bactérie par les polynucléaires car elle possède une affinité pour la partie constante FC des IGg (Foster., 2005, King et Wilkinson., 1981), et de ce fait contrecarre la reconnaissance spécifique des IGg. Elle joue également le rôle de super-antigène contre les LB en induisant leur prolifération de façon complètement anarchique (Kristianen et al., 1994). Cette dernière engendre selon la concentration de la protéine A soit la lyse des LB, soit l'anergie (Goodyear et al., 2006).

La protéine A affaiblit également les défenses de l'organisme par la désorganisation du système immunitaire à travers l'activation du complément et la sécrétion d'histamine. Il faut également signaler l'implication de cette protéine dans plusieurs pathologies humaines et animales, comme les endocardites infectieuses et les pneumonies (Hartleib et al., 2000).

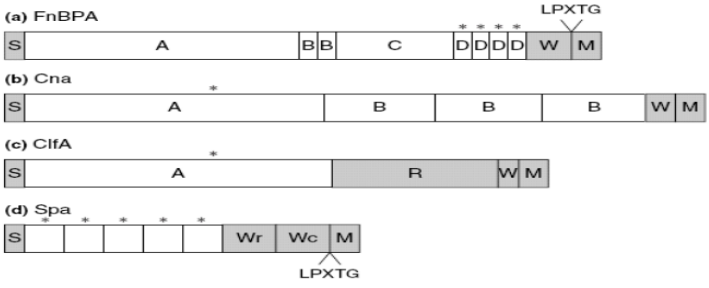


Figure 1: Organisation structurale des protéines de surface de S. aureus (Foster et al., 1998)

Pour finir, la protéine A initie via l'enzyme TACE la coupure du TNRF1, qui est ensuite larguée dans le milieu extra-cellulaire sous forme soluble. La réponse inflammatoire est de ce fait abolie. Cette dernière propriété montre l'existence d'un équilibre entre réponse pro et anti-inflammatoire (Gomez et al., 2004, Gomez et al., 2006).

Protéine de liaison au collagène (Cna) : Protéine dont le poids moléculaire varie entre 87 KDa et 135 KDa. Ce sont des constituants majeurs de la matrice extra-cellulaire. Elles sont considérées comme le site de choix pour l'ancrage des *Staphylocoques aureus* sur les tissus (Buckinham et al., 2004).

Protéine de liaison au fibrinogéne (Clf) : ou Clumping Factor :

Les ClfA et ClfB, sont deux protéines distinctes codées par deux gènes différents. Ils reconnaissent de ce fait deux régions différentes du fibrinogène (Francois et al., 1997 ; Faucher et Avril, 2002). L'interaction entre les Clf et le fibrinogène est régulée par la concentration en calcium. En effet, toute concentration calcique dépassant 1mM provoque l'inhibition de l'interaction Clf-fibrinogène.

Protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB) :

- FnBPA : Protéine de 108 KDa, le récepteur FnBPA s'attache simultanément à plusieurs sites de la partie amino-terminale de la fibronectine et constitue les épitropes de liaison (structure secondaire), ce qui permet aux bactéries de se lier aux fibronectines de façon quasi-irréversible.
- FnBPB : La partie N-terminale est homologue à 45 % avec celle de la partie FnBPA et les domaines C,D possèdent 95 % d'homologie avec ceux de la protéine FnBPA pour une fonction similaire.

Protéine de liaison à l'élastine (EbPS) : Protéine de faible poids moléculaire (25 KDa), elle permet à la bactérie d'adhérer à la surface cellulaire par sa liaison à la région N-terminale de l'élastine.

- **Les SERAM (SecretableExpandedRepertoireAdhesiveMolecules) :**

Ces protéines ne forment pas de liaisons covalentes avec la membrane bactérienne. Deux hypothèses ont été émisses par les chercheurs microbiologistes : la première signifie que ces entités forment des liaisons faibles avec les protéines membranaires et par conséquent, se détachent aisément de la paroi bactérienne, tandis que la seconde suppose que les SERAM sont sécrétées

par les souches de *Staphylocoque aureus* dans le milieu extérieur. Tout comme les MSCRAMM, les SERAM fixent divers protéines de la matrice extra-cellulaire. On peut citer comme exemples le fibrinogène, la fibronectine ou encore le collagène.

III.1.2. Facteurs de virulence solubles :

Les souches bactériennes *Staphylocoque aureus* sécrètent, au cours de la phase stationnaire de leur croissance, un groupe d'enzymes et d'exotoxines afin d'étendre l'infection initiale à divers sites de l'organisme.

- **Les toxines :**

Alpha-toxine : ou hémolysine alpha (α), est la toxine majeure chez les *Staphylocoques aureus* (Avril et al., 1992). Protéine de faible poids moléculaire (33 KDa), composée de 293 acides aminés, elle est retrouvée chez 80% à 90 % des souches humaines. C'est une protéine hydrosoluble sécrétée en fin de phase exponentielle de croissance sous forme monomérique avant de se regrouper en un heptamère lytique au niveau des membranes plasmatiques des cellules cibles (Song et al., 1996). Si les érythrocytes semblent constituer les cellules les plus vulnérables à cette hémolysine, toutes les cellules immunitaires (plaquettes, lymphocytes,…) sont aussi des cibles de l'Alpha-toxine.

Cette entité protéique forme des pores compris entre 1nm et 1,5 nm dans les membranes lipidiques et érythrocytaires, les diamètres sont plus petits dans les cellules nucléées. Ces pores provoquent la lyse érythrocytaire (hémolyse Alpha) après perturbation de l'équilibre Na+/K+.

Chez le lapin, l'Alpha-toxine se lie aux érythrocytes via deux mécanismes distincts : à de faibles concentrations, elle se lie spécifiquement via des liaisons saturables à des récepteurs cellulaires encore non-identifiés. Par contre, à des concentrations plus élevées l'Alpha-toxine traverse la bicouche lipidique de façon non-spécifique et cela indépendamment de l'ATP. En effet, l'énergie requise aux déplacements latéraux des lipides membranaires est fournie par le changement de conformation des toxines.

Beta-toxine : ou hémolysine beta (β), est présente chez 18 % des souches humaines (Fanny et al., 2008). C'est une protéine de faible poids moléculaire (39 KDa) comprenant environ 330 acides aminés. Elle est synthétisée en fin de phase exponentielle de croissance. Cette phospholipase C est douée d'activité sphingomyelase qui altère les membranes des hématies à des degrés variés selon leur teneur en lipides (sphingomyéline).

Delta-toxine : Protéine de faible poids moléculaire (3KDa) composée uniquement de 26 acides aminés, cette toxine a été isolée chez 97 % des souches de *Staphylocoque aureus* et est synthétisée par ces dernières pendant la phase stationnaire de croissance bactérienne (Fanny et al., 2008). Elle est impliquée dans la lyse des érythrocytes, organelles et des protoplastes.

Gamma-toxine : Petite protéine constituée de 26 acides aminés (Gravet et al., 2001), cette toxine fait partie de la famille des SHT. Elle est formée de deux sous-unités protéiques (Slow-eluting protéine et Fast-eluting protéine) non associées agissant en synergie pour former des canaux membranaires laissant passer des cations divalents après s'être fixées aux cellules cibles. La Gamma-toxine agit sur les neutrophiles, macrophages et les érythrocytes.

En plus des hémolysines, les souches *Staphylocoque aureus* sécrètent des toxines à deux composants.

Leucocidine : on compte deux types de leucocidines :

La LPV : Tout comme la Gamma-toxine, la LPV appartient à la famille des SHT et se compose de deux sous-unités protéiques qui s'assemblent en octaméres. Ces derniers se fixent à la surface des macrophages, neutrophiles et lymphocytes (Fanny et al., 2008) induisant leur lyse après formation de pores membranaires (Prevost et al., 1995 ; Barrio et al., 2006 ; Meyer et al., 2009). Les souches produisant la LPV sont douées d'affinité pour la membrane basale de l'épithélium cilié pulmonaire en desquamation, ce qui explique l'association de la LPV à des cas de pneumonies nécrosantes (Barcelo et al., 2009 ; Thomas et al., 2009). Ces souches sont également associées à des cas de furoncles (96 % des cas) et à des ostéomyélites.

En ce qui concerne le mode d'action de cette leucocidine, la LPV agit selon deux modes différents en relation avec sa concentration : à faible concentration, la LPV génère l'apoptose ou mort cellulaire programmée en induisant l'apparition de pores dans les membranes mitochondriales. Tandis qu'à plus forte concentration, cette protéine va plutôt induire la nécrose cellulaire par l'activation des canaux calciques provoquant une fuite osmotique dans le cytosol (Genestier et al., 2005). Enfin, il est à noter que le gène codant pour la LPV n'est retrouvé que chez 1% à 2 % des souches cliniques de *Staphylocoque aureus* (Peacock et al., 2002).

Leucocidine LUKE-D : contrairement à la LPV, le gène codant pour la leucocidine LUKE-D est retrouvé chez pas moins de 90 % des souches bactériennes de *Staphylocoque aureus* et s'exprime chez le tiers de ces souches. La leucocidine LUKE-D a été isolée chez 75 % des souches de *Staphylocoque aureus* responsables d'impétigo bulleux et chez 90 % des souches produisant une entérotoxine associée à une diarrhée poste antibiotique.

Enterotoxines Staphylococciques : Ce sont des éxoprotéines pyrogènes de faible poids moléculaire (22KDa à 29KDa), hautement toxiques, produites dans les aliments par les souches coagulase positif provoquant des syndromes gastriques apyrétiques. La nomenclature des entérotoxines Staphylococciques est régie par un code strict :

-Les toxines de type SEA, SEB, SEC, SED, et SEF représentent les entérotoxines Staphylococciques classiques. Elles sont impliquées dans de nombreux cas d'intoxications alimentaires (Jones et Kahn 1986 ; Betley et Mekalanos 1988 ; Couch et al., 1988 ; Bayles et Landolo 1989 ; Dingue et al., 2000). Ces entérotoxines sont douées d'activités super-antigéniques et émétiques.

-Le type SEF également connu sous la dénomination TssT1 est classé séparément des entérotoxines précédemment citées compte tenu de l'absence d'activité émétique chez ce type de toxine (Negase et al., 2002).

La famille des éxoprotéines pyrogéniques possède une double action super antigénique et émétique qui correspond à deux fonctions bien distinctes l'une de l'autre, et sont localisées sur deux domaines différents de la protéine. Néanmoins, il existe une forte corrélation entre eux car il a été démontré lors de mutations génétiques que la perte de l'action émétique s'accompagne fréquemment de la perte de l'activité super antigénique (Nehal et al., 2010).

- **Enzymes :**

En plus des toxines, les souches bactériennes *Staphylocoque aureus* ont la capacité de sécréter un groupe d'enzymes facilitant leur propagation dans l'organisme atteint (Ferron, 1984 ; Dinges et al.,2000). La majorité de ces enzymes permettent l'extension de l'infection en facilitant l'acheminement de la bactérie dans l'organisme après lyse des différentes barrières tissulaires, mais aussi la résistance antibactérienne.

Les Protéases : les souches bactériennes *Staphylocoque aureus* possèdent plusieurs protéases à l'instar de la protéase V8 et de l'auréolysine. Ces molécules servent non seulement au remodelage de la membrane bactérienne, mais sont également impliquées dans la lutte contre la réponse immunitaire de l'hôte en dégradant les chaines lourdes des immunoglobulines.

-Protéase V8 : ou la serine protéase SspA, qui est impliquée dans la dégradation de la protéine A ainsi que des protéines de liaison au fibrinogène en fin de phase exponentielle de croissance.

-L'auréolysine : en plus de l'existence d'analogie avec la fonction dégradante de la Protéase V8, l'auréolysine catalyse l'activation d'autres protéases en clivant leurs précurseurs au niveau de sites

spécifiques (Mc Aleese et al ., 2001 ; Rice et al., 2001) ce qui montre l'interdépendance dans l'activation des différentes protéases.

Les Lipases : douées d'un rôle protecteur de la bactérie contre l'apoptose en détruisant les acides gras bactéricides potentiellement produits par l'hôte infesté (Kapral et al.,1992), les lipases favorisent également la pénétration des barrières cutanéo-muqueuses et la propagation bactérienne via la désorganisation des acides gras de la peau (Long et al., 1992).

La Coagulase : joue un rôle direct dans la protection de la bactérie contre toute réponse immunitaire. La coagulase est une protéine Staphylococcique permettant aux souches pathogènes d'échapper à la phagocytose après transformation du fibrinogène en fibrine et sa fixation au corps bactérien formant ainsi une coque de fibrine protectrice ou embole septique entourant la bactérie. La coagulase est considérée comme l'un des facteurs de virulence majeurs permettant d'identifier les souches pathogènes de *Staphylocoque aureus*.

La Staphylokinase : après passage de la vague immunitaire, une autre enzyme Staphylococcique joue un rôle déterminant dans la relocalisation secondaire de la bactérie en disloquant l'embole septique par l'intermédiaire de la plasmine (la Staphylokinase active le Plasminogéne en Plasmine).

III.2. Régulation génétique de l'expression des Facteurs de virulence :

Les facteurs de virulence Staphylococciques ont des fonctions bien définies à des moments précis. Ils sont de ce fait exprimés en fonction du stade d'infection permettant aux bactéries de s'adapter aux conditions environnementales.

La régulation de l'expression de ces facteurs se fait temporairement via un réseau complexe de régulation impliquant un système à deux composants, des régulateurs de la transcription et le facteur stress.

III.2.1. Systéme à deux composants :

Connu également sous le nom d'accessory gene regulator ou agr, le locus agr est constitué des gènes : agrA, agrB, agrC, agrD et hld codant deux transcrits RNA II et RNA III, eux-mêmes initiés par deux promoteurs distincts P2 et P3 : la RNA II code pour agrA, agrB, agrC et agrD qui sont nécessaires à la transcription de P2 et à l'activation de P3 tandis que la RNA III active les éxoprotéines et inhibe les protéines de surface (Wolz et al., 2000).

Le locus agr est régulé via deux voies : la première voie se fait par l'intermédiaire des promoteurs P2 et P3 qui permettent respectivement l'auto-activation de la transcription de RNA II et RNA III, l'autre voie plus complexe se déroule via la phosphorylation de TRAP qui se lie à la SVrA qui est

une molécule membranaire de la cellule bactérienne. La phosphorylation de la TRAP se fait par l'intermédiaire de la RAP.

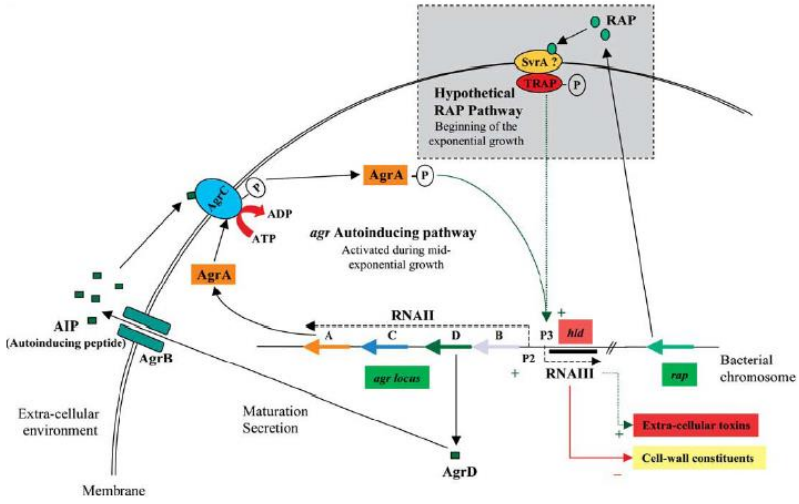


Figure 2 : Système agr et son interaction avec le système TRAP (Bronner et al., 2004)

III.2.2. Régulateur de la transcription :

Désigné par sar, ce système permet la synthèse de trois transcrits via trois promoteurs différents P1, P2 et P3. Les transcrit sarA et sarB sont exprimés en phase exponentielle de croissance et sont impliqués dans la production des protéines de surface, le transcrit sarC, exprimé en phase post-exponentielle de croissance est impliqué dans la synthèse des exoproteines.

III.2.3. Facteur stress:

Ce facteur est principalement exprimé en phase stationnaire de croissance et contrôle une trentaine de gênes lui procurant plus d'une fonction : adaptation au stress, résistance aux antibiotiques, synthèse d'ARN,… Il tient également un rôle dans la régulation des facteurs de virulence en permettant le métabolisme des gênes de virulence et des facteurs de régulations comme le sarA et l'agr.

La régulation des facteurs de virulence peut impliquer simultanément plus d'une voie précédemment citées, jouant ainsi un rôle activateur ou inhibiteur dans l'expression de ces facteurs.

III.3. Physio pathogénie :

Les facteurs de virulence sont synthétisés puis sécrétés à des périodes bien précises suivant la phase de croissance bactérienne et le stade d'infection de l'agent pathogène (Dumman et al.,2001,

Vandex et al.,1991). En début d'infection, les bactéries synthétisent les adhésines dans le souci d'initier l'atteinte après adhésion aux cellules hôtes. Après cela et lorsque les cellules s'accumulent, les éxoprotéines sont synthétisées au profit des protéines de surface. Cette réorganisation permet la dispersion de la bactérie dans l'hôte et son extension en infiltrant d'autres sites d'infection.

Les îlots de pathogénicité staphylococciques sont des sites chromosomiques dynamiques favorisant les transferts génétiques horizontaux inter-bactériens, expliquant les capacités d'adaptation des souches staphylococciques aux variations environnementales.

IV. Épidémiologie :

IV.1. Portage :

Les *Staphylocoques aureus* sont des bactéries qui colonisent la peau et les différentes muqueuses de l'organisme avec une plus grande fréquence chez les jeunes animaux. Les fosses nasales antérieures restent cependant le site de portage le plus fréquent (Quinn et al., 2011). D'autres sites réservoirs ont été identifiés à l'image du derme, du périnée, des creux axillaires, du pharynx, de la gorge ou encore du tractus uro-génital. La présence de la bactérie dans ces localisations accompagne généralement le portage nasal.

IV.2. Résistance :

Vue la large palette d'outils de résistance qu'ils possèdent, les *Staphylocoques aureus* sont extrêmement résistants dans l'organisme. En effet ces bactéries ont la capacité d'échapper de par leur localisation nasale ou après réduction de la charge négative de leur membrane cellulaire aux peptides antigénique cationiques. Ils utilisent également leur peptidoglycane-O-acetyltransférase contre les lysozymes et leur protéine A pour inactiver les IgG en se fixant sur leur région FC. Il a également été démontré que les alpha-défensines (HPN1,2,3) et les béta-défensines (HBD2), qui augmentent dans les jetages nasales lors d'infections Staphylococciques, ne jouent pas leur rôle bactéricide. Cela prouve le dérèglement immunitaire causé par les bactéries.

IV.3. Facteurs de risque :

Un ensemble d'études et d'expérimentations a démontré que les atteintes staphylococciques étaient conditionnées par deux grands groupes de facteurs à risque. En effet, il existe des facteurs socio-économiques comprenant la promiscuité, le manque de soins, les conditions d'hygiène défavorables, les habitats collectifs,…, mais aussi des facteurs comportementaux comme l'usage de matériel septique lors de chirurgie et de soins, le contacts étroits entre animaux lors

de surpopulation…D'autres facteurs à risque ont été identifiés comme la race, le sexe avec une plus grande sensibilité chez les mâles ainsi que différentes circonstances pathologiques et médicales comme le diabète, les antécédents de dermatoses et la dialyse (hémodialyse ou dialyse péritonéale dans le traitement des pathologies rénales chez les carnivores domestiques).

IV.4. Transmission :

Les contacts directs entre individus sont probablement la voie majeure de transmission des *Staphylocoques aureus*. Il existe également une transmission aérienne entre individus saints et infestés. Dans ce sens, on enregistre une plus grande fréquence d'excrétion nasale de la bactérie chez les individus atteints de rhinite Staphylococcique.

Une transmission indirecte par l'intermédiaire d'objets inanimés a également été démontrée, notamment en chirurgie où l'on enregistre fréquemment des atteintes staphylococciques postopératoires.

V. Manifestations cliniques :

V.1. Carnivores domestiques :

Staphylococcie cutané : Suppurations des follicules pileux ou placards rougeâtres creusés de sillons traduisant une pyodermite végétant. Ce sont des complications très fréquentes d'urticaire non traité, surtout chez les races à poils longs. Les formes généralisées à la tête, membres ou encore le pourtour de l'anus sont souvent incurables.

Otites infectieuses : Les chiots présentent le plus souvent la forme aigue avec sécrétions purulentes abondantes jaune brune et une légère irritation du conduit auditif. Quand cette forme est négligée elle évolue vers la chronicité avec des manifestations plus discrètes.

Pyodermites : Les pyodermites primaires des carnivores domestiques sont classées en quatre groupes : folliculite, impétigo, furonculose et hydradénite suppurée. Elles touchent le plus souvent les espèces à poils court dans les régions à peau mince et les zones de friction.

Hyperplasie endométriale kystique : Fait suite à un déséquilibre endocrinien chronique chez les animaux de plus de trois ans. L'utérus est hypertrophié, avec amincissement de la paroi et exsudation.

Sur le plan clinique, on observe un abdomen pendant, une vulve gonflée avec présence d'écoulements, polyurie et polydipsie. En phase terminale, l'animal devient déprimé avec des épisodes vomitifs périodiques.

V.2. Espèces aviaires :

Atteinte articulaire : Le plus souvent des arthrites, périarthrites et des synovites avec hypertrophie des articulations et de l'exsuda inflammatoire (ostéomyélite). Dans les élevages industriels de poulets de chair, on observe fréquemment des boiteries qui traduisent l'atteinte de la moelle épinière lors de spondylarthrite ou alors la présence d'abcès plantaires.

Septicémie : Lors d'atteintes staphylococciques, une septicémie s'installe très fréquemment chez le poulet et la dinde, se traduisant macroscopiquement par la nécrose et la congestion de plusieurs organes internes tels que le foie, la rate, les poumons… Seront observées des boiteries unies ou bilatérales, un plumage ébouriffé, il y a également de la fièvre suivie parfois de dépressions conduisant à la mort. Chez les oiseaux qui survivent à la maladie, on notera des articulations enflées et une réticence au déplacement.

Omphalite : Ces infections causent des pertes économiques considérables dans les élevages industriels de poulets de chair (Zhou et al., 2007). Elles se manifestent par l'augmentation du taux de mortalité les premiers jours après l'éclosion, les poussins sont humides et les sacs vitellins sont hypertrophiés. Les mauvaises conditions d'hygiène et l'immaturité du système immunitaire ont été pointées du doigt (Skeeles, 1991). D'un autre côté, on a relevé une possible transmission verticale des adultes vers leur progéniture (Devriese, 1980).

Dermatite gangréneuse : Ces lésions se développent sur les extrémités des ailes, elles compliquent des traumatismes (Butterworth et al., 1999).

V.3. Espèce Bovine :

Abcès : Sont des affections localisées, d'apparition lente et progressive aboutissant à une collection suppurée, délimitée, réunissant toutes les caractéristiques d'une inflammation aigue. L'espèce bovine est prédisposée à ce genre d'affections en particulier les abcès hépatiques du fait que cet organe constitue l'abouchement de différentes sources sanguines (artère hépatique, système port, veine ombilicale du fœtus et du nouveau-né), les omphalo-phlébites, par exemple, constituent une cause d'abcès hépatique chez le jeune veau.

Staphylococcies cutanées : Infections récurrentes du revêtement cutané évoluant de manière enzotique ou sporadique dans un cheptel bovin. Cette lésion est due à la prolifération

de *Staphylocoques aureus* après pénétration de la peau et vient le plus souvent compliquer un traumatisme cutané en présence de facteurs sanitaires et hygiéniques prédisposant (mauvaise hygiène de l'étable et de l'animal ainsi qu'un mauvais état général), provoquant par conséquent, une folliculite et la diffusion de l'infection dans le derme.

Le diagnostic des staphylococcies cutanées se fait sur la base de la symptomatologie assez caractéristique et via la localisation des lésions. Une atteinte primaire entraine l'apparition de papules et de pustules folliculaires sans répercussion sur l'état général et les performances de l'animal touché, puis évolue dans un second temps pour laisser place à des fistules, ulcères, croutes avec dépilation.

Mammites : Les *Staphylocoques aureus* sont généralement incriminés dans les formes sub-cliniques discrètes (Jablonsky et Bohach, 1997) et c'est l'analyse du lait provenant du ou des trayons atteints qui oriente le diagnostic (hyperleucocytose, examen bactériologique positif à Staphylocoque doré, modification des propriétés chimiques du lait).

L'origine de la flore vulnérante peut être exogène, provenant de la litière souillée par la flore ubiquiste ou des mains du trayeur (atteintes de lésions staphylococciques ou simple vecteur mécanique entre trayon touché et sain). Elle peut également être endogène, provenant du réservoir mammaire de la bactérie ou suite à l'évolution d'une Staphylococcie cutanée chez la vache. Dans les deux cas on remarque une colonisation du canal du trayon avec multiplication bactérienne engendrant la symptomatologie précédemment évoquée.

V.4. Homme :

Chez l'homme, les souches bactériennes *Staphylocoque aureus* sont à l'origine de plusieurs types d'infections à l'image des lésions cutanées ou Staphylococcies, des inflammations ou encore des intoxications alimentaires, avec possibilité de passage dans le torrent sanguin soit par l'extension directe d'une infection superficielle soit par la diffusion sanguine du germe.

Manifestations suppurées : Les cellulites regroupent une large palette d'infections cutanées différentes selon la nature de la structure anatomique atteinte. On citera la dermo-hypodermite bactérienne (DHB) dont la distinction avec l'érysipèle n'est pas toujours évidente, la dermo-hypodermite bactérienne nécrosante (DHBN) très proche des fasciites nécrosantes (FN) du point de vue clinique. On citera également les dermo-épidermites microbiennes et les dermo-hypodermites non infectieuses comme la cellulite à éosinophilie de Wells, et également les myosites et les gangrènes infectieuses.

D'autres atteintes suppurées d'origine Staphylococcique sont décrites chez l'homme à l'image des impétigos, furoncles, abcès, endocardites (Lowy, 1998),… venant le plus souvent surinfecter des lésions ou traumatismes existant préalablement chez l'hôte atteint.

Manifestations digestives : Ces intoxinations sont dues à l'entérotoxine Staphylococcique et non à la bactérie elle-même. En effet la présence d'une entérotoxine préformée dans un aliment peut être à l'origine d'intoxication alimentaire (Mc Cormick et al., 2001 ;Le Loir et al., 2003) et se traduit cliniquement par un syndrome gastrique apyrétique. En effet toute denrée alimentaire est susceptible d'abriter des souches à *Staphylocoque aureus* et si ces dernières trouvent en l'aliment le biotope propice à leur accroissement, elles se développeront et entameront leur toxinogénése. La dose toxique de l'entérotoxine Staphylococcique est extrêmement infime (0,1µg à1µg/kg d'aliment) expliquant la fréquence des atteintes enregistrées cher l'Homme. Un individu consommant l'entérotoxine présentera un polymorphisme symptomatique avec des vomissements, des diarrhées, des coliques ainsi que des manifestations nerveuses (nausées, vertiges, céphalées). Ce syndrome peut évoluer en choc hypovolémique due à la déshydratation provoquée par la perte importante de liquides.

Seules les souches Staphylococciques coagulase positif ont la capacité d'induire ce genre de TIAC.

Chapitre 2 : Antibiotiques et antibiorésistance bactérienne

I. Définition :

Du grec : Anti = contre ; et Bio = la vie (ce qui s'oppose à la vie).

« Substance d'origine naturelle, produite par des micro-organismes qui à très faible concentration a le pouvoir d'inhiber la croissance, voire de détruire les bactéries ou d'autres micro-organismes » (Waksman, 1944).

« Composé chimique élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certaines cellules des êtres pluricellulaires » (Turpin et Velu, 1957).

La définition donnée par Waksman limitait les antibiotiques à des molécules naturelles, chose qui sera par la suite controversée. En effet, il a été démontré que les antibiotiques étaient des substances chimiques à fort coefficient chimio-thérapeutique et à toxicité sélective, naturellement synthétisées

par des micro-organismes, champignons ou bactéries afin d'éliminer les bactéries concurrentes dans le biotope mais également des substances synthétiques ou semi-synthétiques développées à partir de molécules naturelles. Les antibiotiques agissent de deux manières différentes ; soit en inhibant les bactéries spécifiques à leur action et donc ont un effet bactéricide soit en bloquant la croissance bactérienne et sont dans ce cas bactériostatiques. Les antibiotiques agissent de manière spécifique et à faible concentration (de l'ordre du microgramme) en bloquant une des étapes primordiales au développement bactérien (synthèse protéique, synthèse d'acides nucléiques,…) sans affecter l'hôte infesté, à condition de respecter les doses thérapeutiques. Les antibiotiques actifs sur un plus ou moins grand nombre de bactéries sont dits « à large spectre », ils sont utilisés généralement lors de diagnostics approximatifs. Par contre les antibiotiques spécifiques à une seule souche bactérienne sont dits « à spectre réduit » et sont utilisés par les cliniciens en cas de diagnostic de certitude.

Les antibiotiques sont des molécules actives uniquement sur les bactéries et non sur les virus. En effet, ils n'accélèrent pas la guérison et ne protègent nullement contre l'infection virale. En cas de maladies virales le rétablissement se fait par lui-même et le traitement se limite à un traitement symptomatique.

L'introduction des antibiotiques après la seconde guerre mondiale est considérée comme le plus grand progrès thérapeutique du vingtième siècle. Fait qui a permis la hausse de l'espérance de vie de dix ans, mais l'utilisation démesurée de ce « remède miracle » va engendrer au fil des années des phénomènes d'antibiorésistances (Fleming, 1945) expliquant ainsi l'utilisation majoritaire d'antibiotiques synthétiques qui réduisent ces problèmes.

II. Historique :

-1857 : Louis Pasteur communique son « Mémoire sur la formation lactique ».

-1875 : Cohn utilise pour la première fois la « Classification Bascillus » dans la classification bactérienne.

-1879 :Neisser attribue la blennorragie à un microbe.

-1880 : Louis Pasteur se sert d'un agent pathogène atténué afin d'immuniser contre les maladies causées par ces derniers.

-1886 : Theobold Smith prouve qu'un micro-organisme ne doit pas nécessairement être viable pour exprimer son rôle protecteur.

-1890 : Von behring et Kitasato mettent en évidence la présence d'antitoxines dans le sang de personnes à la suite d'un rétablissement d'un épisode de diphtérie.

-1915 : Twort fait la découverte des bactériophages.

Cette succession de découvertes pose les bases de la médecine moderne. En effet l'acceptation de la « Théorie desgermes » va orienter les scientifiques et les cliniciens vers deux voies bien distinctes. La première voie préconise la stimulation des défenses naturelles de manière directe ou indirecte (vaccins et sérums) dans un but préventif ; la seconde voie stipule l'usage de molécules étrangères à l'organisme humain et animal dans un but curatif contre les agents infectieux. Cette seconde voie allait permettre quelques années plus tard la découverte des premiers antibiotiques.

Les premières expérimentations ont été laborieuses. En 1889, le chercheur allemand Rudolf Emmerich a été le premier à effectuer des essais cliniques sur une substance antibiotique, la pyocyanase, molécule aux effets destructeurs sur un certain nombre de bactéries, notamment celles de la fièvre typhoïde, de la diphtérie et de la peste. Mais la toxicité de cette substance ainsi que son instabilité freinaient les recherches. Le médicament a été par la suite limité aux usages externes dans le traitement des dermatoses. On peut également citer le cas de la salvarsan qui a été découverte quelques années plus tard par Paul Ehrilch. Les expérimentations ont été interrompues en raison de sa toxicité et de ces effets secondaires.

La Pénicilline : En 1887, Ernest Duchesne remarque « un pouvoir antibactérien » chez les moisissures du genre Penicillium. Il envisage même la possibilité d'utiliser ces moisissures à des fins thérapeutiques mais ces suppositions n'ont jamais été prouvées. Il faudra attendre près de quarante ans pour voir ces études relancées par le docteur Alexandre Fleming (1928, Hôpital Sainte-Marie de Londres) qui remarque par hasard lors d'expérimentations menées sur les souches *Staphylocoques aureus* que les colonies de ces dernières étaient meurtries en boite de pétrie lors de contacts avec les moisissures à Penicillium. Il a été de ce fait le premier à publier un article sur l'action antibactérienne de la pénicilline. Quelques années plus tard et sous l'impulsion des travaux de Dubos concernant «l'Antagonisme bactérien », le trio Howard Florey, Ernst Chain et Norman Heatley a réussi à produire et à purifier la pénicilline prouvant ainsi ses vertus médicinales. Apres la deuxième Guerre mondiale, la pénicilline a été déplacée aux Etats Unis d'Amérique où elle continua à faire l'objet de recherches dans une optique de développement.

La Streptomycine : Produite dans le sol par le *Streptocoque mycesgriseus*, elle a été découverte à la fin de la Deuxième Guerre mondiale par Waksman (1944). Elle s'est révélée particulièrement efficace dans le traitement de la tuberculose. Elle est également préconisée en cas de méningite.

La Néomycine : L'utilisation excessive et anarchique de la Streptomycine a conduit à l'apparition de phénomènes d'antibiorésistances qui se traduisait par l'inefficacité du traitement chez la majorité des individus atteints. Ce fait a poussé les microbiologistes à réfléchir à une alternative, c'est ainsi qu'apparut la Néomycine. Très proche de la Streptomycine et présentantune certaine analogie fonctionnelle avec cette dernière.

Ainsi « l'industrie antibiotique » était lancée, ce qui conduira, par la suite à l'apparition de molécules de synthèse et de semi-synthèse pour faire face à la demande croissante d'antibiotiques. Tout cela conduira à l'émergence d'antibiorésistance envers les molécules les plus employées en médecine humaine et vétérinaire.

III. Les familles d'antibiotiques :

Les antibiotiques se répartissent en plusieurs familles en fonction de plusieurs critères (origine, mode d'action, spectre d'action,…). Parmi ces familles, nous citeront les plus importantes et les plus fréquemment utilisées : les béta-lactamines, les cyclines, les aminosides, les macrolides, les quinolones et les polypeptides.

III.1. Les béta-lactamines :

Ces molécules possèdent un cycle béta-lactane dans leur structure chimique. En fonction de l'hétérocycle associé à ce cycle, on distingue les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénems et les monobactames. De plus, en fonction des chaines latérales R1 et/ou R2, il existe plusieurs types de pénicillines : la pénicilline G, la pénicilline V, les pénicillines M, les carboxypénicillines, les acyluréidopénicillines, ainsi que plusieurs types de céphalosporines de première, seconde et troisième génération.

III.1.1. Les Pénicillines :

Sont considérées comme les plus anciennes molécules d'antibiotique (Fleming, 1929). Elles sont largement utilisées dans le traitement des infections des poumons, la bouche, le nez, la gorge et des oreilles ainsi que lors d'affections digestives, urinaires, génitales, gingivales ou dentaires. Ces antibiotiques sont autorisés chez la femelle gestante ou allaitante et présentent des effets indésirables réduits à l'image de réactions allergiques (dans 5 % des cas), des diarrhées ou encore une toxicité digestive et rénale.

Les pénicillines se divisent en plusieurs catégories selon leur spectre d'action et peuvent également être sous forme d'associations. En effet, l'Augmentin associe une Pénicilline A

(Amoxicilline) à l'acide clavulanique qui est inhibiteur de la béta-lactamase (substance élaborée par certaines bactéries, engendrant une antibiorésistance par la destruction des béta-lactamines). Les Pénicillines sont injectables ou administrées en per os. Elles sont douées d'activité bactéricide en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.

-Molécules : Acide clavulanique, Ampicilline, Pénicilline G, Pénicilline V, Piperacilline.

III.1.2. Les Céphalosporines :

Analogues de la Pénicilline dans son mécanisme d'action, ces molécules sont utilisées pour traiter le même type d'infections. Elles sont également utilisables pendant la gestation et l'allaitement et peuvent tout comme les pénicillines provoquer des allergies. L'administration se fait en per os, la voie injectable est réservée à un usage hospitalier. Bactéricides, ils agissent également en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne, ce qui a pour effet de fragiliser la bactérie la rendant extrêmement sensible aux différents paramètres de son biotope.

-Molécules : -Première génération : Céfaclor, Cefazoline.

-Deuxième génération : Céfamandole, Céfurosine.

-Troisième génération : Céfisine, Céfapodoxime, Céfotaxime, Ceftriaxone.

III.2. Les Cyclines :

Ou Tétracyclines, sont des molécules possédant quatre cycles accolés. Ces substances ont la capacité de pénétrer les cellules eucaryotes et sont donc particulièrement efficaces sur les parasites intracellulaires. Elles sont également actives sur les chlamydies et les mycoplasmes.

Indiquée dans le traitement des infections respiratoires, génitales et cutanées, l'utilisation de cette famille d'antibiotiques doit se faire avec la plus grande précaution tant la liste des effets indésirables est conséquente. Ces antibiotiques sont allergisants et présentent dans certains cas une toxicité digestive, rénale et neuronale. Les cyclines ne doivent pas être associées aux molécules de la famille des rétinoïdes en per os. Ces antibiotiques sont administrés par voie orale ou en injection locale. Ils ont des propriétés bactériostatiques par l'intermédiaire de l'inhibition de la synthèse des protéines bactériennes.

-Molécules : Doxyciline, Minocycline, Tétracycline.

III.3. Les Macrolides :

Ces molécules présentent des macrocycles associés dans la majorité des cas à des sucres neutres ou aminés. Tout comme les cyclines, elles ont la capacité de passer les barrières naturelles et sont de ce fait actives sur les germes intracellulaires, en particulier les bactéries Gram positif.

Représentant souvent une alternative aux Pénicillines, ces antibiotiques sont employés dans le traitement des même affections (nez, gorge, oreilles, bronches,…). Ils présentent des risques d'atteintes digestives ainsi que des risques d'interactions avec d'autres molécules mais sont néanmoins permis pour la plupart d'entre eux (Spiramycine) pendant la gestation. Utilisables en per os ou en injection locale, ces médicaments sont doués d'un pouvoir bactéricide via l'inhibition de la synthèse protéique bactérienne.

-Molécules : Azitromycine, Spiramycine, Erhytromycine, Roxithromycine, Clarithromycine.

III.4. Les Quinolones :

Les Quinolones sont des molécules dérivées de l'acide nalidixique. Elles sont préconisées dans plusieurs maladies infectieuses génitales, intestinales, nasales, ainsi que les atteintes de la gorge et en cas de cystites. La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait maternel explique l'interdiction d'usage de cette famille lors de gestation et durant l'allaitement. Ces médicaments peuvent également causer des tendinites et sont tout comme les Cyclines photo sensibilisants. Elles sont également inhibitrices de la gyras bactérienne empêchant la synthèse des acides nucléiques.

-Molécules : Ciprofloxacine, Levofloxacine, Moxifloxacine, Norfloxacine, Ofloxacine.

III.5. Les Aminosides :

Egalement appelées Aminoglycosides, ce sont des molécules constituées de sucres portant des fonctions amines. Actifs sur les bactéries Gram positif notamment les *Staphylocoques aureus*, ces antibiotiques sont prescrits en cas d'infections urinaires et rénales du fait de leur élimination sous forme active par les reins. Cette particularité peut s'avérer dangereuse en cas de surdosage ou lors d'insuffisance rénale du patient pouvant engendrer une toxicité des reins et de l'oreille interne. D'un autre côté, les Aminosides ne passent pas la paroi intestinale et sont par conséquence administrés uniquement par voie injectable. La voie orale se révélant complètement illusoire. Les molécules issues de cette famille d'antibiotiques agissent en ciblant les petites sous-unités ribosomiales (30s), inhibant la synthèse protéique.

-Molécules : Néomycine, Streptomycine, Tobramycine, Amikacine, Gentamicine.

IV. Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques sont des molécules qui stoppent la prolifération bactérienne en inhibant une étape primordiale de leur développement. Selon sa nature, l'antibiotique bloque soit la synthèse de la paroi bactérienne, de leurs acides nucléique, de leurs protéines,…. entravant ainsi leur survie et leur cycle de reproduction.

Tableau 2 : Différents modes d'actions des antibiotiques

Mode d'action	Antibiotiques
Inhibition de la synthèse d'acide nucléique	Quinolones
Inhibition de la synthèse protéique	Macrolides Aminosides Rifampicine
Inhibition de la synthèse membranaire	Bacitracine Colistine
Inhibition de la synthèse pariétale	Béta-lactamine Glycopeptides Fosfomycine

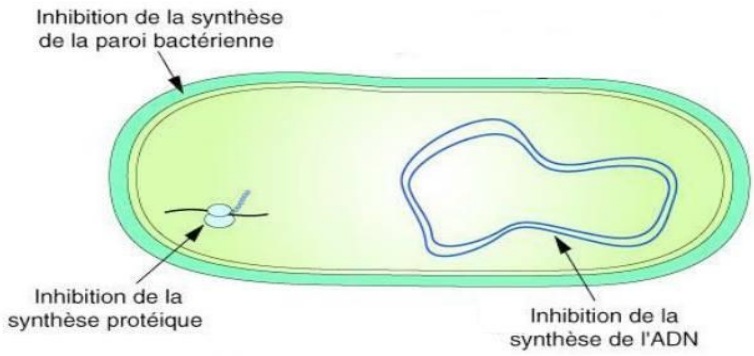


Figure3: modes d'action des antibiotiques (JeromeTOURRETE)

IV.1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne :

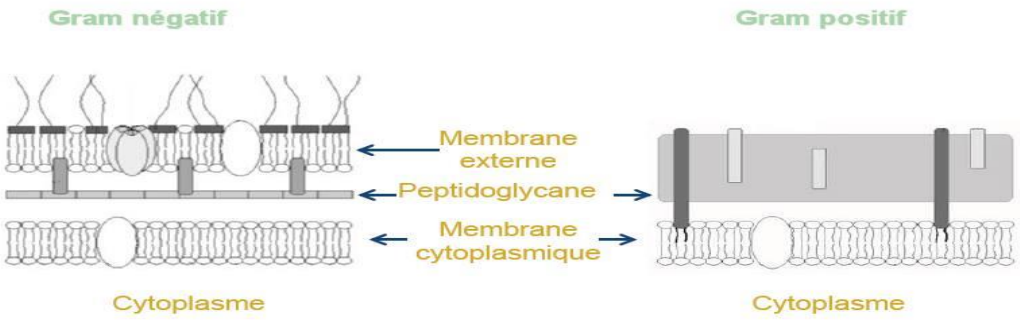


Figure 4: composantes des parois bactériennes Gram négative/Gram positive (JeromeTOURRETE)

La majorité des bactéries sont dotées de paroi protectrice. Cette paroi est une sorte de polymère composée de sucres, d'acides aminés et de peptidoglycane qui accroit durant la division bactérienne à l'aide d'une machinerie bien réglée. Le rôle des antibiotiques est d'enrayer le déroulement d'au moins une étape de cette machinerie, empêchant ainsi la synthèse de la paroi et exposant de ce fait la bactérie aux différents facteurs de stress externes (température, stress mécanique, pression osmotique,…) conduisant par la suite à la lyse cellulaire. Il est possible de maintenir ces agents infectieux sans paroi *in vitro* avec un stabilisant osmotique. Nous obtiendrons de ce fait un protoplaste. Les antibiotiques, et dans l'optique d'inhiber la synthèse pariétale bactérienne, procèdent par différentes manières : En inhibant la synthèse de précurseurs pariétaux (D-cyclosérine et Fosfomycine) ou bien en inhibant le transfert des précurseurs de la paroi sur un lipide porteur permettant leur transport à travers la membrane plasmique. Ils peuvent aussi inhiber l'insertion des unités glycaniques, précurseurs pariétaux et de la transpeptidation (Béta-lactamine, Glycopeptides).

Béta-lactamines : tout d'abord l'antibiotique possède une grande affinité avec les PLP (Protéines Liant la Pénicilline) définis par les transpéptidases et les carboxypeptidases pariétaux. Le nombre de PLP qui varie selon la bactérie et l'efficacité des béta-lactamines est en corrélation positive avec l'affinité qu'elles ont vis-à-vis de ces entités. En effet, les béta-lactamines se lient aux PLP via des liaisons covalentes engendrant l'arrêt de la croissance bactérienne. Elles peuvent également agir en s'appuyant sur des autolysines en phase de croissance bactérienne et ont de ce fait un effet bactéricide sur les agents ciblés. Les béta-lactamines pénètrent aisément les bactéries Gram positif dotées de peptidoglycane perméable, par contre elles passent à travers les porines quand il s'agit de bactéries Gram négatif. La présence de Béta-lactamases dans l'espace péri-plasmatique

de certaines bactéries représente un facteur limitant à l'action de l'antibiotique, sauf en cas d'association à l'acide clavulanique.

De cela nous pouvons conclure que l'activité des béta-lactamines dépend d'un certain nombre de paramètres qui sont : leur diffusion, leur affinité pour les PLP bactériennes et leur stabilité vis-à-vis des Béta-lactamases.

Fosfomycine : antibiotique qui se lie au résidu cycléine de la pyruvyl transférase via une liaison covalente et après pénétration dans le cytoplasme bactérien. La Fosfomycine empêche la conversion de l'UDP-N-acétyl glucosamine en acide UDP-N-acétyl muranique inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.

Glycopeptides : antibiotiques à effet bactéricide. Ces molécules agissent exclusivement sur les bactéries Gram positif (ne peuvent pas traverser la paroi des bactéries gram négatif à cause de leur grande taille). Elles forment un complexe avec les dipeptidesD-alanyl-D-alanine (précurseurs du peptidoglycane) par l'intermédiaire de liaisons covalentes. Cela a pour effet de créer un encombrement stérique inhibant ainsi plusieurs entités impliquées dans la synthèse de la paroi bactérienne (transgycosylases, transpeptidases et décarboxylases).

L'action des antibiotiques précédemment cités n'est effective que sur les bactéries en croissance. En effet, les peptidoglycanes ne sont produits qu'en phase de croissance pour s'adapter à l'augmentation du volume lors de divisions cellulaires. Ceci explique par exemple, l'inefficacité de ces produits sur les bactéries quiescentes.

IV.2. Inhibition de la synthèse membranaire :

La membrane cellulaire représente une entité primordiale chez toute bactérie, dotée d'un double rôle essentiel à la survie de ces dernières. En effet, elle permet le maintien des métabolites et des ions à l'intérieur des cellules bactériennes. Elle est également impliquée dans la stabilisation du gradient de protons qui permet l'emmagasinement de l'énergie cellulaire. Une certaine catégorie d'antibiotiques vise à rompre cet emmagasinement provoquant la dispersion de l'énergie chimiosmotique ainsi que la fuite du contenu cytoplasmique dans le milieu extracellulaire rendant la situation incompatible avec toute survie bactérienne. Ces antibiotiques agissent soit comme détergents qui désorganisent les lipides à l'image des Polymyxines, ou en formant des pores dans la membrane permettant la fuite des composés cellulaires (lipopeptides).

Polymyxines : ces molécules agissent essentiellement sur la membrane externe. Ils font office de détergents qui grâce à leur caractère amphipathique pénètrent les membranes. Ils s'incorporent aux couches lipidiques par l'intermédiaire de leur extrémité hydrophobe (acide gras), alors que

l'extrémité hydrophile (peptide cyclique) reste à l'extérieur. Cette action a pour effet la désorganisation membranaire et la mort cellulaire par voie de conséquence.

Lipopeptides : tout comme les polymyxines, les lipopeptides sont des molécules à effet bactéricide. Actives essentiellement sur les bactéries Gram positif (ne pénètre pas la membrane externe des bactéries Gram négatif), à l'image de la Daptomycine qui cause la formation de canaux ioniques engendrant une dépolarisation membranaire (fuite de Potassium), ceci après s'être fixée sur la membrane cytoplasmique des bactéries ciblées (Gram+).

IV.3. Antibiotiques actifs sur les acides nucléiques :

La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) constitue une étape littéralement vitale à la survie bactérienne car jouant un rôle fondamental dans la synthèse protéique et la division cellulaire. Les antibiotiques inhibant cette synthèse agissent en ciblant des étapes majeures de cette machinerie (la réplication, la transcription et la synthèse d'ADN) et ce en inhibant l'ARN Polymérase (Ansamycines), la synthèse d'acide folique (Sulfamides et Diaminopyridines), ou bien en inhibant l'ADN-gyrase et la Topoisomérase IV (Quinolones et Fluoroquinolones).

IV.3.1. Inhibition de la réplication :

Quinolones : l'ADN-gyrase (Topoisomérase II) est un composé impliqué dans le surenroulement chromosomique négatif primordial à la réplication de l'ADN et donc essentiel à la survie bactérienne. Les Quinolones sont considérées comme des antibiotiques bactéricides, ils se fixent sur l'ADN-gyrase (Gram négatif) ou la Topoisomérase IV (Gram positif) inhibant la réplication de l'ADN. Ils ne subissent aucune diffusion tissulaire et sont intégralement éliminés dans les urines.

Imidazolés : ces molécules bactéricides provoquent des coupures des brins d'ADN en se fixant et en oxydant ces dernières. Les Imidazolés sont actifs uniquement sur les bactéries anaérobies car ce sont les seuls agents infectieux capables de réduire le groupement NO2 de ces ATB (étape essentielle à leur activation).

Nitrofuranes : sont des antibiotiques au mode d'action similaire aux Imidazolés. Ces molécules provoquent également des coupures suivies de mutations sur les brins d'ADN enrayant ainsi leur réplication. Tout comme les Imidazolés, les Nitrofuranes ont besoin de réduire leur groupement NO2 pour être activés. Cependant, cette réduction est réalisée par les nitroréductases des bactéries aérobies. Les Nitrofuranes sont bactériostatiques ou bactéricides selon la dose employée.

IV.3.2. Inhibition de la transcription :

Ansamycines : ces antibiotiques à effet bactéricide empêchent l'initiation de la synthèse de l'ARNm après fixation sur la sous-unité béta de l'ARN Polymérase des bactéries. Elles empêchent ainsi son intervention dans la transcription.

IV.3.3. Inhibition de la synthèse :

Diaminopyrimidines : ces antibiotiques bactériostatiques sont des analogues de l'acide dihydrofolique. Ils inhibent l'action de la dihydrofolate réductase enrayant le mécanisme de synthèse d'ADN. On peut citer comme exemples les 2-4-diaminopyrimidines à l'image de la Triméthoprine.

Sulfamides : bactériostatiques, tout comme les Diaminopyrimidines, ces antibiotiques agissent en inhibant la dihydroptéroate synthétase qui est une entité primordiale à la synthèse d'ADN.

IV.4. Inhibition de la synthèse protéique :

La synthèse protéique est un phénomène essentiel à la survie bactérienne, phénomène pendant lequel l'ARN messager est traduit en protéines vitales pour la bactérie (protéines de constitution, protéines de transport, enzymes,…). Plusieurs classes d'antibiotiques exercent leur effet antibactérien en interférant avec la synthèse protéique et ce au niveau de l'une des trois étapes principales de traduction qui sont : l'initiation, l'élongation et la terminaison. L'élément central impliqué dans ce phénomène est le ribosome, son mode d'action chez les bactéries est relativement différent de celui enregistré chez les cellules eucaryotes. C'est justement cette différence qu'exploitent les antibiotiques perturbant ainsi la synthèse protéique bactérienne sans toucher au fonctionnement des cellules de l'individu traité.

- **Rappel sur la structure ribosomiale :**

Le coefficient de sédimentation des ribosomes procaryotes est de 70S, avec une sous-unité lourde 50S comportant les ARN ribosomaux (ARNr) 5S et 23S, et une sous-unité légère 30S comportant l'ARNr 16S.

IV.4.1. Action sur la sous-unité 30S du ribosome :

Aminosides : molécule à large spectre aux propriétés bactéricides, ces antibiotiques se fixent aux sous-unités 30S après pénétration de la membrane cytoplasmique grâce aux enzymes de la chaine respiratoire. Cette fixation va altérer la structure des ribosomes entrainant une mauvaise lecture de certains triplets de l'ARN messager. De cela résulte la synthèse de protéines aberrantes.

Cyclines : tout comme les Aminosides, les Cyclines pénètrent la membrane cytoplasmique. Elles sont plutôt à effet bactériostatique en inhibant la sous-unité ribosomiale 30S.

Glycylcycline : représentés par la Tigécycline qui présente une analogie avec les cyclines dans son mode d'action bactériostatique.

IV.4.2. Action sur la sous-unité 50S du ribosome :

Macrolides : inhibent également la synthèse protéique en enrayant la machinerie après fixation sur la sous-unité 50S.

Oxazolidinones : le mécanisme employé par cette classe d'antibiotiques dans l'inhibition de la synthèse protéique est unique en son genre expliquant ainsi l'absence de résistances croisées avec d'autres familles d'antibiotiques, ces produits agissent durant la phase initiale de la traduction protéique en empêchant l'assemblage des deux sous-unités ribosomiales et ce après fixation sur un site spécifique du ribosome 50S. La molécule d'Oxazolidinone la plus utilisée sur le terrain reste la Linézolide.

Acide fusidique : cet antibiotique inhibe la synthèse peptidique en stabilisant le complexe ribosome-facteur d'élongation.A faible concentration, l'Acide fusidique est bactériostatique, il devient bactéricide sur les bactéries Gram + en cas d'augmentation de la dose administrée en particulier sur l'espèce *Staphylocoque aureus*.

Phénicoles : ces antibiotiques agissent après fixation sur le site A des sous-unités lourdes 50S, ce site est proche du site de fixation des Macrolides, le résultat est quant à lui relativement similaire puisque on enregistre l'inhibition de la synthèse protéique ce qui a pour conséquence le blocage du développement bactérien (effet bactériostatique). Les Phénicoles les plus fréquemment utilisées en médecine humaine et vétérinaire sont le Chloramphénicol et le Thiamphénicol.

V. Les antibiotiques en Médecine Vétérinaire :

V.1. Antibiothérapie humaine/Antibiothérapie animale :

Il est clair que l'usage préventif et curatif d'antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire n'est pas régi par les mêmes règles. En effet, nous noteront une nette différence dans l'approche thérapeutique ainsi que dans les produits utilisés, cela s'explique bien évidement par les nombreux paramètres qui distinguent l'être humain des espèces animales.

Le premier fait marquant est que la médecine humaine traite uniquement l'espèce humaine, contrairement au vétérinaire qui est obligé pour le même type d'infection d'adapter son traitement (famille d'antibiotique, posologie, voie d'administration) en fonction de l'espèce traitée. Il y a aussi le poids corporel qui est plus ou moins variable chez l'Homme avec des variantes enfant/adulte, alors qu'il est très variable dans le règne animal avec des fourchettes parfois extrêmement larges (du gramme aux milliers de kilogrammes) contraignant le clinicien à adapter sans cesse la posologie.

La méthodologie du traitement humain se distingue également par la coopération du patient facilitant le travail du médecin qui a finalement pour seul difficulté la pose correcte du diagnostic. Le fait que les soins soient majoritairement individuels et le niveau de conscience affiché par les patients facilitent le déroulement des choses. Le vétérinaire quant à lui ne trouve pas toujours les conditions de travail adéquates pour pratiquer une thérapie antimicrobienne car les conditions d'ambiance ainsi que le manque de coopération du convalescent, mais aussi le fait que la thérapie soit souvent une thérapie de groupe, ne facilitent pas la démarche thérapeutique.

Il est également à rappeler que les médecins humains et vétérinaires aspirent au même objectif qui est la préservation de la santé publique. Si les premiers travaillent concrètement dans ce sens, les vétérinaires sont indirectement garants de la santé publique à travers la garantie d'animaux de compagnie en bonnes conditions sanitaires ainsi que des denrées alimentaires d'origine animale exemptes de toute agent pathogène ou résidu médicamenteux, prévenant l'émergence ou l'extension d'épidémies susceptibles de toucher le propriétaire ou le consommateur. Cependant, l'élément majeur qui fait que les luttes antimicrobiennes humaines et vétérinaires soient si distinctes, est le fait que la majorité des atteintes cutanées, oculaires, génitales, digestives,…soient causées par des agents pathogènes différents en fonction de l'espèce touchée. Pour citer un exemple, une otite aigue en médecine humaine incrimine dans la majorité des cas les bactéries du genre *Pseudomonas* ou l'espèce *Streptocoque intermedius*, alors qu'un écouvillonnage d'otite canine suivie d'une culture bactérienne en laboratoire révélera plutôt l'existence de *Streptocoque pneumoniae*, *Haemophilus influenza* et *Moraxellacatanhalis*.

L'ensemble de ces paramètres explique la différence d'approche ainsi que la variation des produits utilisés chez les deux classes de médecine. De ce fait, même si la plupart des antibiotiques sont à double usage humain et vétérinaire, nous noteront l'existence de produits utilisables exclusivement dans une des deux classes médicales.

V.2. Contraintes de l'usage d'antibiotiques en médecine vétérinaire :

L'usage contrôlé et méthodique des antibiotiques en médecine vétérinaire s'explique par le fait que l'antibiothérapie animale compte un ensemble de contraintes pouvant se répercuter sur la santé humaine (éleveur ou consommateur), l'une des contraintes engendrées par une antibiothérapie prolongée est l'émergence du phénomène d'antibiorésistance avec l'apparition de souches bactériennes génétiquement modifiées (acquisition de Béta-lactamase par exemple). Le fait que ces séquences chromosomiques soient inter-transmissibles participe à l'extension de ce phénomène à plus d'une souche pour la même famille d'antibiotique. Cela rend la lutte contre les infections engendrées par ces derniers délicates. L'émergence de pathogènes humains antibiorésistants issus de réservoirs animaux est un phénomène très fréquent, illustrant parfaitement l'ampleur des conséquences à long terme d'une antibiothérapie mal menée.

L'autre répercussion de l'usage inadapté et excessif d'ATB est la présence de résidus dans les denrées alimentaire destinées à la consommation humaine engendrant à long terme des phénomènes d'antibiorésistances et d'hypersensibilité chez le consommateur.

VI. Résistance bactérienne aux antibiotiques :

La résistance des bactéries aux antibiotiques est apparue très peu de temps après le début de l'usage de ces derniers. Le premier cas de résistance à la pénicilline a été enregistré sur des souches de staphylocoques (Mary Barber, 1946). De nombreuses publications font l'état de la constante évolution des phénomènes d'antibiorésistance. Les grands progrès enregistrés par la microbiologie, notamment en ce qui concerne la « morphologie » et le « métabolisme » bactériens ont permis de comprendre les mécanismes de cette résistance.

VI.1. Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque est une propriété d'espèce ou de genre bactérien, c'est donc la capacité de résister à un antibiotique pour toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien donné. Le support de cette résistance est chromosomique.

VI.2. Résistance acquise :

La résistance acquise est la capacité d'une souche bactérienne à résister à une concentration d'antibiotiques beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce bactérienne (Schwarz et Chaslus, 2001). C'est une propriété de souche, cette résistance est acquise soit par mutation chromosomique soit par acquisition de matériel génétique exogène (Perscott, 2000).

VI.2.1. Résistance par mutation chromosomique :

Ce phénomène rare est mis en cause dans une toute petite partie des résistances rencontrées en clinique. Dans la plupart des cas l'augmentation de la résistance se fait progressivement par plusieurs mutations chromosomiques successives (Demerec, 1948). Cependant, il est possible qu'une seule mutation chromosomique puisse induire une augmentation très importante de l'antibiorésistance. La diffusion de ce type de résistance est étroitement liée à la diffusion dans la nature de la souche bactérienne mutante.

VI.2.2. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène :

Contrairement à la mutation chromosomique où l'on a une augmentation par paliers de la résistance, l'acquisition de matériel génétique exogène permet l'apparition d'une augmentation brusque de la résistance. Cette acquisition de nouveaux gênes se fait par l'intermédiaire de plasmide et ce grâce à trois mécanismes : la conjugaison (Lederberg, 1946) qui peut s'effectuer entre bactéries de même espèce et de même genre, ou bien entre bactéries de genres différents. Elle a pour principe la transmission entre deux bactéries d'une copie de plasmide porteur de gênes de résistance (facteur R). La transformation (Griffith, 1928) est un autre phénomène qui a lieu généralement entre bactéries de genre proche pour permettre la recombinaison. Il a pour principe l'obtention de nouveaux gènes de résistance par le réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries. Enfin, la transduction (Lwoff, 1950) se fait par transmission de séquences d'ADN entres différents bactéries et ce par l'intermédiaire d'un virus bactériophage. Ce mécanisme n'a lieu que pour des bactéries de la même souche vue la spécificité des virus bactériophages.

VII. Mécanismes de résistance :

VII.1. Résistance par diminution de la pénétration d'un antibiotique :

Différentes stratégies bactériennes permettent la diminution de la pénétration d'un agent antibactérien comme par exemple la présence de capsule protectrice. Lors de mutation chromosomique, on peut avoir une diminution du nombre de porines ou carrément leur inactivation chromosomique, ce qui rend la bactérie beaucoup moins sensible par diminution de la diffusion des antibiotiques qui utilisent ces porines. Aussi, le passage des membranes cytoplasmique nécessite parfois des perméases, ces dernières ne sont pas fonctionnelles quand le potentiel de membrane est faible, ce qui ne permet pas aux agents antibactériens de pénétrer la bactérie.

VII.2. Résistance par augmentation de l'excrétion d'un antibiotique :

Certaines bactéries possèdent des protéines membranaires qui induisent une augmentation de l'excrétion de l'agent antibactérien et par conséquence l'augmentation de la résistance à ce dernier.

VII.3. Résistance par modification de la cible :

Lors de mutation chromosomique, on pourra avoir une modification de la cible de l'antibiotique ce qui aura pour effet de réduire l'efficacité de ce dernier vis-à-vis de la bactérie à cause d'une moindre affinité.

VII.4. Résistance par inactivation enzymatique de l'antibiotique :

Certaines bactéries synthétisent des enzymes qui peuvent réduire ou carrément annuler l'efficacité de l'agent antibactérien.

VII.5. Résistance par modification du métabolisme :

Certaines bactéries peuvent devenir résistantes en augmentant la synthèse des précurseurs enzymatiques ou en fabriquant des enzymes moins sensibles.

VIII. Evaluation de la résistance bactérienne aux antibiotiques :

La thérapie empirique qui était efficace par le passé pour le traitement de nombreuses infections est aujourd'hui inappropriée, l'apparition de résistance vis-à-vis de la majorité des agents antibactériens utilisés par les praticiens oblige ces derniers à passer par différents tests et essais *in vitro* pratiqués en laboratoire pour le choix de l'antibiotique adéquat dans le traitement. On réunit sous le terme d'AST (antimicrobial susceptibility testing) l'ensemble des méthodes utilisées pour tester la sensibilité d'un agent pathogène à un antibiotique donné. Il en existe beaucoup et le choix se fait selon plusieurs critères tels que le coût, l'aspect pratique, l'exactitude, la reproductibilité…

Sachant que l'OTE a mis en place un programme de surveillance épidémiologique international regroupant plusieurs états membres, il est important que les méthodes utilisées soient normalisées et harmonisées et ce afin de pouvoir comparer les résultats obtenus dans différentes régions. Grâce à cela, nous comprenons de mieux en mieux les facteurs qui peuvent influencer la sensibilité des différents tests, ce qui permet une amélioration constante de ces tests, aboutissant à des résultats de plus en plus précis.

VIII.1. Méthodologies des tests de sensibilité aux antibiotiques:

- Les bactéries doivent être isolées de cultures pures issues de l'échantillon testé.

- Il faut identifier avec certitude la bactérie au niveau du genre et de l'espèce.

- On doit conserver des isolats bactériens pour éventuelles analyses futures.

- Il faut que les facteurs suivant soient déterminés :

-La concentration optimale de l'inoculum.

-La concentration du milieu utilisé (bouillon/gélose).

-Le contenu de l'antibiotique dans le support (disque, comprimé…).

-La composition des solvants et diluants utilisés.

-Condition d'incubation (temps, températures, atmosphère…).

-Le nombre de concentrations testées.

-Les critères d'interprétation.

VIII.2. Choix de l'antibiotique à utiliser :

Le grand nombre d'agents antimicrobiens disponible sur le marché rend difficile le choix de celui à utiliser pour les tests de sensibilité aux antibiotiques. Cette décision revient à chaque état membre du programme. Le nombre d'antibiotiques utilisés dans les tests est limité afin de garantir la pertinence du test et aussi faciliter sa pratique et diminuer son coût. Il est néanmoins impératif que les molécules employées figurent dans la dernière version du fascicule de standardisation, autrement les résultats obtenus ne sont pas significatifs (S.Khechi-Bounar, 2010).

VIII.3. Choix de la méthode :

Essentiellement basé sur la facilité de réalisation, la flexibilité, l'automatisation/semi automatisation de la méthode, son coût, sa reproductibilité, sa précision. Elle est également modulée en fonction des microorganismes et des antibiotiques en question.

VIII.4. Tests de sensibilités :

VIII.4.1. Méthode de dilutions en bouillon et gélose :

Le but de cette méthode est de déterminer la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe visiblement la croissance bactérienne (CMI) (Jorgensen, 1997).

Dilution en Bouillon : Cette méthode de référence (Kahlmeter et al., 2006) s'appuie sur l'utilisation d'un bouillon de suspension bactérienne dont la concentration a été déterminée, auquel on rajoute des concentrations croissantes de l'antibiotique qu'on veut tester (Jorgensen, 1997 ; Rennie et al., 2008). Elle reste cependant moins flexible que les autres méthodes. En effet, il est impossible d'ajuster tels ou tels paramètres car la plupart des antibiotiques sont préparés commercialement, en plus elle est très coûteuse (équipement, molécule d'antibiotique…), ce qui rend son utilisation impossible pour certains laboratoires.

Dilution en Gélose : Cette méthode est basée sur le principe de l'ensemencement d'un inoculum bactérien sur des géloses qui contiennent des concentrations variables croissantes d'un antibiotique donné. Les résultats de cette méthode sont considérés comme les plus fiables surtout pour la détermination du CMI. Elle présente plusieurs avantages. En effet, nous avons la possibilité de tester plusieurs souches bactériennes en même temps pour peu qu'elles ne soient pas envahissantes. La semi-automatisation de la méthode est également possible, ce qui représente un avantage certain. Cependant, il existe quelques désavantages à utiliser cette méthode car ces tests sont très longs à faire, coûteux à réaliser, ajouté au fait que les boites une fois préparées doivent impérativement être utilisées dans la semaine. Et surtout, l'interprétation n'est pas toujours facile. Cette technique est surtout recommandée pour les bactéries à croissance lente.

VIII.4.2. Utilisation de bandes et bandelettes :

On peut définir le CMI par l'utilisation de bandelettes imprégnées d'antibiotiques disponibles sur le marché. Cependant, cette méthode donne souvent des résultats incohérents lors d'analyses de certaines combinaisons bactérie-agent antimicrobien. En plus, elle reste coûteuse.

VIII.4.3. Méthode de la diffusion en disque :

On utilise des disques d'antibiotiques qui sont disposés sur une gélose ensemencée par un inoculum bactérien, la diffusion des antibiotiques se fait vers la périphérie de telle manière à faire apparaitre différentes zones d'inhibitions, la mesure du diamètre de ces zones permettra de classer les bactéries en : résistantes, intermédiaires ou sensibles (Jorgensen et Ferraro, 2009). On utilise généralement le milieu Muller-Hinton. Tout comme la méthode par dilution, l'inoculum doit être standardisé, pour se faire on peut avoir recours à la photométrie. Apres ensemencement, on

dispose les différents disques d'antibiotiques sur la gélose puis on incube le tout à 37°C pendant 18H à 24H. La lecture se fait par mesure du diamètre d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse et l'interprétation grâce à des « abaques de décisions » (Annexe 1).

Cette méthode est relativement simple à réaliser, l'inconvénient majeur est qu'elle n'est pas adaptée à des bactéries à poussée lente ou nécessitant des géloses supplémentées, par défaut d'abaques. En plus, il y a le risque de passer à côté de certaines résistances qui ne s'expriment pas dans ces conditions-là (Kamagate et al., 2001).

VIII.4.4. Tendance future dans la détection de la sensibilité :

Tout laisse croire que la génétique est la prochaine étape dans la détection des sensibilités microbiennes aux antibiotiques. Plusieurs approches basées sur l'ADN sont en cours de développement, la plus récente est celle fondée sur la prédiction de phénotypes résistants. Cependant, l'apparition de ces tests génotypiques ne remet pas en cause les méthodes actuelles, au contraire, celles-ci seront encore indispensables pour détecter les nouvelles résistances dans un avenir proche.

En résumé, il existe de nombreuses techniques pour les essais *in vitro* de sensibilité aux agents antibactériens. Toutes ces techniques ont le même objectif : aider le clinicien à prédire la réaction d'un agent pathogène exposé à une antibiothérapie et de ce fait lui faciliter le choix de la molécule à utiliser. Chaque méthode est normalisée et nécessite l'utilisation de conditions et matériels tels que le milieu, le temps d'incubation…Peu importe la technique choisie, il est essentiel qu'elle soit fiable, reproductible et qu'elle donne la possibilité de comparer ces résultats avec ceux obtenus par une méthode standard.

Matériels et Méthodes

I. objectifs :

L'objectif de ce travail est d'isoler des souches de *Staphylocoque aureus* à partir de différentes espèces animales, d'évaluer le profil de résistance et de sensibilité de ces bactéries vis-à-vis d'antibiotiques utilisés en routine dans la thérapeutique vétérinaire, et de déceler d'éventuelles relations entre ces souches après réalisation d'un dendrogramme.

II. Echantillons et méthodes de prélèvements :

L'étude a été réalisée entre le mois de Janvier 2014 et Mai 2015. Les prélèvements ont été effectués sur des animaux provenant du service de chirurgie de l'ENSV Alger, du service de médecine canine de l'ENSV d'Alger, du service d'Anatomie-pathologique de l'ENSV d'Alger, de cabinets vétérinaires à Cheraga et de l'ITELV de Bab ali. Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'ENSV d'Alger.

Une fiche d'enquête a été établie pour chaque animal afin de recueillir le maximum d'information (Annexe 2).

-Prélèvement Auriculaire :

Le prélèvement est fait de façon stérile après contention de l'animal en raclant la face interne de l'oreille. Les informations relatives à l'animal sont notées sur l'écouvillon.

-Prélèvement à partir d'abcès :

Le prélèvement est effectué de manière stérile au niveau de la membrane pyogène de l'abcès afin de prélever le maximum de bactéries.

-Prélèvement cutané :

Après contention de l'animal, les contours de la lésion cutanée sont raclés à l'aide d'écouvillon. Les informations essentielles à l'étude sont notées.

III. Enrichissement et mise en culture :

III.1. Pré-enrichissement sur bouillon BHIB :

Le but de cette étape est d'augmenter le nombre de bactéries.

Figure 5 : écouvillons

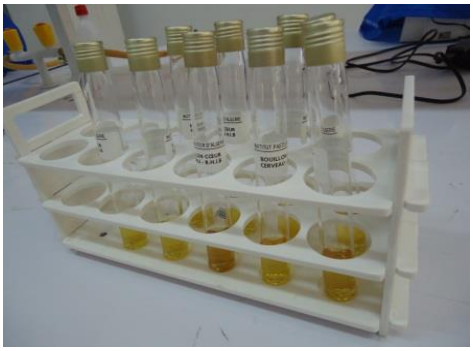


Figure 6: bouillons nutritifs BHIB

Technique :

Les écouvillons sont ensemencés de façon stérile dans du bouillon BHIB (Annexe 3). Ils sont ensuite incubés dans une étuve à 37°C pendant 18h à 24h (LE MINOR et VERON, 1982 ; PILET et al,. 1983).

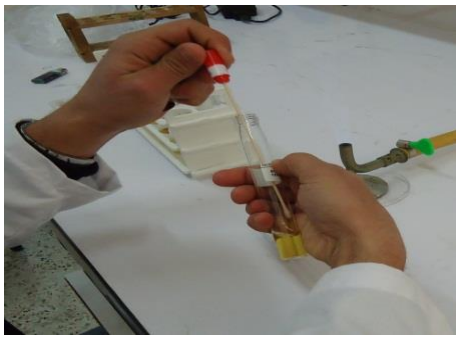


Figure 7: ensemencement dans un bouillon BHIB

Figure 8 : incubation en étuve.

III.2. Examen microscopique :

Une coloration de Gram est réalisée pour l'examen microscopique des souches isolées.

Technique :

Un frottis est préparé à partir de la suspension bactérienne (Chaala, 2013). Il est ensuite coloré selon les étapes suivantes :

- Violet de gentiane (1 min).

- Réactif de Lugol (1 min).

- Alcool à 95 % (30 sec).

- Rinçage a l'eau.

- Fuchsine (1 min).

On termine par l'observation du frottis au microscope optique (Grossissement x100) après addition d'une goutte d'huile à immersion (SINGLETON, 2005).

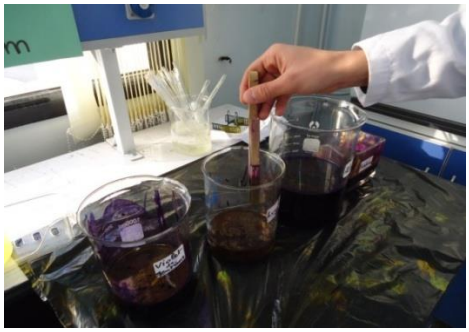


Figure 9 : coloration de Gram

Figure 10 : examen microscopique

III.3. Ensemencement sur gélose :

Le milieu de choix pour l'isolement des bactéries Gram + est le milieu Chapman (Kloos, 1999 ; Delarras, 2007).

Tableau 3 : composition du milieu Chapman

Composants	g/L
Extrait de viande	1
Peptone de caséine et de viande	10
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10
Agar	15
Rouge de phénol	0,025

pH = 7,6

Préparation : 111 g/L d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

Figure 11: gélose Chapman

Technique :

Quelques gouttes de la suspension bactérienne sont prélevées de manière stérile, à l'aide d'une anse de platine. Elles sont ensuite ensemencées sur gélose Chapman puis incubées à l'étuve pendant 18h à 24h à 37°C.

III.4. Galerie API :

La galerie API®StaphBioMerieux® est un outil standardisé d'identification de l'espèce Staphylocoque à travers vingt tests biochimiques.

Technique :

Près du bec benzen, on commence par humidifier la base de la galerie API.

Des colonies bactériennes sont prélevées à partir de boite de Pétrie, et mélangée à la solution Staph médium. La suspension et homogénéisée par passage sur vortex.

Les microtubules de la galerie sont remplis par cette suspension à l'aide de pipettes Pasteur. Pour les tests ADH et URE une anaérobiose est obtenue en rajoutant de l'huile de paraffine.

La galerie est mise en incubation à 37°C pendant 18h à 24h.

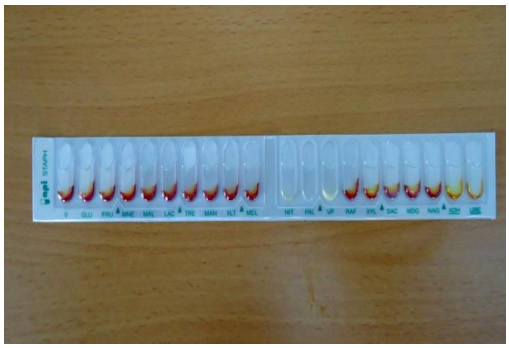


Figure 12 : Galerie API® StaphBioMerieux®

Figure 14 :Staph médium

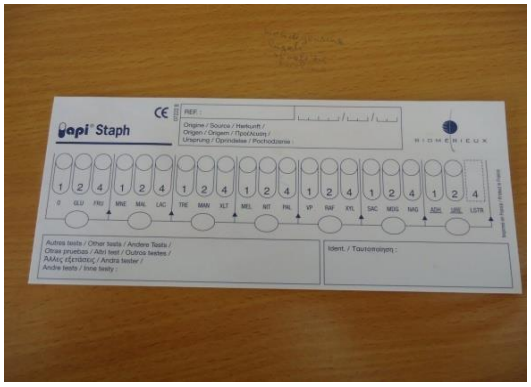


Figure 13 : chèque API® StaphBioMerieux®

L'identification se fait en convertissant les résultats obtenus en code qu'on introduit dans un inde numérique (API web® Staph) (Murray, 2003).

III.5. Réalisation d'un antibiogramme :

La sensibilité aux antibiotiques des souches *Staphylocoque aureus* isolées a été testée par la méthode de diffusion en disques sur gélose Mueller Hinton.

Tableau 4 : composition du milieu MUELLEUR HINTON

Infusion de viande de bœuf	300 ml
Peptone de caséine	17,5 g
Amidon de mais	1,5 g
Agar	10 g

pH=7,4

Préparation : 37 g/L d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C pendant 15 minutes.

Figure 15 : gélose MUELLER HINTON

Technique :

Un l'inoculum est préparé en mélangeant trois colonies dans un tube contenant 4ml d'eau physiologique. Le mélange est homogénéisé puis une dilution de 1/10 est réalisée.

Devant le bec benzen, la gélose Muller Hinton est inondée par 3 ml de la dilution précédente. Après avoir retiré l'excès (Bocquier, 2013), les disques d'antibiotiques sont déposés délicatement à l'aide d'une pince stérile (Bocquier, 2011) à la surface de la gélose.

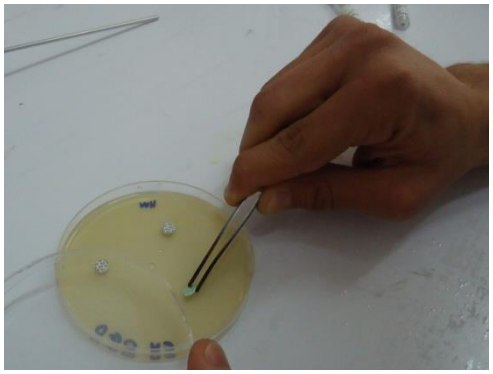


Figure 16: dépôt des disques d'antibiotiques

La lecture des résultats ce faite après incubation à 37°C pendant 18h à 24h, par mesure des diamètres des zones d'inhibitions formées autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'un pied à coulisse.

Résultats

I. Prélèvement :

Les deux tableaux ci-dessous illustrent les types de prélèvements réalisés et l'espèce animale prélevée.

Tableau 5 : Nature des prélèvements

Nature du prélèvement	Nombre de prélèvements	Pourcentage
Abcès	14	16,66%
Prélèvement auriculaire	53	63,09%
Prélèvement cutané	9	10,71%
Prélèvement à partir d'organe	6	7,14%
Pyromètre	2	2,38%
Total	84	100%

Tableau 6: Espèces animales étudiées

Espèce animale	Nombre de prélèvement	Pourcentage
Canine	49	58,33%
Féline	13	15,47%
Bovine	10	11,90%
Ovine	7	8,33%
Aviaire	3	3,57%
Lapine	2	2,38%
Totale	84	100%

II. Isolement des souches:

Un total de 30 souches de *Staphylocoque aureus* a été obtenu après la culture et l'isolement des échantillons recueillis.

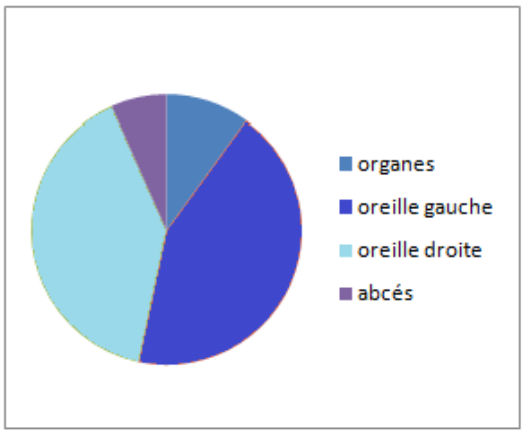
Tableau 7:Fréquence d'isolement des souches *Staphylocoque aureus*

Prélèvements	Cultures positives	Souches *Staphylocoque aureus* isolées
84	78	30
100%	92,9%	35,7%

Tableau 8: Souche de *Staphylocoque aureus* isolées

Souches	Espèces	Prélèvements	Date de l'Antibiogramme
P001	Agneau	Cœur	02/03/2014
P002	Agneau	Poumon	02/03/2014
P003	Agneau	Thymus	02/03/2014
P004	Chat	Oreille gauche	02/03/2014
P005	Chien	Oreille droite	28/04/2014
P006	Chien	Oreille droite	28/04/2014
P007	Chien	Oreille gauche	28/04/2014
P008	Chien	Oreille droite	28/04/2014
P009	Chien	Oreille gauche	28/04/2014
P010	Chien	Oreille droite	28/04/2014
P011	Chien	Oreille droite	28/04/2014
P012	Chien	Oreille gauche	28/04/2014
P013	Chien	Oreille gauche	28/04/2014
P014	Vache	Abcès cutané	05/05/2014
P015	Vache	Oreille gauche	05/05/2014
P016	Chien	Oreille droite	20/05/2014
P017	Chien	Abcès cutané	26/06/2014
P018	Chien	Oreille droite	26/06/2014
P019	Chien	Oreille gauche	26/06/2014
P020	Chien	Oreille gauche	26/06/2014
P021	Chien	Oreille gauche	11/02/2015
P022	Chien	Oreille droite	11/02/2015
P023	Chien	Oreille droite	11/02/2015
P024	Chat	Oreille gauche	11/02/2015

P025	Chien	Oreille droite	11/02/2015
P026	Chien	Oreille gauche	17/02/2015
P027	Chien	Oreille gauche	17/02/2015
P028	Chien	Oreille gauche	17/02/2015
P029	Chien	Oreille droite	17/02/2015
P030	Chien	Oreille droite	17/02/2015



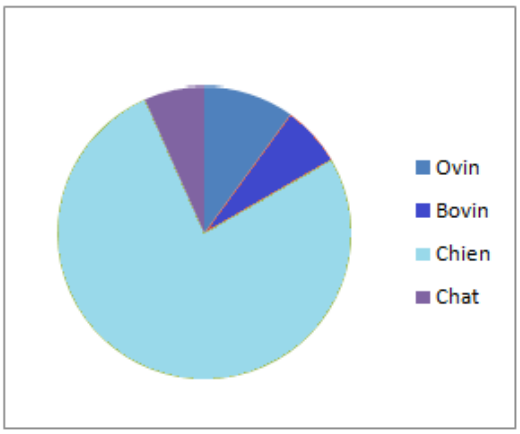


Figure 17: Type de prélèvements

Figure 18 : Espèces animales prélevées

III. Pré-enrichissement des prélèvements :

Une fois ensemencés, les bouillons BHIB ont présentés après 24heures d'incubation (37°C) un aspect trouble évocateur d'une croissance bactérienne.

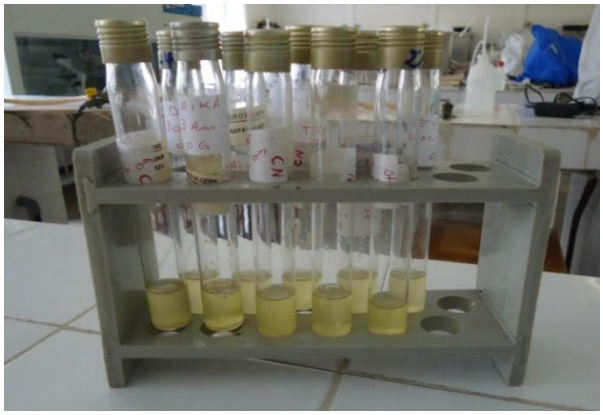


Figure 19: Bouillons BHIB après incubation

IV. Analyses bactériologiques :

IV.1. Coloration de Gram :

À l'examen microscopique, les bactéries se présentent sous la forme de coques isolées ou regroupées en grappe de raisin et /ou de chainettes avec quelque fois une présence de bacilles. Elles sont colorées en rose ou en violet, les bactéries sont identifiées comme étant Gram négatif et Gram positif respectivement.

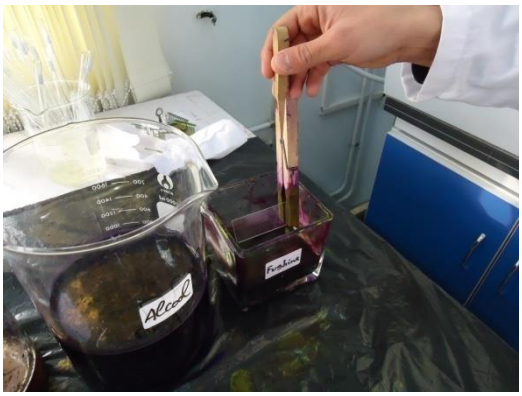


Figure 20 : Coloration de Gram

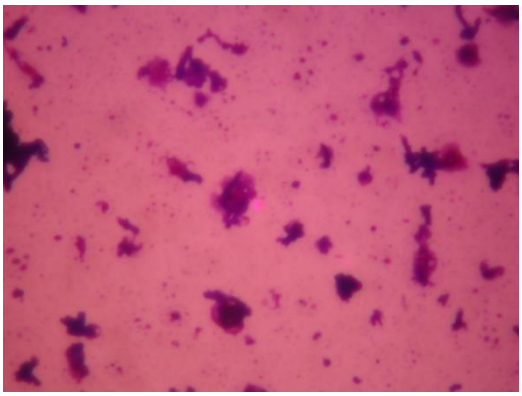


Figure 21 : Aspect microscopique

IV.2. Isolement sur milieu Chapman :

Apres incubation à 37°C pendant 24heures, les colonies de *Staphylocoque aureus* présentent un aspect lisse et opaque sur le milieu de Chapman, elles sont pigmentées et entourées d'un halo jaune.

Figure 22 : Aspect des colonies de *Staphylocoque aureus* sur milieu Chapman

IV.3. Identification biochimique par API® StaphBioMérieux® :

Des galeries API®StaphBioMérieux® ont été testées pour une caractérisation des 30 souches isolées. L'identification a été confirmée à l'aide du logiciel Api web® Staph. Les principales caractéristiques biochimiques de la souche *Staphylocoque aureus* ont été mises en évidence.

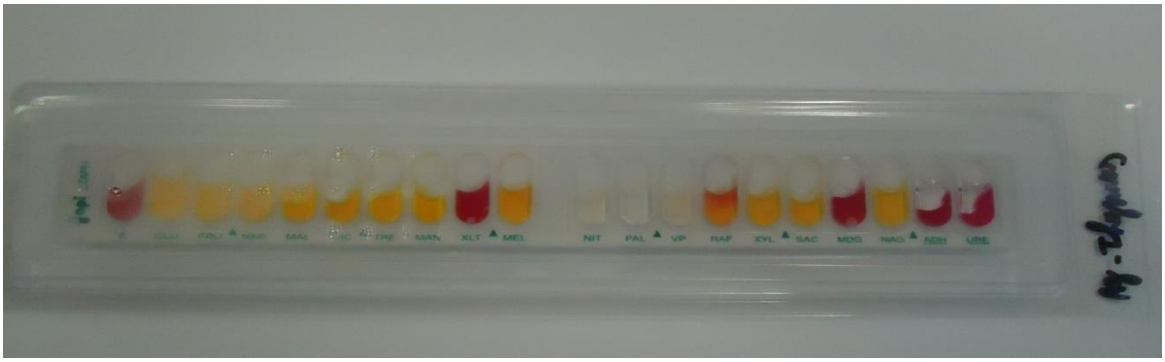


Figure 23 : Résultat de la galerie API®StaphBioMérieux® pour la souche *Staphylocoque aureus*

Les différents tests (20) que compte la galerie API®StaphBioMérieux® permettent d'identifier avec certitude les souches bactériennes de *Staphylocoque aureus*. Ces tests sont détaillés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9: Tableau de lecture de la galerie API® staphBioMérieux ®

Teste	Composants actifs	QTE (mg/cup)	Réactions/Enzymes	Résultat	
				Négatif	Positif
O	Aucun		Témoin négative	rouge	-
GLU	D-glucose	1,56	(témoin positif)(D-GLUcose)	Rouge	Jaune
FRU	D-fructose	1,4	Acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	Acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	Acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose	1,4	Acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	Acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	Acidification (D-MANnitol)		
XLT	Xylitol	1,4	Acidification (XiLITol)		
MEL	D-melibiose	1,32	Acidification (D-METibiose)		

NIT	Nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITratase en nitrites	NIT1+NIT2/1Omin	
				Incolore-rose pale	Rouge
PAL	B-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase Alcaline	ZYM A+ZYM B/10 min	
				Jaune	Violet
VP	Sodium pyruvate	1,904	Production d'acétylmethyl-carbinol	VP1+VP2/10min	
				Incolore-rose pale	Violet-rose
RAF **XYL** **SAC** **MDG** **NAG**	D-raffinose D-xylose D-saccharose Méthyl-αD-glucopyranoside N-acétyl-glucosamine	1,56 1,4 1,32 1,28 1,28	Acidification (RAFfinose) Acidification (XYLose) Acidification (SACcharose) Acidification (Méthyl-αD-glucopyranoside Acidification (N-Acétyl-glucosamine)	Rouge	Jaune
ADH	L-arginie	1,904	Arginine DIHydrolase	Jaune	Orange-rouge
URE	Urée	0,76	UREase	Jaune	Rouge-violet

V. Sensibilité des *Staphylocoque aureus* aux ATB :

Un antibiogramme a été réalisé sur les 30 souches de *Staphylocoque aureus* isolées afin de tester leur sensibilité et leur résistance vis-à-vis de six molécules appartenant à trois familles différentes d'antibiotiques (Annexe 4).

Les résultats sont portés sur le tableau suivant :

Tableau 10: Résultats des antibiogrammes pour les souches de *Staphylocoque aureus* isolées

	Spiramycine	**Pénicilline**	**Augmentin**	**Erythromycine**	**Vancomycine**	**Gentamycine**
P001	17 : Résistant	/ : Résistant	6 : Résistant	8 : Résistant	18 : Sensible	22 : Sensible
P002	24 : Sensible	8 : Résistant	/ : Résistant	27 : Sensible	21 : Sensible	23 : Sensible
P003	20 : Intermédiaire	9 : Résistant	7 : Résistant	30 : Sensible	25 : Sensible	19 : Sensible
P004	/ : Résistant	/ : Résistant	/ : Résistant	/ : Résistant	25 : Sensible	33 : Sensible
P005	23 : Intermédiaire	/ : Résistant	/ : Résistant	29 : Sensible	19 : Sensible	24 : Sensible
P006	27 : Sensible	12 : Résistant	8 : Résistant	6 : Résistant	20 : Sensible	30 : Sensible

P007	25 : Sensible	/ : Résistant	/ : Résistant	29 : Sensible	29 : Sensible	22 : Sensible
P008	21 : Intermédiaire	8 : Résistant	/ : Résistant	28 : Sensible	18 : Sensible	12 : Résistant
P009	22 : Intermédiaire	8 : Résistant	5 : Résistant	7 : Résistant	21 : Sensible	22 : Sensible
P010	26 : Sensible	11 : Résistant	19 : Intermédiaire	7 : Résistant	16 : Sensible	29 : Sensible
P011	25 : Sensible	/ : Résistant	/ : Résistant	35 : Sensible	28 : Sensible	24 : Sensible
P012	24 : Sensible	/ : Résistant	/ : Résistant	32 : Sensible	33 : Sensible	35 : Sensible
P013	22 : Intermédiaire	/ : Résistant	/ : Résistant	7 : Résistant	19 : Sensible	20 : Sensible
P014	23 : Intermédiaire	20 : Résistant	22 : Intermédiaire	26 : Sensible	23 : Sensible	23 : Sensible
P015	24 : Sensible	17 : Résistant	19 : Intermédiaire	26 : Sensible	22 : Sensible	19 : Sensible
P016	17 : Résistant	21 : Résistant	24 : Sensible	14 : Intermédiaire	23 : Sensible	21 : Sensible
P017	/ : Résistant	10 : Résistant	14 : Résistant	/ : Résistant	17 : Sensible	21 : Sensible
P018	20 : Intermédiaire	16 : Résistant	19 : Intermédiaire	/ : Résistant	19 : Sensible	30 : Sensible
P019	/ : Résistant	12 : Résistant	18 : Intermédiaire	/ : Résistant	30 : Sensible	24 : Sensible
P020	22 : Intermédiaire	20 : Résistant	20 : Intermédiaire	/ : Résistant	17 : Sensible	19 : Sensible
P021	30 : Sensible	24 : Résistant	18 : Intermédiaire	36 : Sensible	19 : Sensible	33 : Sensible
P022	13 : Résistant	22 : Résistant	14 : Résistant	10 : Résistant	19 : Sensible	25 : Sensible
P023	15 : Résistant	20 : Résistant	18 : Intermédiaire	21 : Intermédiaire	28 : Sensible	10 : Résistant
P024	17 : Résistant	24 : Résistant	22 : Intermédiaire	30 : Sensible	20 : Sensible	26 : Sensible
P025	12 : Résistant	17 : Résistant	10 : Résistant	25 : Sensible	17 : Sensible	24 : Sensible
P026	14 : Résistant	18 : Résistant	14 : Résistant	27 : Sensible	17 : Sensible	26 : Sensible
P027	24 : Sensible	36 : Sensible	28 : Sensible	29 : Sensible	18 : Sensible	22 : Sensible
P028	11 : Résistant	17 : Résistant	14 : Résistant	10 : Résistant	22 : Sensible	31 : Sensible
P029	25 : Sensible	37 : Sensible	31 : Sensible	29 : Sensible	21 : Sensible	20 : Sensible
P030	25 : Sensible	19 : Résistant	16 : Résistant	30 : Sensible	19 : Sensible	25 : Sensible

Le Tableau 11 montre le pourcentage des souches résistantes et sensibles.

Tableau 11 : Profil d'antibiorésistance (nombres et pourcentages)

Profils	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Spiramycine	36,66% (11)	26,66% (8)	36,66% (11)
Pénicilline	93,33% (28)	0% (0)	6,66% (2)
Augmentin	60% (18)	30% (9)	10% (3)
Erythromycine	40% (12)	6,66% (2)	53,33% (16)
Vancomycine	0% (0)	0% (0)	100% (30)
Gentamycine	6,66% (2)	0% (0)	93,33% (28)

Figures 24, 25 : Antibiogramme de *Staphylocoque aureus*

L'Histogramme ci-dessous illustre les résultats obtenus après la réalisation d'antibiogrammes sur les souches Staphylocoque aureus isolées.

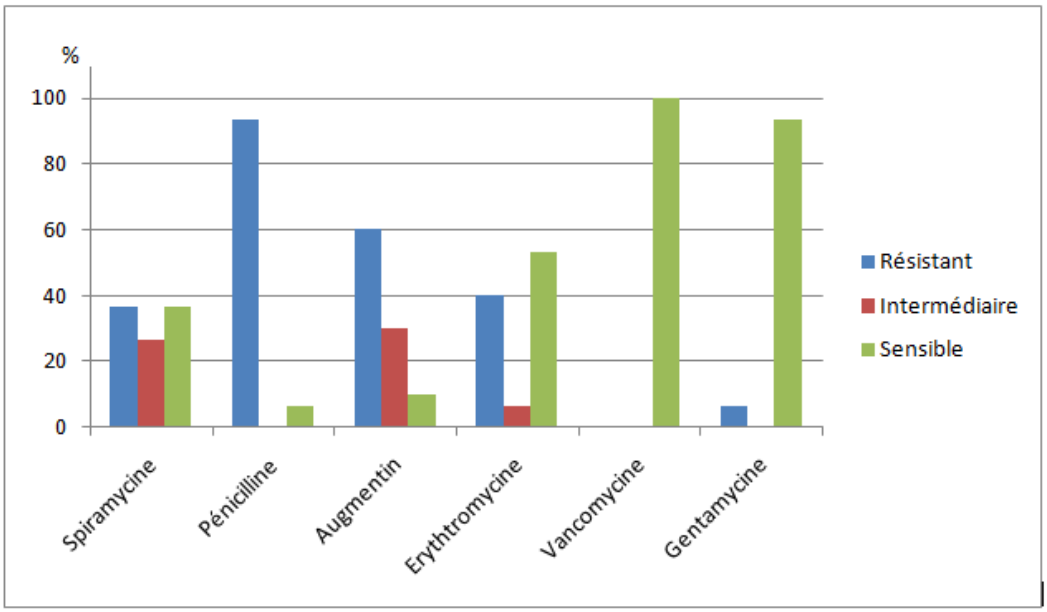


Figure 26 : Histogramme de sensibilité/résistance aux ATB des souches *Staphylocoque aureus*

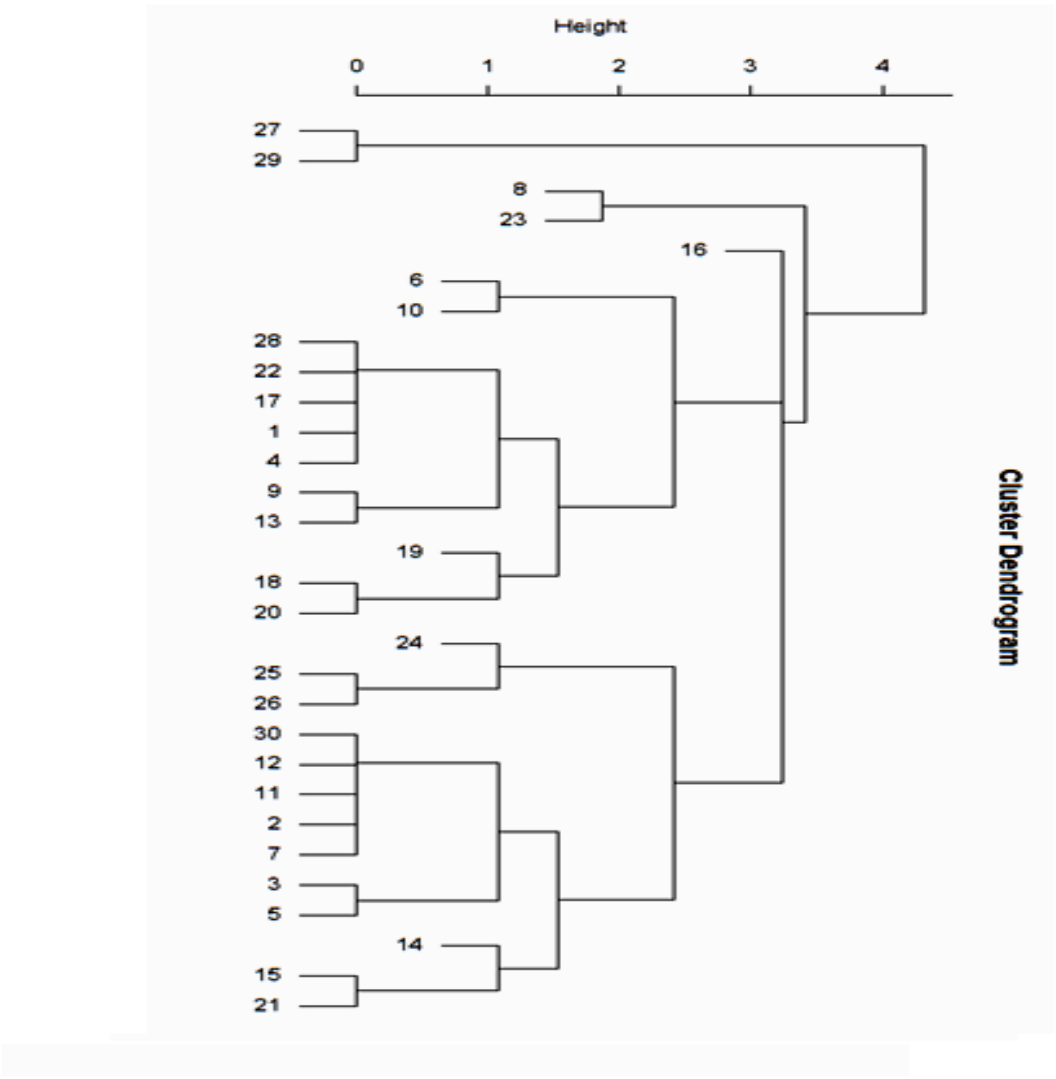


Figure 27 : dendrogramme (Logiciel R, 2010)

Les résultats obtenus ont permis la réalisation du dendrogramme ci-dessus (Logiciel R), répertoriant les souches isolées selon leur profil de résistance aux antibiotiques testés. Plusieurs observations ont été faites :

Nous notons 14 profils de résistance différents chez les 30 souches de *Staphylocoque aureus* isolées dans cette étude. Parmi ces 14 profils, 4 regroupent au moins deux espèces animales différentes.

Au sein d'une même espèce animale, des *Staphylocoque aureus*, avec des profils différents, ont été isolés, comme le montre le tableau suivant.

Tableau 12 : répartition des profils selon les différentes espèces animales.

Espèces	Canine	Féline	Bovine	Ovine
Profils de résistance	12	2	2	3

D'autre part si on prend en compte la pathologie comme variante, nous remarquons une diversité de profils. En effet, les souches de *Staphylocoque aureus* isolées à partir d'otites chez l'espèce canine montrent 12 profils de résistance différents.

Discussion

Les souches de *Staphylocoque aureus* sont des bactéries ubiquitaires faisant partie de la flore de la peau, de la sphère rhino-pharyngée, ou encore de la région périnéale et du rectum. Elles sont responsables d'infections communautaires telles que les otites, les abcès, les impétigos ou encore les surinfections de plaies cutanées (Kluytmans J; Van Belkum, 1997). Elles sont aussi impliquées dans des cas de toxi-infections alimentaires et d'infections nosocomiales.

L'utilisation abusive et excessive d'antibiotiques dans le traitement de ces infections a entrainé l'émergence de souches présentant des résistances à ces agents antimicrobiens. Les *Staphylocoques aureus* font partie des bactéries qui ont le plus grand potentiel d'adaptation et de résistance par la mise en place de différents mécanismes à l'image des échanges de séquences de gènes codant pour les facteurs de résistance aux ATB entre agents microbiens, expliquant ainsi la fréquence et le rythme accrue d'apparition de nouvelles souches peu sensible à la thérapie.

Ce phénomène de résistance des *Staphylocoque aureus* aux ATB représente un problème majeur de santé publique qui ne cesse de prendre de l'ampleur, les cliniciens se retrouvent très souvent dans une impasse thérapeutique. Pour cela, des programmes mondiaux de surveillances sont régulièrement mis en place pour suivre l'évolution de cette résistance.

Dans notre travail de recherche, nous avons voulu d'une part déterminer la fréquence d'isolement de la souche *Staphylocoque aureus* à partir d'animaux atteints d'infections suppurées (Tableau 8), et d'autre part établir un état des lieux de leur profil de résistance/sensibilité vis-à-vis d'un certain nombre d'ATB listés dans le fascicule de standardisation (Annexe 4).

Notre étude a été réalisée sur plusieurs espèces animales atteintes d'otites (63.09%), d'affections cutanées suppurées (10.71%), d'abcès (16.66%), ou encore de pyromètre (2.38%). Sur les 84 prélèvements effectués nous avons obtenu 78 (92,9%) cultures positives et on a pu isoler 30 (35,7%) souches de *Staphylocoque aureus*. Sur les 30 souches isolées ; 25 (83.33%) provenaient de prélèvements auriculaires, 2 (6.66%) d'abcès cutanés et 3 (10%) de prélèvements effectués sur des organes (Figures 17, 18).

L'étude de la sensibilité aux ATB a montré que 93.3% des souches *Staphylocoque aureus* été résistantes à la Pénicilline (Figure 31), cela confirme donc les résultats obtenus dans le programme de surveillance mis en place par Vétoquinol S.A. en Europe entre 2002 et 2009 (S.Kroemer et al., 2014) ou on avait enregistré un taux de résistance avoisinant les 80%. Cela s'explique par la large utilisation de cette ATB en thérapie vétérinaire, fait qui a conduit à l'apparition chez un nombre considérable de bactéries de moyens de résistance à l'image des β-lactamases. Cette résistance est

d'ailleurs apparue très peu de temps après le début de l'utilisation de la Pénicilline (Mary Barber, 1946).

Les résultats pour la sensibilité à l'Augmentin sont quelque peu différents de ceux enregistrés par le programme de surveillance de Vétoquinole S.A (S.Kroemer et al., 2014), puisque nous avons relevé dans notre étude une sensibilité de 10% des souches de *Staphylocoque aureus* isolées (Figure 26) contre un taux de 87.7% dans le programme de surveillance européen. Ceci peut s'expliquer par l'engouement des vétérinaires algériens pour cette molécule qui est très fréquemment utilisée, ce qui a entrainé l'apparition de résistances bactériennes et ce malgré l'efficacité présumée de l'association de l'acide clavulanique à l'Amoxicilline qui est sensée annuler l'action des β-lactamases bactériennes.

D'autre part, l'ensemble des souches de *Staphylocoque aureus* isolées lors de notre étude sont sensibles à la Vancomycine et 93.3% à la Gentamycine (Figure 26). Ces résultats viennent appuyer et confirmer ceux publiés dans le 12éme rapport d'évaluation (janvier à décembre 2010) de la surveillance de la résistance des bactéries aux ATB en Algérie, entrant dans le projet de l'Organisation Mondiale de la Santé 2011 (H.Tali-Maamar, 2010), et confirment la grande efficacité des aminosides dans la lutte contre les bactéries Gram positives *via* l'enraiement de leur synthèse protéique.

Pour les macrolides testés dans notre étude, les résultats sont plus mitigés puisque nous avons enregistré un taux de sensibilité de 36.7% des souches de *Staphylocoque aureus* isolées à la Spiramycine et de 53.33% à l'Erythromycine. Ces résultats posent de réelles interrogations quant à l'utilité de prescrire cette famille d'antibiotiques en thérapie vétérinaire, qui sont pour rappel une alternative fréquente à la Pénicilline (Figure 26).

Cette étude a également permis d'estimer la fréquence des multi-résistances aux antibiotiques observée chez les souches de *Staphylocoque aureus*. En effet sur les 30 isolas bactériens, 13 souches (43,33%) sont résistantes à trois antibiotiques ou plus. Seules 2 souches (6,66%) ont montrées une sensibilité aux 6 molécules testées. Cela montre l'ampleur des dégâts induits par l'utilisation anarchique et démesurée de ces médicaments et incite à l'application de mesures sérieuses afin de contrecarrer ce problème qui ne cesse de croitre.

La réalisation d'un dendrogramme (www.R-project.org/Logiciel R) a mis en évidence la pluralité des profils de résistance au sein des souches *Staphylocoque* aureus isolées ainsi qu'une diversité de ces profils chez une même espèce animal et dans le même type de pathologie (Figure 27).

Conclusion et recommandations

Les souches de *staphylocoques aureus* sont des agents pathogènes associés à des pathologies fréquemment observées en consultation vétérinaire. Les résultats de notre étude montrent une forte prévalence (35,71%) avec un isolement fréquent lors d'otites chez les carnivores domestiques.

L'étude du profil de résistance des souches bactériennes aux antibiotiques révèle un nombre considérable de souches multi-résistantes (43,33% des souches sensibles a au moins 3 ATB), particulièrement aux β-lactamines et aux macrolides, cela s'explique par la fréquence d'utilisation de ces deux familles d'antibiotiques par les praticiens vétérinaires compte tenu de leur bas prix comparé aux autres ATB. Par contre, on note l'effet thérapeutique de l'administration des aminosides qui ont montrés une efficacité quasi-permanente sur les isolas étudiés.

L'impact de ce phénomène croissant sur la santé publique se concrétise par la possibilité de transmission de cette résistance aux souches humaines, notamment par le biais des échanges réguliers de séquences génétiques codant pour les facteurs de résistance aux antibiotiques. De ce fait, il est impératif d'établir un contrôle régulier et actif de cette résistance aux molécules antimicrobiennes afin de signaler toute augmentation et/ou toute émergence de nouvelles souches résistantes à la thérapie antibactérienne.

Les résultats de notre étude mettent en évidence la prévalence élevée des atteintes staphylococciques, mais également l'impact engendré par l'utilisation abusive et anarchique d'antibiotiques en médecine vétérinaire.

Ces mêmes résultats devraient aider à dresser un état des lieux concernant le profil de résistance des *Staphylocoque aureus* vis-à-vis des différentes molécules testées, et donc orienter les cliniciens dans leurs futures prescriptions. Ils devraient également permettre une prise de conscience sur la nécessité d'adopter une politique organisée avec un emploi ciblé et raisonnable des antibiotiques.

Dans le contexte actuel et dans l'optique de contrecarrer ce phénomène, il est primordial de maitriser la diffusion des souches multi-résistantes et ce, via le contrôle régulier des profils de résistance bactérienne et la révision des paramètres de prescription en clinique vétérinaire.

Enfin, notre travail de recherche doit être compléter en élargissant l'étude sur un plus grand nombre de souches et d'espèce animale. Il est également utile d'étudier les mécanismes à l'origine de la résistance aux antibiotique et les mesures à prendre afin d'éviter l'émergence de souches multi résistantes.

Références

C.J. SOUSSY et al., 2010 : Communiqués du comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie. Recommandation 2010, page 35, 40, 41.

E.J. CATCOTT, 1972 : MEDECINE CANINE. EDITION VIGOT, page 592.

Francis P.TALLY, 1999 : MICROBIOLOGIE ET PATHOLOGIE INFECTIEUSE. 2éme édition. De Boeck Université, page 187-197.

Franklin D., Lowy MD., 1998 : Staphylococcus aureus infection. N Enyl J Med, page 520-532.

Franklin D., Lowy MD., 2003 : The journal of clinical investigation. Volume111. Number 9, page 1265-1271.

Heiman F L WERTHEIM et al., 2005 : The lancet infectious diseases. Vol 5. ELSEVIER, page 751-762.

H.Tali-Maamar, 2010 : Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 12éme rapport d'évaluation, page 123-149.

-Institut de l'élevage. Maladies des bovins, 3éme édition. France agricole (2000). 64-68, 98-99.

Jean-Christophe LUCET, 2009 : Haut conseil de la santé publique, recommandation sur la prise en charge et la prévention des infections cutanées liées aux souches de Staphylococcus aureus résistant à la méthiciline communautaires (SARM CO), page 19-21.

Jean-Marie GOURREAU, 2011 : Guide pratique des maladies bovines. France agricole, page 411.

-Manuel terrestre de l'OIE (2008). Méthodes de laboratoire utilisées pour les essais d'antibiorésistance. 61-70.

Maur NEUMAN, 1996 : VADE-MECUM des antibiotiques et agents chimiothérapiques anti-infectieux. 2éme édition. DOIN-DEREN S.A. LIBERAIRE MALOINE S.A, page 335-338, 436.

M. ELAZHARI et al, 2010 : Sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylococcus aureus communautaires à Casablanca. Revue Tunisienne d'infectiologie, page 134-140.

M. FONTAINE, 1998 : VADE-MECUM DU VETERINAIRE. 15éme édition. Office des publications universitaires, page 106-204, 1138-1139.

Peter LYDYARD et al., 2002 : L'essentiel en IMMUNOLOGIE . 5éme édition. BERTI Editions, page 213, 222.

P. GROULADE, 1979 : CLINIQUE CANINE. Maloine s.a éditeur, page 404, 435-437.

Schlievert, P.M, 2007 : Molecular analysis of Staphylococcal superantigens. Methods Mol Biol, page 113-126.

Serge ALFRANDARI, 2014 : Antibiothérapie curative, protocoles et fiches techniques. Version8. Centre hospitalier de Tourcoing, page 65.

S. KROEMER et al., 2015 : Comparative immunology, microbiology and infectius diseases 37. ELSEVIER, page 97-108.

Sylvie PINNERT, Henri ALBERTO, 1971 : Les antibiotiques. Science-Poche, page 5-21, 53-69.

Thierry EBERLIN, 1994 : Les antibiotiques (classification, mode d'action, utilisation thérapeutique). NATHAN UNIVERSITE, page 45-47, 90.

Vicento F, 2008 : Les facteurs de virulences de Staphylococcus aureus. Revue Francophone de laboratoires, page 61-69.

Yves LE LOIR, Michel GAUTIER, 2009 : Staphylococcus aureus. Edition TEC&DOC, page 58-59, 66-113, 122-157, 247, 250-253.

Yvon MICHEL-BRIAND, 2009 : Une histoire de la résistance, à propos de six bactéries. L'Harmattan page 24-31, 41-45.

Annexes

STANDARDISATION DE L'ANTIBIOGRAMME EN MEDECINE VETERINAIRE 2ème Edition 200

Table de lecture (1 b) * : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus sp.*

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
β-lactamines :						
Pénicilline	10 UI	≤ 28	------	≥ 29	ß lactamase	≤ 0,1
Oxacilline → S.aureus	1 µg	≤ 10	11 – 12	≥ 13	≥ 4	≤ 2
Oxacilline → S.coagulase -	1 µg	≤ 17	------	≥ 18	≥ 0,5	≤ 0,25
Aminosides :						
Streptomycine**	10 µg	< 13	------	≥ 15	> 16	≤ 8
Macrolides :						
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	≤ 0,5
Spiramycine **	100 µg	< 19	------	≥ 24	> 4	≤ 1
Glycopeptides :						
Vancomycine	30µg	----		≥ 15	------	≤ 4
Quinolones :						
Enrofloxacine ***	5 µg	≤ 16	17 – 22	≥ 23	≥ 4	≤ 0,5
Tétracyclines :						
Tétracycline	30 µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19	≥ 16	≤ 4
Sulfamides :						
Cotrimoxazole	1.25/ 23.75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 3/152	≤ 2/38
Polypeptides :						
Bacitracine**	130 µg	< 15	----	≥ 15	<2	≥ 2

* Tableau extrait du document M100 – S12, Vol. 22, n°1 de National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002

** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie – Communiqué Janvier 2000

*** NCCLS Document M31-A, Vol. 19, N°11, June 1999

60

Annexe 1 : Abaque de décision

FICHE D'ENQUETE

Wilaya :
Circonscription :
Commune :
Nom et Prénom du vétérinaire :
Signature :

Prélèvement
Prélèvement N° :
Date du prélèvement :
Type de prélèvement :

Propriétaire
Nom :
Prénom :
Adresse :
N° de téléphone :

Animal
Nom :
Espèce :
Race :
Sexe :
Age :
Tatouage :
Puce électronique :
Signe particulier :
Habitat :
Présence d'autres animaux :
Hygiène de vie :
Habitudes alimentaire :

Motif de la consultation :

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Symptômes :

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Antécédents médicaux :

.....
.....
.....
.....

Traitement :

.....
.....
.....
.....

Annexe 2 : Fiche de renseignement

Pour 1L d'Eau physiologique :

Extrait cœur/cervelle	17,5 g
Peptone pancréatique de gélatine	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Phosphate disodique	2,5 g
Glucose	2 g

pH : 7,4

Annexe 3 : Composition du milieu BHIB

ATB	Signe	Charge des disques	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Spiramycine	SP	100µg	<19	---	≥24
Pénicilline	P	10UI	≤ 28	---	≥ 29
Augmentin	AMC	10µg	<16	17-22	≥23
Erythromycine	E	15µg	≤13	14-22	≥23
Vancomycine	VA	30µg	≤14	---	≥15
Gentamycine	GM	10µg	≤12	---	≥15

Annexe 4 : Tableau des antibiotiques testés