

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

PROJET DE FIN D'ETUDES *en vue de l'obtention du* DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

**Prévalence du portage intestinale bovin à *Staphylococcus aureus*
au niveau de l'abattoir d'El Harrach.**

Présenté par : Mr RAHBA Takieddine Ahmed.

Soutenu le : 26 octobre 2017.

Devant le jury :

Présidente	: Dr. BAAZIZI Ratiba	(Maître de conférence classe B).
Promotrice	: Dr. HACHEMI Amina	(Maître assistante classe A).
Examinatrice	: Dr. MIMOUNE Nora	(Maître de conférence classe B).
Examinatrice	: Dr. GUESSOUM Meriem	(Maître assistante classe A).

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Les cinq années d'étude nous ont permis de bien comprendre la signification de cette phase toute simple. Ce parcours, en effet, n'est pas réalisé sans défit et sans soulever de nombreuses questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail.

Je tiens à la fin de ce travail à remercier le bon dieu de nous avoir donné la foi et de nous avoir permis d'en arriver là.

Je tiens à remercier tout particulièrement ma promotrice **Dr. HACHEMI Amina**, d'avoir dirigé méticuleusement ce travail, de m'avoir fait confiance, encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté.

A **M^{me} BAAZIZI Ratiba**, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury, et pour sa gentillesse qui n'a pas de limite.

A **M^{me} MIMOUNE Nora** et **GUESSOUM Meriem**, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, je tiens à remercier ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.

Dédicaces

A mon père *Taher*.

A ma défunte mère *Fouzia*.

A mes frères *Ali* et *Adem*, ma sœur *Tamtam*.

A mes amis, avec qui j'ai passé des moments inoubliables

Enfin à tous ceux que j'aime et croient toujours en moi...

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Liste des abréviations

Résumés

INTRODUCTION GENERALE.....	1
-----------------------------------	----------

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE_ I : LA FLORE INTESTINALE CHEZ LE BOVIN

I. Introduction.....	3
II. Anatomie du tube digestif du bovin.....	5
II.1. Caractères généraux.....	5
II.2. Intestin grêle.....	6
A. Le rôle de l'intestin grêle.....	6
B. Dimensions.....	6
II.2.1. Les différentes parties de l'intestin grêle.....	7
II.2.1.1. Le duodénum.....	7
II.2.1.2. Le jéjuno-iléon.....	8
II.3. Le gros intestin.....	8
A. Le rôle du gros intestin	9
B. Dimensions et Capacités du gros intestin	9
II.3.1. Les différentes parties de l'intestin grêle.....	10
II.3.1.1. Le caecum.....	10
II.3.1.2. Le côlon et le rectum.....	10
III. Les micro-organismes chez les ruminants	10
III.1. Les micro-organismes.....	10
III.2. L'importance et composition de la flore intestinale.....	11

CHAPITRE_ II : STAPHYLOCOQUES

I. Le genre <i>Staphylococcus</i>.....	14
I.1. Historique.....	14
I.2. Habitat.....	14

I.2.1. Réservoirs de <i>Staphylococcus aureus</i> chez les hôtes humains et animaux.....	16
I.2.2. Description et survie dans des environnements variés.....	17
I.2.2.1. Environnement hospitalier.....	17
I.2.2.2. Aliments et leur environnement de production.....	18
I.2.2.3. Environnements hydriques.....	18
I.3. Classification.....	19
II. L'espèce <i>Staphylococcus aureus</i>.....	19
II.1. Morphologie.....	19
II.2. Caractères culturels.....	20
II.3. Caractères physiologiques et biochimiques.....	21
II.4. Substances élaborées.....	23
II.4.1. Enzymes.....	23
II.4.1.1. Coagulase libre.....	23
II.4.1.2. Coagulase liée.....	24
II.4.1.3. Fibrinolysine ou staphylokinase.....	24
II.4.1.4. Autres enzymes.....	25
II.4.2. Mécanismes moléculaires de pathogénicité.....	26
II.4.2.1. Staphylolysines ou hémolysines.....	26
II.4.2.1.1. L'Alpha-hémolysine ou alphatoxine staphylococcique	26
II.4.2.1.2. La bêta-hémolysine.....	27
II.4.2.1.3. La gamma-hémolysine.....	27
II.4.2.1.4. La delta-hémolysine.....	28
II.4.2.2. La leucocidine de Panton Valentine.....	28
II.4.2.3. Exfoliatine ou épidermolysine.....	29
II.4.2.4. Les entérotoxines.....	29
II.4.2.5. Toxine du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique.....	30
II.4.2.6. Les toxines pyrogène.....	31
II.4.2.7. Le facteur de la succinic oxydase	31
III. Physiopathologie.....	31
III.1. Pouvoir pathogène expérimental.....	31
III.2. Pouvoir pathogène naturel.....	32
III.2.1. Staphylococcies cutanées sous cutanées et muqueuse.....	32
III.2.2. Septicémies à <i>S. aureus</i>.....	33

III.2.3. Les manifestations digestives.....	34
III.2.3.1. Toxinogénèses de <i>Staphylococcus aureus</i> dans les aliments.....	34
III.2.3.2. Entérocolites aiguës.....	34
III.2.3.3. Syndrome du choc toxique.....	35
III.2.4. Les infections nosocomiales à <i>Staphylococcus aureus</i>.....	35
III.2.4.1. Introduction.....	35
III.2.4.2. Les principales infections nosocomiales et leurs modes de transmission.....	35
III.2.4.3. Le traitement.....	36
III.2.5. L'infection à <i>Staphylococcus aureus</i> chez l'animal.....	37
III.2.5.1. Types d'infections chez l'animal.....	37
III.2.5.1.1. Suppurations diverses.....	37
III.3. Pathogénie et immunité.....	38
III.3.1. Pathogénie.....	38
III.3.2. Immunité.....	39
III.4. Epidémiologie et mode de transmission.....	39
III.4.1. Généralités.....	39
III.4.2. Marqueurs épidémiologiques.....	41

ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE_III : MATERIELS & METHODES

I. La présentation des établissements d'abattage.....	43
II. Matériels & Méthodes.....	44
II.1. Durée et lieu de l'étude.....	44
II.2. Matériels.....	44
II.2.1. L'Échantillonnage.....	44
II.2.2. Sites de prélèvement.....	44
II.2.3. Matériel de prélèvement.....	44
II.2.4. Matériel d'analyses.....	44
II.3. Méthodes.....	45
II.3.1. Technique de prélèvement.....	45
II.3.2. Transport et conservation des échantillons.....	46
II.3.3. Méthodes d'analyses bactériologique.....	46
II.3.3.1. Pré-enrichissement.....	47
II.3.3.2. Enrichissement en milieux sélectifs liquides.....	47

II.3.3.2.1. Gélose Chapman.....	47
II.3.3.2.1.1. Usages.....	47
II.3.3.2.1.2. Composition.....	47
II.3.3.2.1.3. Caractéristiques.....	48
II.3.3.2.1.4. Lecture.....	48
II.3.3.3. Purification sur milieu sélectif solide.....	49
II.3.3.4. Tests de confirmation.....	49
II.3.3.4.1. Catalase.....	49
II.3.3.4.1.1. Usage en microbiologie.....	49
II.3.3.4.1.2. Technique.....	50
II.3.3.4.1.3. Rôle du test catalase.....	50
II.3.3.4.2. Recherche de la Coagulase.....	50
II.3.3.4.2.1. Principe.....	51
II.3.3.4.2.2. Technique.....	51
II.3.3.4.2.3. Résultats.....	51
II.3.3.4.3. Galerie API.....	51
II.3.3.4.3.1. Principe.....	52
II.3.3.4.3.2. Présentation.....	52
II.3.3.4.3.3. Réactifs et Matériels.....	52
II.3.3.4.3.4. Matériel.....	52
II.3.3.4.3.5. Mode opératoire.....	52
II.3.3.4.3.6. Lecture et interprétation.....	53
II.3.3.4.3.6.1. Lecture de la galerie.....	53
II.3.3.4.3.6.2. Interprétation.....	54
III. Traitement des données.....	54

CHAPITRE_IV : RESULTATS & DISCUSSION

I. Résultats de l'enquête exhaustive	55
I.1. La prévalence globale des <i>S. aureus</i> chez les bovins au niveau de l'intestin...	55
I.2. La prévalence des <i>S. aureus</i> par rapport aux sites de prélèvement.....	56
I.3. La prévalence des <i>S. aureus</i> chez les bovins par lieux.....	58
I.3.1. La prévalence des <i>S. aureus</i> chez les bovins au niveau du Rectum.....	58
I.3.2. La prévalence des <i>S. aureus</i> chez les bovins au niveau du Colon.....	59

II. Recensement des souches de <i>Staphylocoques coagulase</i> +.....	61
CONCLUSION & RECOMMANDATIONS.....	66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	67
ANNEXES	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Staphylocoques en amas.....	20
02	Salle d'abattage.....	43
03	Les locaux de stabulation	43
04	Diagramme général du plan du travail.....	46
05	La phase pré-enrichissement.....	47
06	Ensemencement sur gélose Chapman	48
07	Boîtes de pétri, divisé en portion	49
08	L'examen des boîtes de pétri.....	49
09	La prévalence globale de <i>S. aureus</i> chez les bovins au niveau de l'intestin.....	56
10	La prévalence des <i>S. aureus</i> par rapport aux sites de prélèvement.....	57
11	La prévalence des <i>S. aureus</i> au niveau du Rectum.....	59
12	La prévalence des <i>S. aureus</i> au niveau du Colon.....	60
13	La prévalence du recensement des <i>Staphylocoques coagulase</i> +.....	62
14	Dégradation du mannitol sur gélose Chapman.....	62
15	Test de catalase positif.....	63
16	Test de coagulase positif.....	63
17	L'Api Staph.....	63

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Caractères distinctifs de <i>Staphylococcus aureus</i> [12]	22
02	Répartition des échantillons par dates de prélèvements.....	45
03	Nombre et répartition des souches isolées de l'intestin des bovins abattus.....	55
04	La prévalence globale du portage intestinal <i>S. à coagulase+</i> chez les bovins abattus	56
05	Nombre et répartition des <i>S. aureus</i> par rapport aux sites de prélèvement.....	57
06	La prévalence des <i>S. aureus</i> par rapport aux sites de prélèvement.	57
07	Nombre et répartition des <i>S. aureus</i> chez les bovins au niveau du Rectum.....	58
08	La prévalence des <i>S. aureus</i> chez les bovins au niveau du Rectum.....	58
09	Nombre et répartition des <i>S. aureus</i> chez les bovins au niveau du Colon.....	59
10	La prévalence des <i>S. aureus</i> chez les bovins au niveau du Colon.....	60
11	Recensement des souches de <i>Staphylocoques coagulase +</i>	61

Liste des annexes

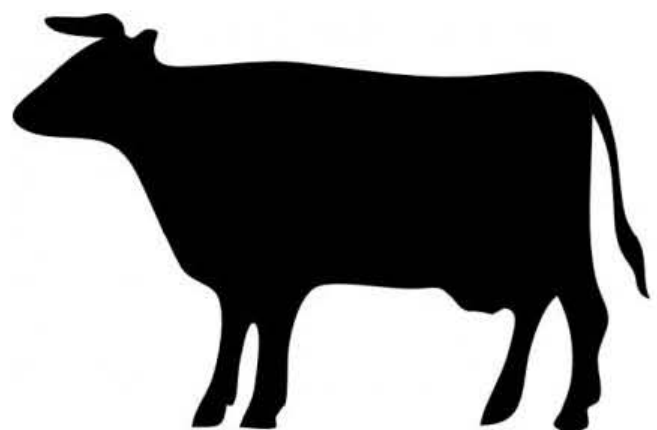
Annexes :

- 01.** Schéma de l'intestin du bœuf
- 02.** La classification hiérarchique du Phylum XIII (Firmicutes) basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN/ ARN 16S [16].
- 03.** Schéma de La structure du Peptidoglycane.
- 04.** Voies de transmission des staphylocoques [3].
- 05.** Matériel d'analyses.
- 06.** La composition pour la préparation d'un litre de milieu Gélose Chapman.
- 07.** Exemple de la Détermination du profil numérique.
- 08.** Tableau de lecture.

Liste des abréviations

- **AP-PCR** : Arbitrary Primed Polymerase Chain Reaction
- **PFGE** : Pulsed-Field Gel Electrophoresis
- **RAPD** : Random Amplified Polymorphic DNA
- **SCTS** : Toxine du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique ()
- **TSST-1** : Toxic Shock Syndrome Toxin -1
- **β-lactamines** : bêta-lactamines
- **PM** : Poids moléculaire
- **PH** : Potentiel hydrogène
- **DNA** : Acide désoxyribonucléique
- **RNA** : Acide ribonucléique
- **kDa** : kilo dalton
- **pI** : Point isoélectrique
- **CO₂** : Dioxyde de carbone
- **μ** : Micromètre
- **TIA** : Toxi-infections alimentaire
- **UFC** : Unité formant colonie
- **EDTA** : acide éthylène-diamine-tétraacétique
- **AMPc** : d'acide adénosine mono phosphorique cyclique
- **TNF** : Facteur de nécrose tumorale
- **IgG** : immunoglobulines de type G

INTRODUCTION GENERALE



L'intestin en général, et celui du bovin en particulier est armé de milliards de microorganismes, ainsi l'intestin est considéré comme un deuxième cerveau. Des microorganismes qui peuplent, protègent, nettoient et empêchent les bactéries nuisibles à se développer, en occupant de la place ; sont appelés : « **Microflore intestinale ou Microbiote** ».

Il s'agit d'un écosystème dynamique qui varie en composition et en fonctionnement selon les conditions environnementales puisque pendant la période pré-natale le veau présente un tube digestif stérile. Une flore intestinale équilibrée qui a un rôle essentiel pour la santé de l'animal, et à sa résistance aux maladies. Mais, Il se peut que cette flore connait un déséquilibre avec des conséquences de gravité variable, de simples troubles de la digestion jusqu'à la rupture des barrières de défense de l'organisme ainsi causer des maladies plus au moins grave dans le cheptel (Exemple : Mammites). Parmi les microorganismes pathogènes, on distingue les bactéries. Qui peuvent ne pas être réparties d'une manière homogène sur le plan qualitatif et quantitatif.

Dans notre étude, on s'intéresse au staphylocoque doré, ou *Staphylococcus aureus*, une bactérie particulièrement pernicieuse. Présente chez 20 % des personnes saines, chez les animaux, d'une manière ubiquitaire, elle peut parfois devenir dangereuse et causer diverses infections, allant du simple furoncle à la septicémie mortelle. Le staphylocoque doré est d'autant plus redoutable qu'il est très difficile à combattre de par sa virulence, sa résistance aux antibiotiques et de son pouvoir épidémique (Première cause de mammites).

Ainsi, le traitement des infections est devenu de plus en plus difficile en raison de la prévalence élevée des souches résistantes et le développement de l'émergence de souches multirésistantes aux différentes familles d'antibiotiques. En pratique ou en traitement ambulatoire, *S. aureus* est un agent pathogène fréquent et dangereux même avec une antibiothérapie optimale.

Pour toutes ces raisons, cette bactérie est considérablement étudiée de nos jours et dans tous les domaines scientifiques : biologie moléculaire, biologie cellulaire, phylogénie, génétique évolutive, etc.

Cependant, en raison de son expansion continuelle, en particulier dans nos élevages, une étude épidémiologique pourrait avancer une analyse de la situation et particulièrement permettrait de

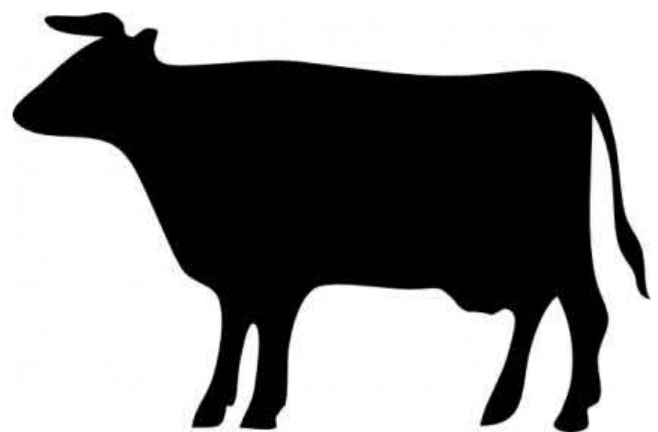
suivre et de comprendre son évolution, mais également de définir des stratégies de lutte au niveau des élevages ou d'un pays.

Cette situation nous a amené à étudier l'état actuel de ce microorganisme étant donné qu'en Algérie, peu de publications ont été réalisées dans cette vision.

Ainsi, l'objectif de notre étude est de réaliser une analyse bactériologique des échantillons intestinaux, et mettre en avant des souches de *S. aureus* isolées de différents bovins abattus pendant une période de deux mois dans l'abattoir d'El Harrach, Algérie ; Afin d'identifier des souches de *S. aureus* dans le Colon et le Rectum, parties anatomiques du gros intestin.

L'étude réalisée est principalement centrée sur la présence des souches *Staphylococcus aureus* et leurs prévalence, suivie par une analyse comparative des deux prévalences, avec un recensement à la fin des profils des souches isolées de Staphylocoques par Galerie Api-Staph.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE_ I : LA FLORE INTESTINALE CHEZ LE BOVIN

I. Introduction

Un tube digestif mal entretenu, peuplé de bactéries et de champignons opportunistes et pathogènes et pollué par des aliments mal digérés risque de se retrouver encombré par des matières fécales nauséabondes et toxiques. Ce phénomène est facteur de déséquilibres et de troubles de gravité variable.

Un intestin malpropre, c'est le risque d'une immunité déficiente. Vous souffrez alors d'une vulnérabilité plus grande aux maladies infectieuses et inflammatoires touchant les sphères digestives, respiratoires, urogénitales, etc.

De plus, un côlon « malade » est aussi un facteur déclenchant de troubles psychiques, car ce sont les cellules de l'intestin qui produisent 80 % de la sérotonine qui se trouve dans notre corps (la sérotonine est l'hormone de la bonne humeur, chez l'animal on parle de la bonne conduite). D'une certaine façon, l'intestin est le « deuxième cerveau ». Il est donc impératif de prendre le plus grand soin en appliquant des mesures d'hygiène stricte [34].

Une armée de milliers de milliards de microorganismes qui peuplent le côlon (Dernière partie de l'intestin, avant le rectum) et qui, le protègent, le nettoient, et empêchent les bactéries et levures nuisibles de se développer, en occupant la place ; appelée « Flore intestinale » ou le « microbiote ».

La composition de cette flore intestinale dépend avant tout de la façon dont se déroule la naissance. Pendant la période pré-natale le veau, présente un tube digestif stérile. Il n'y avait dedans aucun microbe ; ce qui signifie que le microbiote se détermine dès la naissance. Ainsi, ce n'est qu'au moment de la mise bas que des bactéries et des levures s'y sont installées : 72 heures après la naissance, le tube digestif contenait déjà 1000 milliards de bactéries et levures.

Toutes ces bactéries ont diverses origines, nous pouvons citer :

1. Pour les veaux nés par voie naturelle, la contamination est causée par la *flore vaginale* de leur vache.

Or, cette flore vaginale est très dépendante de la flore intestinale et donc une vache qui aura une bonne flore intestinale dans les dernières semaines de sa gestation donnera en héritage à son veau, les bonnes espèces microbiennes pour ensemençer son intestin. Si, par contre l'intestin de la vache est contaminé par des espèces opportunistes et pathogènes, son veau en héritera aussi, malheureusement.

2. Mais un autre cas très problématique est celui des veaux nés par césarienne !

Étant directement extraits du placenta (stérile), le veau né par césarienne n'a aucun contact avec la flore de sa mère. Il reçoit alors la microflore de l'environnement, souvent riche en bactéries résistantes aux antibiotiques, comme : *Staphylococcus aureus* (Le *Staphylocoque doré*).

Après la naissance, l'équilibre de la microflore intestinale est en continuelle évolution. Il s'agit d'un équilibre « Dynamique » qui peut être rompu par différents facteurs endogènes et exogènes :

▪ *Facteurs endogènes* : Il est dû à un déficit immunitaire, ou une maladie métabolique discrète, qui entraîne une modification de la microflore intestinale. En cas de blessure ou d'intervention chirurgicale, d'inflammation, ou de tumeurs dans l'intestin, la microflore peut également être gravement perturbée, ce qui empirera les symptômes de la maladie, et retardera la convalescence ;

▪ *Facteurs exogènes* : Alimentation déséquilibrée, contamination par des métaux lourds, des pesticides utilisés en agriculture et des additifs antimicrobiens, infection par des germes pathogènes, stress intense, traitement aux antibiotiques, vaccination, peuvent contribuer à inhiber les bonnes bactéries, ce qui laissera la place aux germes opportunistes et pathogènes (responsables de maladies) de se multiplier.

Les conséquences sont de gravité variable : des simples troubles de la digestion jusqu'à la rupture complète des barrières de défense de l'organisme. Dans ce cas, la présence d'un risque de prolifération des germes jusqu'à la septicémie (infection généralisée) et donc, potentiellement, la mort. Cela montre qu'une flore intestinale équilibrée joue un rôle essentiel pour la santé de l'animal et à la résistance aux maladies.

II. Anatomie du tube digestif du bovin (Voire Annexe 1).

II.1. Caractères généraux

L'intestin (Intestinum) est la partie du tube digestif qui commence au pylore et se termine à l'anus. Son développement est très variable selon le régime de l'espèce : il est en général bien plus court et moins compliqué chez les Carnivores que chez les Herbivores. Sauf très rares exceptions, il est facile de lui reconnaître deux grandes parties. La première est étroite et relativement longue : c'est l'intestin grêle. L'autre, beaucoup plus variable, est en général plus volumineuse et plus compliquée, surtout chez les Herbivores : c'est le gros intestin.

La limite entre les deux est marquée par une étroite zone à musculature sphinctérielle, qui constitue la valve ou papille iléale. Même lorsque celle-ci est très peu discernable, l'intestin grêle diffère du gros intestin par les particularités de sa muqueuse, qui se caractérise par la présence de villosités [64].

L'intestin des ruminants est caractérisé par sa grande longueur (50 mètre environ chez le Bœuf), et par l'existence d'un colon spiralé.

Le caecum et le colon constituent, après le rumino-réticulum, une deuxième chambre à fermentation distal. Refoulé dans la partie droite de l'abdomen par le rumen, en grand partie intra-thoracique, l'intestin est suspendu par un mésentère commun complexe dans le supra-omental. L'intestin présente peu de variations anatomiques entre les différents ruminants domestiques.

II.2. L'intestin grêle

L'intestin grêle (Intestinum tenue) fait suite à l'estomac et s'étend du pylore à l'ostiumiléal. C'est un long tube cylindroïde, très flexueux et de calibre à peu près uniforme, dans lequel s'effectuent les phases les plus importantes de la digestion.

On lui reconnaît trois segments successifs et très inégaux : **le duodénum, le jéjunum**, de loin le plus long, et **l'iléum**. Mais en fait, seul le duodénum est nettement délimité possède une topographie fixe. La limite entre les deux autres parties est peu distincte, de sorte qu'on peut parler d'un **jéjuno-iléum**, beaucoup plus mobile dans son ensemble que la partie précédente [64].

A. Le rôle de l'intestin grêle

C'est dans le duodénum que se déversent les sécrétions exocrines du foie et du pancréas, alors que le jéjuno-iléum ne reçoit d'autre sécrétion que celle de sa propre muqueuse [64].

L'action conjuguée de ces divers sucs digestifs achève celle du suc gastrique et la complète en agissant en outre sur des aliments (hydrates de carbone en particulier) que celui-ci n'avait pas modifiés. Ainsi, le contenu intestinal est transformé en une masse fluide, ou chyle, dont les constituants, très diffusibles, sont en grande partie absorbés par la muqueuse très vascularisée. Cette absorption est particulièrement active dans le jéjuno-iléum [65].

A ces fonctions s'ajoute un rôle endocrine encore incomplètement connu et surtout important dans le duodénum. Ce dernier assure par cette voie la régulation des phénomènes digestifs et la coordination des sécrétions de l'estomac, du foie et du pancréas [65].

B. Dimensions

Les dimensions de l'intestin grêle sont subordonnées au genre de vie et à l'alimentation de l'espèce. Bref chez les Carnivores, où son calibre est relativement fort, ce conduit est au contraire très long et souvent de faible diamètre chez les Herbivores.

Rapportée à celle du corps (mesurée du sommet du crâne à la base de la région coccygienne), sa longueur représente très approximativement *quatre fois* cette dernière chez *le Chat*, *six fois* chez

le Chien, dix fois chez l'Homme, quinze chez le Cheval, vingt chez le Lapin, vingt-cinq chez le Porc, trente chez le Bœuf, trente-cinq chez les petits Ruminants. Mais cette longueur, de même que le calibre, peut varier beaucoup selon les individus et les conditions dans lesquelles on examine le viscère, en particulier selon son état de relâchement ou de contraction [65].

II.2.1. Les différentes parties de l'intestin grêle

II.2.1.1. Le duodénum

C'est le segment de l'intestin grêle compris entre le pylore et la courbure duodéno-jéjunale. Fixé à la paroi lombaire droite par un méso généralement étroit, il reçoit les conduits excréteurs du foie et du pancréas. Il décrit une boucle plus ou moins allongée dans le sens crânio-caudal, ouverte crânialement et un peu à gauche, de sorte que sa terminaison, voisine du rein gauche, est relativement peu éloignée de son origine [65].

Il forme une bouche ouverte vers l'avant, longue d'environ 1,2 mètres chez le bœuf et située du côté droit. Sa partie crâniale comme, ce au pylore, en regard de la neuvième ou dixième cote. Elle est formée d'une anse sigmoïde qui se dirige dorsalement et passe médialement à la vésicule biliaire. La deuxième branche de l'anse sigmoïde porte la papille duodénale majeure, qui reçoit uniquement la terminaison du conduit cholédoque chez le bœuf. Cette papille reçoit en outre le conduit pancréatique dans l'ampoule hépato-pancréatique (ampoule de VATER) chez les petits ruminants domestiques. La partie descendante, presque rectiligne, parcourt superficiellement le flanc droit depuis la courbure crâniale jusqu'à la courbure située en regard de l'angle de la hanche ; elle est suspendue au mésoduodénum, et reçoit ventralement sur toute sa longueur l'attache du grand omentum. Le pancréas adhère au bord dorsal de la partie descendante, sur la première moitié de son trajet, et, chez le bœuf, déverse ses sécrétions exocrines par un unique conduit qui débouche à mi-longueur, soit à environ 30 centimètre de la papille duodénale majeure. La courbure caudale contourne le bord libre du grand omentum et se poursuit en direction du diaphragme par la partie ascendante, située dorso-médialement et parallèlement à la partie descendante. La partie ascendante passe contre la face gauche du grand mésentère et se termine par la courbure duodéno-jéjunale.

II.2.1.2. Le jéjun- iléon

Cette partie de l'intestin grêle, appendue à un vaste mésentère, est beaucoup plus longue et plus mobile que le duodénum. Elle commence à la courbure duodéno-jéjunale et se termine à l'ostium iléal. La division classique en jéjunum et iléum reste arbitraire, bien que la partie terminale, formée par l'iléum, présente des particularités morphologiques et fonctionnelles assez nettes. Ces dernières n'apparaissent en effet que de façon progressive et aucune limite précise ne peut être fixée entre les deux parties du conduit.

Le calibre varie selon l'espèce, le segment considéré et l'état fonctionnel. Il est plus grand en proportion chez les Carnivores que chez les Herbivores et en général plus faible quand le conduit est plus long : il est, au niveau du jéjunum non distendu, de l'ordre de 20 à 25 millimètres chez un Chien de taille moyenne, de 25 à 30 millimètres chez l'Homme, de 35 à 45 millimètres chez le Cheval et de **25 à 30 millimètres chez le Bœuf**, la longueur du jéjuno-iléum étant en moyenne approximative de 3,5 mètres chez le Chien, 7 mètres chez l'Homme, 22 mètres chez le Cheval, **40 mètres chez le Bœuf**. Le calibre peut être plus que doublé par la distension ou au contraire réduit de moitié par contraction. D'autre part, il se réduit de façon très progressive dans la moitié distale du conduit, en même temps que la paroi de ce dernier devient plus épaisse et plus ferme. Le Lapin constitue toutefois une exception, car la terminaison de l'iléum est au contraire dilatée chez lui en une ampoule iléale ou sacculus rotundus [66].

II.3. Le gros intestin

Le gros intestin (Intestinum crassum) est la partie du tube digestif qui fait suite à l'intestin grêle et se termine à l'anus, orifice par lequel il s'ouvre à l'extérieur, il est divisible en trois segments successifs : le caecum, le côlon et le rectum, auxquels il faut ajouter le bref canal anal, qui possède une morphologie bien distincte. Ce dernier mis à part et en dépit de très grandes différences de conformation, ces diverses parties présentent de nombreux caractères communs [67].

A. Le rôle du gros intestin

C'est dans le gros intestin que s'achève la digestion. Malgré l'absence de villosités, l'absorption y est fort active. La sécrétion de la muqueuse dilue à cet effet le contenu du conduit pour en permettre, par une sorte de lavage, l'extraction des derniers principes digestifs. Dans la partie terminale s'accumulent enfin les résidus qui sont périodiquement rejetés à l'extérieur lors des défécations [68].

A ces fonctions en apparence simples s'ajoutent des phénomènes de digestion vraie, dont l'importance varie beaucoup avec le régime alimentaire. A peu près nul chez les Carnivores, ce rôle devient beaucoup plus important chez les Herbivores, surtout non ruminants. Chez le Porc, les Equidés, le Lapin, les parties initiales du gros intestin présentent à cet effet un grand volume et une complication extrême, qui leur permettent de fonctionner à la façon du proventricule des Ruminants. Ainsi se constituent de vastes réservoirs dans lesquels pullulent des micro-organismes capables de dégrader la cellulose et de produire en outre protéines et vitamines. Les produits de dégradation peuvent eux-mêmes être modifiés par les sécrétions de la muqueuse, laquelle possède une étendue considérable et assure ainsi l'utilisation optimale des aliments [68].

B. Dimensions et Capacités du gros intestin

Plus encore que l'intestin grêle, le gros intestin est donc marqué par la nature de l'alimentation et le genre de vie. Il est bref et de conformation très simple chez les Carnivores ; il est au contraire fort long et compliqué chez les Herbivores. Sa longueur moyenne est ainsi de 0,35 m chez le Chat, 0,70 m chez le Chien, 1,60 m chez l'Homme, 5 m chez le Porc, 8 m chez le Cheval, **11 m chez le Bœuf**, 7 m chez la Chèvre, 2,30 m chez le Lapin [68].

Bien qu'il soit plus court chez les Equidés que chez les Ruminants, le gros intestin est incomparablement plus volumineux chez les premiers, où son calibre est beaucoup plus fort et où il occupe à peu près les trois quarts de la cavité abdominale.

Sa capacité est en moyenne de 140 litres chez le Cheval, de 70 chez l'Ane et de 10 à 12 chez le Porc, alors qu'elle n'atteint que **40 litres** chez **le Bœuf** et **4 ou 5** chez **le Mouton** et **la Chèvre**.

La surface de la muqueuse atteint ainsi plus de 7 mètres carrés chez le Cheval, alors qu'elle n'excède guère **2,5 mètres carrés** chez **le Bœuf**, dont les parois caecale et colique restent lisses [69].

II.3.1. Les différentes parties de l'intestin grêle

II.3.1.1. Le caecam

Le caecum est un sac cylindroïde dépourvu de bosselure et simplement parcouru par des sillons transversaux peu marqués. Chez le bœuf, il mesure **50 à 70 cm de long** et de **10 à 12 cm de large**. Son extrémité borgne arrondie est caudale et flotte librement à l'entrée du bassin, son extrémité crâniale, accolée au mésentère, se poursuit directement par le colon. La limite caecum-colon, seulement marquée par l'abouchement de l'iléon, se situe en regard de la dernière cote [69].

II.3.1.2. Le Colon et le rectum

Le côlon constitue la majeure partie du gros intestin. Il mesure une dizaine de mètres chez le bœuf, dont huit à neuf sont constitués par le seul colon ascendant qui, d'une façon générale, prend une importance considérable chez les herbivores, il fait suite à l'iléum et au caecum quand celui-ci existe, la papille iléale faisant alors la démarcation. Il se continue par le rectum [69].

III. Les micro-organismes (la flore) chez les ruminants

III.1. Les micro-organismes

Les micro-organismes sont, comme leur nom l'indique, de taille très réduite qu'on peut les observer sous microscope. Du fait qu'ils induisent un désordre pathologique dans les tissus qu'ils envahissent, ces agents sont qualifiés de pathogènes.

Il faut bien noter, cependant, que seule une petite partie des micro-organismes qui existent dans la nature est effectivement pathogène, et qu'inversement beaucoup sont indispensables à la santé des êtres humains et animaux. Ainsi la digestion des aliments s'appuie-t-elle, en particulier chez les ruminants, sur la présence dans le système digestif de micro-organismes qui contribuent à réduire la

nourriture en éléments plus simples à même d'être absorbés et assimilés par l'organisme.

Parmi les micro-organismes pathogènes, on distingue quatre groupes : les virus, les bactéries, les champignons et les protozoaires [64].

III.2. L'importance et composition de la flore intestinale

Les mammifères naissent avec un tube digestif stérile qui sera ensuite colonisé par des microorganismes, juste après la naissance. Les premières bactéries colonisatrices sont des anaérobies facultatifs comme les *Proteobacteria* qui ont vraisemblablement un rôle pour ajuster les conditions environnementales en baissant la concentration en oxygène, permettant la colonisation successive par des microorganismes anaérobies stricts comme les bactéries du genre *Bacteroides* et des phylums *Firmicutes* et *Actinobacteria* [75].

Le microbiote intestinal adulte est essentiellement composé de bactéries anaérobies strictes, avec deux phylums dominants qui sont les Firmicutes et les Bacteroidetes [23], suivis ensuite par les *Proteobacteria*, *Verrumicrobia*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* et *Cyanobacteria* [72].

Les bactéries ne sont pas réparties de manière homogène le long du tube digestif. Sur le plan quantitatif, leur nombre va croissant de la partie la plus proximale à la plus distale, avec de l'ordre de 10^1 par gramme dans l'estomac jusqu'à 10^{12} par gramme dans le colon, qui contient plus de 70% des bactéries du microbiome de l'hôte. Il existe également des variations le long de l'axe cryptovillositaire, avec une augmentation du nombre de bactéries depuis la surface épithéliale jusqu'à la lumière intestinale.

Sur le plan de la diversité, la composition du microbiote intestinal montre des variations selon les deux axes précédents, mais il serait probablement prématuré d'étendre les informations connues chez l'homme [71] à toutes les espèces.

Le microbiote intestinal est impliqué dans des fonctions métaboliques, trophiques et protectrices. Il participe à la digestion par la production d'enzymes et de vitamines n'existant pas (ou peu) chez l'hôte ; il contribue à extraire de l'énergie à partir des oligosides non digestibles et module la capacité d'absorption de l'épithélium digestif pour divers nutriments. Il a un rôle dans la régulation du renouvellement des cellules de la paroi intestinale. Il assure des fonctions protectrices, d'une part en limitant l'implantation de bactéries pathogènes par des mécanismes de résistances à la colonisation et, d'autre part, en stimulant et éduquant le système immunitaire [75].

Les animaux axéniques sont des modèles déterminants pour comprendre le fonctionnement du microbiote et ses interactions avec l'hôte, et valider ainsi les fonctions qui lui sont attribuées [74].

Des travaux récents ont mis en évidence des interactions bidirectionnelles entre le cerveau et le microbiote intestinal faisant ainsi émerger un axe microbiote-intestin-cerveau [83].

Des modifications de la composition du microbiote intestinal sont capables de modifier le comportement, via la production de métabolites et neurotransmetteurs produits par les bactéries, qui sont impliqués dans des désordres psychiatriques, comme l'autisme, la dépression, l'anxiété, le stress [17].

Le microbiote intestinal est un écosystème dynamique qui capte les changements environnementaux (alimentation, pathogènes), afin de moduler efficacement les réponses métaboliques et immunitaires de l'hôte [10].

Cette adaptation est possible car le microbiote est un écosystème qui varie dans sa composition et/ ou son fonctionnement selon les conditions environnementales. Un état d'eubiose qualifie un équilibre entre bactéries symbiontes et pathobiontes.

En revanche, une dysbiose qualifie une rupture d'équilibre du microbiote intestinal, en lien avec des pathologies ou dysfonctionnements [49].

L'équilibre du microbiote intestinal participe donc à l'homéostasie et à la santé de l'hôte. Ainsi, comprendre les raisons du maintien ou de la rupture de l'équilibre du microbiote intestinal

d'un individu est une question primordiale pour identifier les moyens à mettre en œuvre pour créer ou restaurer un équilibre fonctionnel compatible avec la santé de l'hôte. De nombreuses associations sont identifiées entre des variations de la composition du microbiote et des pathologies ou dysfonctionnements. Il faut bien noter que ces associations ne renseignent encore que peu sur les causalités [9].

CHAPITRE_ II : LES STAPHYLOCOQUES

I. Le genre *Staphylococcus*

I.1. Historique

Dans les deux premières communications à l'académie des sciences en 1876 et 1880, Louis Pasteur a révélé et insisté sur l'existence de cette bactérie, qu'il avait isolée à la fois du pus de l'anthrax et de l'ostéomyélite et aussi des eaux de la seine [30, 58].

Ces germes, disposés en grappes de raisin à l'examen microscopique, ont été décrits par Robert Koch en 1878 [76].

Ces isolats observés et identifiés en 1879 dans des pus de furoncle et d'ostéomyélite par Pasteur comme étant "un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple, rarement par quatre, mais très fréquemment associés en petits amas". Ainsi, ils les ont cultivés en 1880 et disait que "l'ostéomyélite est le furoncle de la moelle épinière" [11, 76].

Ce n'est que plus tard ; en 1882 que le nom "Staphylocoque" a été donné par le chirurgien Ogston, pour décrire ces grains (*kokkos*), groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (*Staphylos*) [26, 57].

Koch, Pasteur et Ogston ont réussi à reproduire des abcès chez l'animal par inoculation des prélèvements de pus [30].

En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries, il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées [6, 30, 71].

I.2. Habitat

Les staphylocoques sont des pathogènes humains, fréquents, polyvalents et importants : certaines ostéomyélites des momies égyptiennes sont certainement d'origine staphylococcique [76].

Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, tels que la dessiccation (ils survivent plusieurs mois dans des produits pathologiques desséchés), aux variations de température (ils résistent 2 h à 55° C, voire 1 h à 60° C), au choc osmotique (salinité de l'eau) et résistent encore mieux en milieux albumineux.

Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières (l'air), l'eau et dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) [11].

Ces caractères ubiquitaires et saprophytiques expliquent que ces germes soient aussi des commensaux, occasionnels ou permanents de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux qui semblent constituer le principal réservoir de ces germes, secondairement localisés dans la nature, vraisemblablement par les squames et les poils [11, 27].

Les staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des « porteurs asymptomatiques ». Environ 50% des sujets normaux sont porteurs de *S. aureus* : porteurs persistants, porteurs occasionnels ou transitoires. Ils sont retrouvés particulièrement dans l'oropharynx, les fosses nasales antérieures qui paraissent être son gîte essentiel (*S. aureus* 30-40%, *S. epidermidis* 30-100%) et au niveau des régions cutanées chaudes (creux axillaire) et humides (périnée, aisselles) ; il n'est pas rare d'isoler *S. aureus* des selles [6, 31, 55].

Il ne faut donc pas systématiquement conclure que, dans certains prélèvements, la présence d'un *Staphylococcus aureus* (ou à plus forte raison d'autres espèces du même genre) soit corollaire d'infection [32].

En ce qui concerne la conservation de la vitalité des souches, elle persiste à +4°C pendant 3 mois dans le pus et pendant un an sur gélose [48]. Les souches de *Staphylococcus aureus* persistent une à deux années dans un culot de gélatine et dans des ampoules scellées pendant 17 ans en macération de viande de gélatine.

Aujourd'hui, l'emploi de la lyophilisation (Flosdorft Mudd 1953) fournit le meilleur moyen pour conserver des staphylocoques au laboratoire (comme par ailleurs les autres germes) [29].

I.2.1. Réservoirs de *Staphylococcus aureus* chez les hôtes humains et animaux

A la différence d'autres espèces de staphylocoques qui ont hôte préférentiel, les *Staphylococcus aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères. Cependant, les caractéristiques physiologiques et biochimiques des souches peuvent varier en fonction de l'espèce hôte et conduit à classer les souches en écovars ou biotypes. Ainsi six biotypes associés aux humain, aviaire/porcin, ovin/caprin, lièvre, chien et pigeon ont été décrit [22].

Un biotype abattoir associé aux produits carnés et au personnel des unités de production de produits carnés a également été caractérisé récemment [39]. Néanmoins, un grand nombre de souches ne peut pas être associé à un hôte particulier (souches dites non spécifiques d'hôte).

Staphylococcus aureus colonise la surface et les glandes de la peau, ainsi que les muqueuses de ses hôtes. Chez l'homme, il est principalement présent au niveau du tractus respiratoire supérieur, en particulier dans les fosses nasales [46].

Mais aussi au niveau du cuir chevelu et des mains [38]. Dans la bouche, il coloniserait préférentiellement la surface des dents [73]. Chez les vaches, il serait localisé principalement au niveau du mufle et de la peau des trayons [63].

La fréquence du portage sain de *Staphylococcus aureus* chez les humains varie en fonction des cohortes étudiées et des tissus examinés. Des fréquences de portage de 23% à 46% ont été observées au niveau des narines [3]. De 24% à 36% au niveau de la bouche chez les adultes [73]., et jusqu'à 64% chez les enfants [84]. Elles apparaissent plus faibles chez les animaux que chez les humains [62]. Parmi les animaux, elles semblent plus élevées chez les animaux d'élevages, comme les poulets (50%), [43] ; les porcs (42%), [53] ; les brebis (29%), [81] ; les vaches (de 14% à 23%), [50], que chez les animaux sauvages, pour ces derniers le nombre d'individus étudiés pour les différentes espèces était faible [46].

A partir de ces différents réservoirs, ce germe pathogène opportuniste peut infecter des lésions cutanées, le tractus génital et intestinal, les glandes mammaires de ses hôtes.

I.2.2. Description et survie dans des environnements variés

Staphylococcus aureus possède des capacités d'adaptation et de résistance au stress (tolérance à la dessiccation, résistance au stress osmotique et aux carences nutritionnelles) qui font de lui un organisme ubiquitaire capable de survivre dans des environnements très variés [16].

Ces caractéristiques expliquent en partie les difficultés pour l'éradiquer de l'environnement hospitalier ou agroalimentaire.

I.2.2.1. Environnement hospitalier

Staphylococcus aureus est un des principaux micro-organismes responsables d'infections nosocomiales, en particulier celles consécutives à l'implantation de prothèses. La contamination est principalement d'origine humaine et les voies de transmission identifiées sont liées au contact entre individus, aux aérosols, et au contact avec les surfaces contaminées. Des souches de *Staphylococcus aureus* commensales de la peau ou des fosses nasales ou associées à une affection des voies respiratoires et excrétées par la toux les éternuements par le personnel hospitalier ou les patients peuvent contaminer l'air et le matériel chirurgical. Dans une étude réalisée au sein d'un hôpital aux États-Unis, 64% des échantillons d'air prélevés sur une période de 18 mois en salle d'opération étaient contaminés en *Staphylococcus aureus* entre 12,5 et 41,5 UFC/m³ [24].

L'étude de la diversité des souches par PMRC (Profil de Macro Restriction du Chromosome) PFGE a montré la clonalité entre deux souches isolées du nez des personnels soignants et celles retrouvées dans l'air ou sur le matériel. Cependant, aucun cas d'infection nosocomiale n'a été rapporté chez les 70 patients opérés au cours de la période.

La survie des souches clinique de *Staphylococcus aureus* à la dessiccation peut varier de trois à six mois en fonction des souches et des conditions environnementales. [28].

Des chercheurs ont observé la survie pendant au moins trois mois de souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline inoculées sur des carrés de coton stériles et incubés à température et humidité ambiantes.

Cependant, les souches isolées de la peau du personnel soignant mises en cause lors d'une épidémie dans un service de néonatalité se sont révélées plus sensibles à la dessiccation que des souches isolées de la peau de patients dans les services des grands brûlés ou une transmission par l'air ambiant était suspectée.

I.2.2.2. Aliments et leur environnement de production

Staphylococcus aureus peut être responsable de toxi-infections alimentaires (TIA) liées à sa capacité à produire des entérotoxines. Il est notamment le principal germe incriminé dans les TIA associés aux fromages au lait cru. La contamination des aliments peut être d'origine humaine, liée à la matière première (carcasses animales, lait cru) ou survenir en cours de processus, en raison de défauts d'hygiène du matériel de production.

Les produits carnés de salaison peuvent également être contaminés par *Staphylococcus aureus*. Dans une unité de production traditionnelle de saucisson sec de porc, parmi 412 isolats de *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* n'a pas été détecté sur les surfaces et équipements [19].

Mais il a été occasionnellement détecté sur la viande de porc. Il s'est alors développé lors de la fabrication et de l'affinage des saucissons pour atteindre 2,51 log UFC/cm² après 9 semaines d'affinage [14].

Le caractère halotolérant de *Staphylococcus aureus* est aussi illustré par sa capacité à survivre 90 jours durant l'affinage de sardines salées [5].

I.2.2.3. Environnements hydrique

Staphylococcus aureus serait capable de survivre dans l'eau pendant plusieurs mois, pourvu qu'il dispose d'un minimum de nutriments pouvant être apportés par des cellules sénescents (croissance cryptique).

I.3. Classification

Selon la classification de **GM Garrity et al [35]** ; Le phylum Firmicutes (**Annexe2**) est constitué de quatre classes : *Clostridia*, *Mollicutes*, *Bacilli*, *Togobacteria*. La classe des *Bacilli* est constituée de deux ordres : *Bacillales* et *Lactobacillales*, dont chacun est divisé en quatre familles ; *Staphylococcaceae* constitue la 4^{ème} famille des *Bacillales*, celle-ci comprend un seul genre : *Staphylococcus* (GC% 30-39%).

Le genre *Staphylococcus* est proche des genres *Listeria* et *Bacillus* et occupe une place très importante en pathologie humaine et animale.

La classification du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs qui repose sur l'analyse des séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S et on reconnaît actuellement 45 espèces et sous espèces de staphylocoques, que l'on peut identifier grâce à leurs différents caractères phénotypiques (réactions biochimiques, structure de la paroi) et génotypiques (polymorphisme de restriction, ribotypage et autres), ce dernier étant le plus souvent réservé aux études épidémiologiques.

II. L'espèce *Staphylococcus aureus*

II.1. Morphologie

Les staphylocoques sont des Cocci à Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1,5µ de diamètre ; ce n'est qu'au cours de la lyse ou de la dégénérescence (veilles cellules), que parfois les cellules perdent leur affinité tinctoriale et peuvent devenir à Gram variable [20, 30, 36].

Ainsi, ils sont immobiles, non sporulés, ne possédant pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudocapsule [48].

La division cellulaire peut se faire sur plusieurs plans, ce qui donne lieu à des arrangements cellulaires variés : la division dans les trois plans de l'espace n'aboutit pas à la séparation complète des cellules filles [20, 25]. Dans le pus, à la fois intra et extracellulaire, les staphylocoques se regroupent de façon variable [30].

Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin" [30, 31, 32]. Alors qu'en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en générale de 3 à 5 éléments) [48].

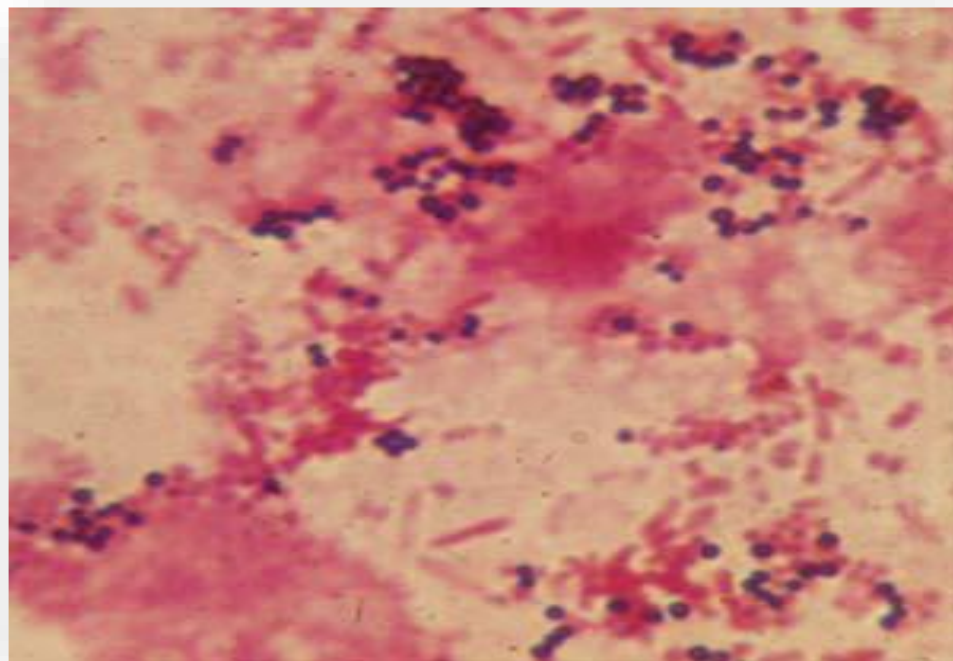


Figure 1 : Staphylocoques en amas.

II.2. Caractères cultureux

Peu exigeants sur le plan nutritif, les staphylocoques sont aérobies anaérobies facultatifs (quelques souches exigent le CO₂ pour croître), et croissent bien sur les milieux usuels simples, de même que sur la plupart des milieux qui favorisent la croissance des bactéries à Gram positif. Certains facteurs de croissance sont indispensables (Vitamine B1, acide nicotinique) mais ils n'exigent pas de biotine ni de tryptophane, ils poussent en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et un de quatorze acides aminés dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique. La température optimale de croissance est de 37°C et le pH optimal est de 7.5, mais de grandes variations sont tolérées [20, 30, 48].

En bouillon, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide [45].

Après culture de 24 heures sur gélose au sang, les colonies qu'ils produisent sont de plus grand diamètre que celles produites sur gélose nutritif. Ainsi, une pigmentation peut être observée où la couleur varie selon l'espèce, le caractère pigmentaire n'est donc pas propre à l'espèce [20].

Ce pigment non diffusible dans le milieu, soluble dans les solvants des graisses, est de nature caroténoïde et comporte un mélange d'au moins sept constituants, son rôle physiologique n'est pas bien connu. Les souches productrices ont, en général, un métabolisme très actif et une diffusibilité épidémique grande, l'absence de production est souvent associée à d'autres caractères (groupes phagiques et antigéniques) [48].

Le milieu de Chapman est particulièrement utilisé, il ne laisse croître au bout de 24 à 48 heures que les staphylocoques, germes halophiles qui tolèrent des concentrations élevées de NaCl jusqu'à 7,5% (qui inhibe pour cette raison, la plupart des autres germes), ce milieu sélectif rendu différentiel par l'addition de Mannitol à 1% et d'un indicateur d'acidité, le rouge de phénol, permet à la fois d'isoler le staphylocoque à partir d'un prélèvement contenant un mélange de germes et nous oriente vers un *S. aureus* ou un *S. epidermidis* [20, 30, 48].

Par contre, en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le staphylocoque, le milieu de Baird Parker est utilisé. Il est à base de téllurite comme agent sélecteur, enrichi en glycine, en pyruvate et en jaune d'œuf. Il faut noter que les milieux sélectifs ne conviennent pas pour isoler les staphylocoques de l'air [48].

II.3. Caractères physiologiques et biochimiques

Toutes les souches produisent une catalase mais pas d'oxydase. Ainsi, les souches de *S. aureus* sont : indole -, acétone +, uréase +, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine [30, 48].

De plus, la plupart des souches de *S. aureus* contrairement aux autres espèces produisent de l'hémolyse bêta, caractéristique utile lorsqu'on cherche à identifier un staphylocoque [20].

S. aureus possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques [32].

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés ; (glucose, saccharose, lévulose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol. L'utilisation du mannitol est une indication importante parce que ce polyalcool est fermenté par *S. aureus* et *S. epidermidis* [20, 30].

Cependant, la production de pigments (caractères culturels), d'hémolyse et la dégradation du mannitol n'ont pas toujours lieu ; ce sont des indices auxquels on ne peut se fier pour identifier le germe de façon certaine. Il faut donc procéder à son identification par l'étude de différentes propriétés biologiques et biochimiques [20].

Ce qui caractérise mieux l'espèce *S. aureus*, c'est la production d'une staphylo-coagulase (**Tableau 1**) [31]. Cependant, certaines souches de *S. aureus* peuvent ne pas produire de coagulase libre en raison d'une mutation. Ainsi, une DNase thermostable permet de déterminer si le germe isolé est un *S. aureus* [20].

Tableau 1 : Caractères distinctifs de *Staphylococcus aureus*.

Espèce <i>S. aureus</i>		Autres espèces de staphylocoques
Aspects des colonies	Pigment doré	Blanches
Milieu de Chapman	Acidification du mannitol (jaune)	Pas d'acidification du mannitol (rouge) sauf <i>S. epidermidis</i>
Staphylo-coagulase	Positive	Négative

II.4. Substances élaborées

Toutes les souches de *S. aureus* produisent des protéines excrétées dans le milieu extracellulaire et sont douées soit d'une activité enzymatique, soit d'une activité toxique ; mais la distinction entre ces deux formes d'activité biologique est souvent difficile [57, 58].

De même, le caractère extracellulaire de ces substances n'est pas toujours respecté, certaines d'entre elles restent fixées à la membrane cytoplasmique [48].

II.4.1. Enzymes

II.4.1.1. Coagulase libre

La sécrétion de la coagulase est le caractère taxonomique essentiel de l'espèce [32]. La présence de cette enzyme définit l'espèce *S. aureus* [25, 30].

C'est une enzyme extracellulaire, thermostable peu antigénique. Néanmoins, elle entraîne l'apparition d'anticorps inhibant son activité biologique, ils sont généralement présents dans le sérum des sujets sains [48].

Elle est capable de coaguler en quelques heures le plasma humain (ou de lapin) prélevé sur héparine, Oxalate ou EDTA [40]. Cette protéine est d'origine chromosomique. Elle est produite pendant la phase exponentielle de croissance du germe. Sa synthèse nécessite la présence d'acide glutamique, d'histidine et de lysine [48]. Son PM (Poids Moléculaire) varie selon les souches de 31 à 58 kDa et son pI (point Isoélectrique) est de 5,5, sa formation ne nécessite pas la présence de calcium.

Elle n'est pas activée par le fibrinogène purifié. Pour agir, elle a besoin d'une globuline plasmatique voisine ou analogue à la prothrombine (coagulase reacting factor) [6, 48].

Il semble que la présence de cette enzyme soit liée à la capacité de *S. aureus* à provoquer l'infection, elle joue certainement un rôle important dans le pouvoir pathogène [48], elle recouvre les corps bactériens d'une coque de fibrine, ce qui les protège et inhibe leur phagocytose et favorise leur dissémination [50]. Toutefois, elle n'est pas indispensable au rôle pathogène [48].

In vivo, elle peut entraîner la formation d'un caillot endoveineux, facteur primordial dans la constitution des septicémies [32].

II.4.1.2. Coagulase liée

A côté de cette coagulase "libre", il existe aussi une autre substance insoluble qui paraît être fixée au corps bactérien appelée coagulase liée ou "clumping factor" qui peut être rencontrée chez certaines espèces de staphylocoques coagulase négative, telles *S. lugdunensis*, *S. schleiferi* et certaines souches de *S. intermidis* [6, 48].

Cette protéine, très riche en lysine (PM de 21 kDa, pI de 10,3), est présente chez presque toutes les souches d'origine humaine mais elle est moins fréquente chez les souches d'origine animale [48].

C'est un constituant de la paroi diffusible dans le milieu après autolyse, elle réagit directement avec le fibrinogène ou des monomères solubles de fibrine [40] et provoque une agglutination chez 98% des souches de *S. aureus* en raison du caractère dimérique du fibrinogène natif [6, 48]. Cette coagulase ne dégrade pas le fibrinogène en fibrine et se fixe sur son extrémité carboxyterminal [48].

Elle est responsable de la formation d'une sorte de coque autour des germes qui deviennent ainsi résistants à la phagocytose et entraînent la formation d'emboles septiques [31, 32].

II.4.1.3. Fibrinolysine ou staphylokinase

C'est une enzyme qui active le plasminogène en plasmine. Elle agit sur le plasma humain, de chien, de cobaye et de lapin, et est généralement produite par les souches d'origine humaine. Du point de vue génétique, elle peut être soit d'origine chromosomique, soit d'origine phagique ; Deux phages convertisseurs de sérotypes différents ont été isolés ; le phage de groupe F provoque simultanément la perte de la β -hémolysine et le gain de la staphylokinase, tandis que, celui du groupe B provoque le gain de la seule staphylokinase [32, 48].

Cette substance thermolabile est antigénique, caractérise les souches pathogènes humaines, et est sécrétée par les germes ayant colonisé le caillot, elle contribue à sa dislocation et peut jouer un rôle dans la formation de microembolus suppurés responsables des métastases septiques [6, 48].

II.4.1.4. Autres enzymes

II.4.1.4.1. Catalase

Elle inhibe la bactéricidie intraleucocytaire en empêchant la formation, par les globules blancs, de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie [25].

II.4.1.4.2. Protéases

Elles hydrolysent certaines protéines, telle que la staphylokinase, et contribuent à la destruction du caillot et à la formation de microembolus bactériens, responsables de métastases septiques [25].

On distingue au moins trois types connus : serine-protéase, métalloprotéase et thiolprotéase. La serine-protéase possède un résidu sérine au niveau de son site et coupe le lien peptidique sur le site carboxyterminal des acides aminés dicarboxyliques ; cette enzyme serait elle-même activée par la métalloprotéase. La thiolprotéase n'est active qu'en présence d'agents réducteurs [48].

II.4.1.4.3. Hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile (80 kDa), agissant à pH acide, qui hydrolyse l'acide hyaluronique présent dans la matrice acellulaire du tissu conjonctif dont elle diminue la viscosité ; ce qui a pour effet, de permettre la diffusion des staphylocoques dans les tissus [6, 25, 30, 48].

II.4.1.4.4. Nucléases

Ce sont des enzymes capables d'hydrolyser le DNA et le RNA ; leur action s'exerce à pH alcalin en présence de calcium.

La désoxyribonucléase thermostable (thermonucléase) est produite par toutes les souches de *S. aureus*, ainsi que par environ 5% de souches de staphylocoques à coagulase-négative, appartenant aux espèces *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis* et *S. schleiferi*, alors que celle des autres

espèces bactériennes est thermolabile. Ces nucléases interviennent dans la formation des lésions tissulaires [6, 25, 32, 48].

II.4.1.4.5. Lipases et estérases

Elles sont capables de métaboliser les graisses cutanées et jouent un rôle dans la dissémination de l'infection [25, 32, 48].

II.4.1.4.6. Phosphatases

Les phosphatases alcaline et acide (pH optimaux 10.8 et 5.2) sont localisées sur la membrane cytoplasmique ou l'acide teichoïque. Leur rôle physiologique n'est pas connu. Seule la phosphatase acide est partiellement libérée dans le milieu [6, 48].

II.4.1.4.7. Lysosyme

S. aureus produit un lysosyme capable de lyser la paroi de cellules bactériennes (*Micrococcus lysodeikticus*) ; il s'agit en fait d'une endo- β -N-acétylglucosaminidase [48].

II.4.1.4.8. β -lactamases

Elles inactivent les β -lactamines et jouent un rôle important dans la résistance des souches de staphylocoques à ces antibiotiques [25, 32].

II.4.2. Mécanismes moléculaires de pathogénicité

II.4.2.1. Staphylolysines ou hémolysines

II.4.2.1.1. L'Alpha-hémolysine ou alphatoxine staphylococcique

C'est une exotoxine protéique de PM de 33 kDa et de pI de 8.55, thermostable, antigénique, induisant la formation d'anticorps neutralisants, son gène de structure est cloné et la séquence d'acide aminé est connue. La toxine est inactivée à 60°C et réactivée à 100°C (effet Arrhénius).

Synthétisée par 80 à 90% des souches pathogènes, elle est cytotoxique et cytolytique pour une grande variété de types cellulaires, elle agit sur de nombreuses membranes cellulaires (érythrocytes, leucocytes, plaquettes, fibroblastes), et entraînerait la formation de canaux intra membranaires créant des troubles osmotiques et une lyse et permettant le passage de molécules de petite taille. Le

mode d'action à l'échelle subcellulaire ou moléculaire reste incertain. Elle est douée d'un pouvoir nécrotique important sur le derme lorsqu'elle est injectée par voie sous cutanée. *In vitro*, elle dissocie les liposomes [6, 25, 32, 48].

II.4.2.1.2. La bêta-hémolysine

Elle est thermolabile de PM de 26 à 38 kDa et de pI 9.4, synthétisée par 94% de souches animales et par 54% de souches humaines. Il s'agit d'une phospholipase de type C, active sur la sphingomyéline, d'où son nom de sphingomyélinase de type C, et donne une hémolysine accrue en présence de souches de *Staphylococcus agalactiae* [6, 48].

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

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

Le rôle pathogène de cette toxine n'est pas précis, car elle est instable à l'état purifié et ses effets cytopathiques sont mal connus [25, 48].

II.4.2.1.3. La gamma-hémolysine

Elle est antigénique chez l'homme, et est formée de deux constituants I (PM : 29 kDa, pI : 9.8) et II (PM : 26 kDa, pI : 9.9) agissant en synergie et dont le cholestérol inhibe l'action. La gamma toxine et les leucocidines sont des toxines synergohyménotropes hydrosolubles, 98% des isolats cliniques de *S. aureus* produisent deux toxines synergohyménotropes ayant une activité biologique différente [31]. Elle a une action pro-inflammatoire, sa toxicité n'est pas admise par tous les auteurs [6, 25, 48].

II.4.2.1.4. La delta-hémolysine

Protéine de PM de 103 kDa, composée de sous unités (PM : 5 kDa, pI : 9.5), elle est thermostable et hydrophobe, faiblement antigénique. Son activité biologique n'est pas enzymatique, elle agit comme un détergeant sur les membranes biologiques, sans spécificité mais avec une certaine rapidité, et inhibe l'absorption de l'eau et la production d'acide adénosine mono phosphorique cyclique (AMPc), semblant ainsi jouer un rôle dans les diarrhées aiguës des infections à *S. aureus* [6, 25, 48].

Elle est active notamment sur les érythrocytes de lapins, de chevaux, de l'homme et de cobayes, les macrophages et les granulocytes. La delta toxine inhibe aussi la respiration mitochondriale et la phosphorylation, mais sa toxicité *in vivo* paraît douteuse car elle est complètement inhibée par le sérum sanguin, le fibrinogène, les globulines sériques alpha et beta et les phospholipides [48].

II.4.2.2. La leucocidine de Pantone Valentine

Elle est formée de deux constituants protéiques F (PM de 32 kDa et pI de 9.0) et S (PM de 38 kDa) agissant en synergie : le composant F se combinerait avec la chaîne d'acide gras des phospholipides, le composant S s'adsorberait sur le complexe et se combinerait avec les inositoltriphosphates ; or ces substances ne sont présentes que dans les granulocytes de l'homme et du lapin [6, 48].

L'activité biologique de cette toxine est très particulière et s'exerce spécifiquement sur les granulocytes, les macrophages et les basophiles de l'homme et du lapin [37].

L'injection intraveineuse de leucocidine purifiée à des lapins induit, en quelques heures, une réduction du nombre de leucocytes ce qui entraîne une granulocytopenie, suivie d'une granulocytose réactionnelle (dermonécrose) [6, 48]. L'effet toxique sur les leucocytes est dû à une modification de la perméabilité cationique [6].

II.4.2.3. Exfoliatine ou épidermolysine

Certaines souches de *S. aureus* (environ 5%) secrètent une toxine à tropisme cutané : la toxine épidermolytique ou exfoliatine. Bien que sa découverte soit récente, cette toxine est avec l'entérotoxine, l'une des plus intéressantes par la spécificité de son action sur la peau et son rôle pathogène indiscutable [58]. Les souches, productrices de cette toxine, entraînent un clivage intraépidermique et la formation de lésions cutanées bulleuses plus ou moins étendues. L'examen au microscope électronique confirme l'existence de "fissures" comblées par un liquide. Les souches toxigènes sont particulièrement responsables d'infections néonatale et infantiles : syndrome de Lyell, impétigo bulleux et autres [60].

C'est une exotoxine protéique d'un PM de 27 kDa, 30 à 40% des souches du groupe phagique II produisent cette toxine, soit 5% des souches hospitalières. Elle est synthétisée, également, par des souches des groupes I et III et quelques souches non groupables [48].

On distingue deux sérotypes différents sur les plans biologique et sérologique : exfoliatine A, la plus fréquente et exfoliatine B. Le sérotype A (PM de 26.9 kDa, un pI de 6.8) est thermostable, codée par un gène chromosomique (90% des exfoliatine). Le sérotype B (PM de 27.3 kDa, un pI de 6.95) est thermolabile et d'origine plasmidique (4 à 5% des exfoliatines), les deux sérotypes peuvent être produits par une même souche [7].

Elles se fixent sélectivement sur une protéine intracellulaire de la peau, la profilaggine. L'exfoliatine n'agit spécifiquement que sur les cellules de certaines espèces : homme, singe, souris et hamster. Le mode d'action au niveau moléculaire reste inconnu. Elles ressemblent à des sérines protéases, mais ne sont pas protéolytiques [6, 48].

II.4.2.4. Les entérotoxines

Ce sont des exotoxines protéiques relativement thermostables et résistantes aux enzymes digestives, agissant sur les récepteurs neurovégétatifs mésentériques. Elles sont caractérisées par leur PM compris entre 27. 8 et 34.1 kDa, leurs points isoélectriques et leur sérotypie. Sur le plan antigénique, huit entérotoxines sont identifiées : A, B, C1, C2, C3, D, E et H. Leur production est assez répandue chez *S. aureus*, elles ne sont élaborées que par certaines souches appelées

staphylocoques entérotoxigènes [6] ; les maladies provoquées par ces souches se présentent sous deux formes particulières [32, 48] :

- Les intoxications alimentaires sont généralement observées sous forme d'épidémie localisée aux personnes ayant consommé le même repas : cantines, restaurants, où l'infection staphylococcique est l'une des plus fréquentes des toxi-infections alimentaires après les salmonelloses. Les sérotypes A, B et D sont les plus fréquents dans ce type d'intoxication. Certaines de ces entérotoxines (Ent A) ont un effet mitogène sur les lymphocytes, et certaines (Ent B) sont des protéines plus thermostables que les autres.

- Les entérocolites aiguës pseudo-membraneuses : la possession d'un gène d'entérotoxine n'est pas exceptionnelle, on retrouve une ou plusieurs de ces toxines chez environ la moitié des souches hospitalières, ce qui rend délicat le rattachement d'un syndrome clinique à l'isolement d'une souche entérotoxigène [6].

II.4.2.5. Toxine du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique

La TSST-1 (Toxic Shock Syndrome Toxin -1) est une exotoxine produite par 95% des souches de *S. aureus* isolées du vagin [6]. Elle est d'origine chromosomique. Cette toxine (PM de 2 kDa, pI de 7.2) est produite par des souches du groupe phagique I (lysotype 29), fortement protéolytique mais peu ou pas hémolytique, au cadmium et à l'arsinate. La TSST-1 est un mitogène non spécifique des lymphocytes T humains et animaux, elle induit la production d'interleukine 1, elle est pyrogène et létale, sa toxicité est fortement augmentée si l'injection intraveineuse est suivie de celle de lipopolysaccharide.

Elle se fixe spécifiquement sur des cellules humaines épithéliales conjonctivales en culture. La TSST-1 joue un rôle essentiel dans la pathogénie du SCTS. Ce dernier survient chez des sujets réceptifs dépourvus d'anticorps antiTSST-1 [48]. La pathogénie du SCTS est probablement multifactorielle [78].

Il est possible que soient impliquées d'autres toxines staphylococciques (entérotoxines B et C) ou l'endotoxine de bactéries. En effet, la proportion de souches productrices de TSST-1 est moins forte dans les SCTS d'origine non menstruelle [51].

La TSST-1 entraîne la formation d'anticorps dont la fréquence dans la population augmente avec l'âge (85% à 30 ans) [48].

II.4.2.6. Les toxines pyrogènes

Il existe deux toxines pyrogènes, mitogènes, aspécifiques et antigéniques d'un PM de 12 kDa réparties en deux sérotypes A et B. L'effet pyrogène est observé sur le lapin. Ces toxines sont impliquées dans les fièvres scarlatinoformes staphylococciques [6].

II.4.2.7. Le facteur de la succinic oxidase

Il inhibe l'oxydation du succinate par les mitochondries isolées du foie de souris [6].

III. Physiopathologie

III.1. Pouvoir pathogène expérimental

Il est nécessaire d'injecter 5.10^6 UFC de *S. aureus* sous la peau pour induire une infection dans une peau saine chez l'homme. Par contre, 100 bactéries suffisent pour infecter une zone de suture ou une peau comportant des lésions préexistantes [6].

Aucun animal de laboratoire n'est capable de reproduire les différents aspects de l'infection staphylococcique humaine. Cependant, le lapin est l'animal le plus sensible [6, 48].

Par voie intradermique, l'injection d'une culture de staphylocoque provoque une nécrose locale. Par voie sous-cutanée ou voie péritonéale, elle entraîne, respectivement, la formation d'un abcès qui guérit spontanément et une péritonite suivie le plus souvent d'une septicémie. Par voie intraveineuse, même à faible concentration dans la culture bactérienne, elle entraîne la mort du lapin en 4 à 10 jours dans un tableau septicémique voisin à celui rencontré chez l'homme. Il se forme de nombreux abcès viscéraux notamment rénaux [30, 48].

Enfin, les staphylocoques de virulence très faible provoquent la mort du lapin chez qui des arthrites et des myélites sont observées mais seulement au bout d'une vingtaine de jours. Chez le

lapin n'apparaît jamais une immunité à l'égard du staphylocoque. Rappelons que Fernand Bezançon a réussi à produire chez le jeune lapin l'ostéomyélite, un traumatisme épiphysaire favorisant l'apparition de la localisation osseuse [30].

Une étude expérimentale a été réalisée par **Kourilsky** et **Mercier** ; appréciant la virulence par voie intradermique chez des lapins témoins, ils ont observé une augmentation de la virulence par passages successifs à d'autres lapins, par les voies sous-cutanée, intrahépatique et périrénale et au contraire une diminution de virulence par passages successifs par la muqueuse nasale ou la voie intraveineuse [47].

De même, de nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle de facteurs extrinsèques pour augmenter la virulence des staphylocoques : adjonction à la culture de broyats de tissus en autolyse, de glucides, de substances accroissant l'inflammation comme l'alun ou le chlorure de calcium [30].

III.2. Pouvoir pathogène naturel

III.2.1. Staphylococcies cutanées sous cutanées et muqueuse

Ces staphylococcies sont les plus fréquentes [48]. *S. aureus* peut être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes qui peuvent évoluer de façon isolée ou entraîner des septicémies. On distingue : le furoncle, la folliculite, l'abcès, le panaris, l'anthrax, l'impétigo, la staphylococcie maligne de la face, l'arthrite, la pleurésie, la péritonite, l'ostéomyélite, la spondylodiscite, l'infection sur prothèse et les infections viscérales [6, 11, 31, 32, 55].

Des infections cutanées à *S. aureus* associées à la présence de cathéters sont observées, ainsi que des psoriasis ou des eczémas surinfectés, mais sans signes cliniques d'infection.

Au niveau des muqueuses, *S. aureus* peut être impliqué dans des phlegmons de l'amygdale, des sinusites, des mastoïdites ou des otites parfois récidivantes [6].

Des rachs scarlatiniformes font partie du syndrome de choc toxique lié à la présence de souches productrices de la toxine du syndrome de choc toxique ou de certaines entérotoxines. Ils sont aussi liés à la présence de la toxine pyrogène [6, 11].

Ainsi, l'infection cutanée à *S. aureus* peut se traduire chez le nouveau-né par une dermite exfoliatrice, maladie de Ritter (improprement appelé parfois syndrome infectieux de Lyell) et chez le nourrisson par un syndrome sévère dû à un décollement étendu de la couche superficielle de l'épiderme (aspect de peau ébouillantée) [6, 32].

III.2.2. Septicémies à *S. aureus*

En milieu hospitalier, les septicémies à *S. aureus* représentent une proportion importante des septicémies d'origine nosocomiale. La porte d'entrée est souvent un cathéter intravasculaire. Toutefois, certaines septicémies surviennent sans porte d'entrée apparente [55].

Les septicémies sont fréquentes et redoutables surtout chez les sujets ayant une résistance diminuée et chez les nourrissons [32].

Ce sont des complications des lésions suppuratives. Elles peuvent être suraiguës mortelles en quelques heures, aiguës caractérisées par de nombreuses métastases suppurées (septico-pyhémies) [31, 32].

Les septicémies à *S. aureus* sont d'une gravité préoccupante qui se compliquent volontiers, l'évolution est maillée de métastases septiques [6, 11, 31, 55].

Une forme particulière est la staphylococcie maligne de la face, elle a pour origine un furoncle de la lèvre ou de la narine qui se complique d'une thrombophlébite suppurée []. Les localisations à point de départ thrombo-embolique des *staphylococcies* sont variées [6, 32, 48]. Par exemple, les localisations viscérales surviennent soit isolément, soit dans le cadre d'une septicémie patente, il y a plusieurs types de localisations :

- *Staphylococcies* osseuses : l'ostéomyélite aiguë est une affection de l'enfant ou de l'adolescent ; elle touche classiquement les os longs et peut devenir chronique, les infections osseuses post chirurgicales à staphylocoques sont très préoccupantes ;

- *Staphylococcies* pleuropulmonaires : les formes des nourrissons sont très fréquentes, les formes de l'adulte sont plus rares et peuvent apparaître après une virose telle la grippe ;
- *Staphylococcies* urogénitales : les pyélonéphrites à *staphylocoques* sont assez fréquentes, *S. aureus* peut aussi entraîner la formation d'abcès isolés du rein ou des phlegmons périnéphrétiques ;
- *Staphylococcies* neuroméningées : elles sont rares et dominées par les méningites, observées surtout en milieu neurochirurgical (valves). Les méningites ne doivent pas être confondues avec l'épidurite *staphylococcique*, le pus étant alors localisé dans l'espace péri-dural. Des abcès du cerveau peuvent être rencontrés.
- Endocardites : elles sont observées chez les patients porteurs de valves cardiaques artificielles et chez les toxicomanes (septicémies souvent accompagnées d'une endocardite du cœur droit) [31, 55].

III.2.3. Les manifestations digestives

III.2.3.1. Toxinogénèses de *Staphylococcus aureus* dans les aliments

Les intoxications alimentaires à *S. aureus* ne sont pas des infections vraies avec multiplication bactérienne *in situ*, mais sont dues aux entérotoxines préalablement développées dans l'aliment, résistantes aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur. Le tableau clinique est impressionnant et surviennent deux à six heures après l'ingestion d'un aliment. La symptomatologie débute brutalement dans un contexte non fébrile en associant des vomissements incoercibles, une diarrhée aqueuse abondante, des douleurs abdominales et des céphalées. Ces signes apparemment graves sont en fait d'évolution rapide généralement bénigne, sauf chez les individus « fragiles » [4, 6, 11, 32, 55].

III.2.3.2. Entérocolites aiguës

Les entérocolites aiguës sont d'évolution sévère. Elles surviennent au cours d'une antibiothérapie intensive : un malade ayant reçu pendant une période prolongée un antibiotique à large spectre, mal absorbé par la muqueuse intestinale. La maladie se manifeste par une diarrhée

intense avec déshydratation rapide, d'évolution fatale. Ces entérocrites aiguës sont dues, alors, à la prolifération intense dans le tube digestif d'une souche de *S. aureus* antibiorésistante et productrice d'entérotoxines où la flore intestinale normale est détruite et remplacée par cette souche de *S. aureus*. Ainsi, la muqueuse intestinale est recouverte de fausses membranes (pseudo-membrane) avec des ulcérations hémorragiques et nécrotiques [6, 11, 31, 32].

III.2.3.3. Syndrome du choc toxique

L'infection à *S. aureus* est parfois à l'origine d'un syndrome dit de choc toxique staphylococcique lié à l'action du TSST-1. Il associe fièvre, diarrhée, hypotension et éruption scarlatiniforme, accompagnées de signes de défaillance polyviscérale : cérébrale, rénale, hépatique et musculaire [6, 31].

Il entraîne une certaine mortalité et peut s'observer dans deux circonstances. Dans la première, le syndrome survient pendant la période menstruelle chez des femmes utilisant des tampons hyperabsorbants et dans la seconde, il s'agit de sujets de l'un ou l'autre sexe présentant une suppuration localisée à *S. aureus*. Dans certains cas, l'infection staphylococcique peut s'accompagner d'un rash scarlatiniforme sans état de choc associé [54].

III.2.4. Les infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus*

III.2.4.1. Introduction

Il s'agit, d'une façon générale, d'une infection contractée à l'hôpital et se manifestant dans un délai supérieur à 48 heures après l'admission, à condition qu'aucune infection antérieure du même site n'ait été présent ou en incubation à l'admission [41]. Pour les infections d'une plaie opératoire, on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les trente jours suivant l'intervention, ou, en cas de mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention [18].

III.2.4.2. Les principales infections nosocomiales et leurs modes de transmission

- L'infection urinaire (44%) ;
- L'infection du site opératoire (ISO) (45%) ;
- La bactériémie ;

- L'infection sur cathéter ;
- La pneumopathie infectieuse (10-30 %) ;
- L'infection cutanée (11%) ;

Il y a quatre grands modes de transmission :

- ***L'auto-infection***, lorsque le malade s'infecte avec ses propres germes. Les ports d'entrée sont les lésions des muqueuses ou cutanées ;
- ***L'hétéro-infection***, lorsque la bactérie responsable provient de directement ou indirectement d'un autre malade ;
- ***La xéno-infection*** est évoquée lorsque le pathogène responsable provient de personnes extérieures présentant elles-mêmes une pathologie infectieuse.
- ***Les exo-infections*** proviennent soit d'un dysfonctionnement technique de matériel soit d'une erreur commise dans l'exécution des procédures de traitement du matériel médico-chirurgical.

III.2.4.3. Le traitement

Les traitements ne peuvent être prédéfinis et compte de la sensibilité réelle aux antibiotiques des isolats cliniques. Cependant, il est possible de citer un certain de molécules particulièrement anti-staphylococciques :

- Rifampicine ;
- Acide fusidique ;
- Fosfomycine ;
- Gentamicine ;
- Triméthoprim – sulfaméthoxazol ;
- Linézolide ;
- Synergistines ;
- Tygécycline ;
- Ceftobiprole ;
- Glycopeptides ; [21].

Par ailleurs, ces molécules seront choisies en fonction des voie d'administrations possibles, de

leur distribution et élimination tissulaire. Il faut savoir que parfois un antibiotique peut, à concentration sub-inhibitrice, induire une production de toxine exacerbée et devenir inducteur de séquelles infectieuses plus importantes. Cela semble souvent le cas des molécules dont la cible est membranaire [12].

III.2.5. L'infection à *Staphylococcus aureus* chez l'animal

III.2.5.1. Types d'infections chez l'animal

III.2.5.1.1. Suppurations diverses

a) Peau et tissus de revêtement

- Dermite suppurée (pyodermite) superficielles ou pyodermes profondes, souvent rebelles (toutes espèces, surtout le chien). Chez le chien, l'espèce *S.intermedius* est la plus fréquemment rencontrée et *S.aureus* est beaucoup plus rarement impliquer [59]. Chez le cheval, il s agit surtout de *S.aureus* ;

- Elles peuvent prendre un aspect bulleux toxine dermo-exfoliatrice), notamment chez le porc ou *S.hyicus* est responsable d une dermite exsudative contagieuse (greasy-pig disease ,eczéma séborrhéique du porc) chez le porcelet de moins de 3 mois (sous allaitement , au sevrage et dans la période post sevrage) ;

- Suppurations divers :

- Abscess sous cutané et cellulite chez le cheval ;
- Furoncle (toutes espèces) ;
- Anthrax (regroupement de plusieurs furoncles, toutes les espèces) ;
- Phlegmon (toutes espèces) ;
- Maux de garrot (cheval) ;
- Otites externe (chien). Chez le chien, l'espèce *S. intermedius* est la plus fréquemment rencontre et *S. aureus* est beaucoup plus rarement implique [59] ;

- **Mammites** : prennent souvent un aspect gangreneux ;

- Botriomycose (cheval, plaies de castration) :

La botriomycose est caractérisée par des lésions chroniques granulomateuses de la mamelle de la jument, de la vache et de la truie et du cordon spermatique des chevaux, après castration [13].

b) Suppurations profondes

- *Infections oto-rhino-laryngologique* (otites moyennes, surinfections voies respiratoires hautes) (chien, chat) ;

- Métrite (vache, chienne) ;
- Cystites (toutes les espèces) ;
- Abscesses profonds (périnéphrétique, pulmonaire) ;
- Ostéomyélites ;
- Endocardites ;
- Pleurésie, péritonite ;
- Arthrites, notamment chez les dindes, et les gallinacés.

Chez les gallinacés, le pied gonflé (*Bumblefoot*) est un processus Pyo-granulomateux chronique, dans les tissus sous-cutanés du pied, aboutissant à des gonflements épais d'une ou plusieurs articulations.

Chez les dindes, la septicémie se localise dans les articulations et les gaine des tendons [8].

III.2.5.1.2. Septicémies

Elles peuvent être d'origine thromboembolique et faire suite à une suppuration primaire ou résulter d'une contamination d'origine médicale (cathéter souillé par exemple), chez toutes les espèces animales [61].

III.3. Pathogénie et immunité

III.3.1. Pathogénie

Les mécanismes de déclenchement d'une maladie staphylococcique chez un sujet ne sont pas très bien connus. Les caractères propres du germe jouent certainement un rôle important. Les souches isolées des lésions sont le plus souvent porteuses de "marqueurs de virulence"

contrairement à celles isolées chez des porteurs sains : richesse en antigène de surface, sécrétion de toxines et d'enzymes, intense activité métabolique.

Toutes les souches de staphylocoques ont ces aptitudes à l'état potentiel mais les conditions de leur expression *in vivo* ne sont pas connues. Considérant les effets biologiques de nombreuses toxines et des enzymes staphylococciques ; seules l'exfoliatine et l'entérotoxine ont un rôle pathogénique bien défini ; les autres participent à la production de la maladie mais aucune ne joue un rôle déterminant de manière isolée.

C'est au niveau de la porte d'entrée de l'infection que l'on observe les lésions élémentaires, marquées au début par des signes inflammatoires, suivis rapidement de phénomènes suppuratifs et nécrotiques caractéristiques de l'infection staphylococcique. Le staphylocoque est un germe pyogène [11, 48].

III.3.2. Immunité

Il existe une forte immunité naturelle efficace contre les staphylocoques dans la population, du fait de la fréquence du portage de ces microorganismes, mais dont le support n'est pas encore établi. Ce qui explique la fréquence relativement faible des staphylococcies par rapport au risque de contamination par une espèce au potentiel pathogène si puissant. Cet état immunitaire n'est guère modifié après une infection, même grave. Les rechutes, les récurrences et le passage à la chronicité sont fréquents.

Il est, actuellement, aussi difficile de préciser le mécanisme exact de l'état de résistance que les facteurs qui interviennent dans le déclenchement de la maladie staphylococcique [48].

III.4. Epidémiologie et mode de transmission

III.4.1. Généralités

Dans les heures qui suivent la naissance, les staphylocoques de l'environnement immédiat (peau et muqueuse maternelle) colonisent l'ombilic, la peau, le périnée et le tube digestif du nouveau-né [25].

Le réservoir principal des staphylocoques à coagulase positive est l'homme, bien que l'on trouve fréquemment le germe dans la nature. La présence ubiquitaire du staphylocoque tient à sa grande résistance aux facteurs agressifs du milieu et explique que le mode de contagion soit direct et indirect (**Annexe 4**).

À partir de ces différents gîtes, le staphylocoque va pouvoir diffuser vers le milieu intérieur à l'hôte en déclenchant l'apparition d'une maladie [6, 48].

De nombreux facteurs modifient la prévalence de ce portage [33, 44, 77, 79, 80].

- ✓ **Âge** : le portage est plus important chez l'adulte ;
- ✓ **Profession** : les praticiens et les vétérinaires ont un portage plus élevé que les adultes du même âge ;
- ✓ **Injections répétées** : diabétiques insulino-dépendants, toxicomanie intraveineuse (IV);
- ✓ **Pathologie cutanée** : eczéma, escarres ;
- ✓ **Durée d'hospitalisation** : plus l'hospitalisation est longue plus les risques d'infection à *S. aureus* sont importants ;
- ✓ **Antibiothérapie récente** : déséquilibre de la flore saprophyte.

Les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et répandues dans le monde entier [11].

Elles sont d'origine endogène mais la transmission directe manuportée d'animal à un autre (possible à partir d'un sujet colonisé ou d'une lésion staphylococcique ouverte, cutanée ou muqueuse) reste relativement fréquente, de même que la transmission indirecte par le matériel ou l'environnement contaminé bien qu'il soit difficile d'établir le lien épidémiologique entre la source et le sujet infecté [11, 48].

De plus, l'utilisation d'antibiotiques sélectifs explique les staphylococcies qui apparaissent parfois sous la forme de graves épidémies surtout hospitalières (unités de soins intensifs, maternités, services à haut risque), provoquées souvent par des souches multirésistantes [2, 25, 32].

III.4.2. Marqueurs épidémiologiques

Qu'il s'agisse d'un contexte d'intoxication alimentaire collective ou d'infections nosocomiales, il est nécessaire de typer les souches pour identifier la source de contamination.

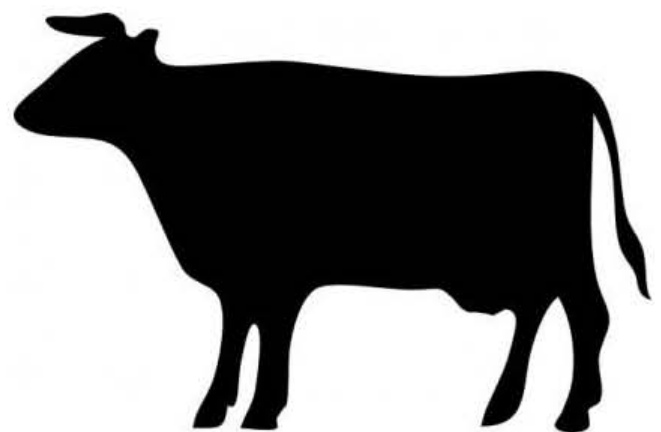
Un grand nombre de techniques de typage ont été développées et qui peuvent être classées en deux catégories : méthodes phénotypiques et méthodes génotypiques.

Parmi les méthodes phénotypiques, les profils de résistance aux antibiotiques, les biotypes sont des techniques simples mais insuffisamment discriminantes [6], les souches hospitalières de staphylocoque se caractérisent par leur polyrésistance aux antibiotiques et leur appartenance à certains groupes bactériophagiques ou lysotypiques [48].

Les méthodes génotypiques s'intéressant à l'épidémiologie moléculaire telles que l'électrophorèse en champs pulsé (ECP ou PFGE : Pulsed-Field Gel Electrophoresis) technique très discriminantes et l'amplification de séquences (AP-PCR : Arbitrary Primed Polymerase Chain Reaction ou RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) peut permettre un typage moléculaire d'urgence.

Il n'existe pas de techniques idéales pour analyser les infections nosocomiales à *S. aureus* qui sont très fréquentes [6].

PARTIE EXPERIMENTALE



MATERIELS & METHODES



CHAPITRE _ III : MATERIELS & METHODES

Le principal objectif que nous nous sommes fixés au cours de notre travail est de contribuer à estimer le niveau de portage intestinal à *Staphylococcus aureus* chez le bovin, dans un contexte Algérien, et ce dans le milieu des abattoirs. Notre étude s'est focalisé sur deux parties, à savoir, le colon et le rectum, permettant ainsi de :

1. Isoler des souches de *Staphylococcus spp.* Depuis les deux parties ciblées (Colon et Rectum) ;
2. Caractériser et identifier le genre et le type des staphylocoques trouvés ;

Dans le but de contribuer à avancer des données épidémiologiques sur :

1. Le niveau de portage intestinal bovin en Algérie des *S. aureus*,
2. L'origine de la contamination/présence du *S. aureus*; que ce soit, dans la viande rouge étant une denrée alimentaire destinée à la consommation humaine ou pour l'animal lui-même, étant une entité à part entière, qui risque divers infections à *S aureus* (Exemple: Mammites);

Une démarche qui permettra d'avancer des hypothèses de recherches, émettre des recommandations, et des mesures sanitaires pour lutter contre ce type de germe, et les risques encourus et leurs impacts éventuels sur la santé publique en Algérie.

Notre travail été réalisé en trois temps :

La 1^{ère} étape : Effectuer des prélèvements (Ecouvillonnages) au niveau de la muqueuse intestinale du colon et du rectum de bovins abattus à l'abattoir d'El Harrach.

La 2^{ème} étape : Réaliser une identification bactériologique et chimique des *Staphylococcus aureus*.

La 3^{ème} étape : Recensement des souches isolées par Galerie *API-Staph*®

I. La présentation de l'établissement d'abattage

❖ Abattoir d'El Harrach

L'abattoir d'El Harrach est situé sur l'avenue des libérés entre la rive droite de l'Oued El-Harrach et la route nationale N° 5. Il a été construit en 1919 par l'état colonial français en dehors des habitations mais à cause de l'accroissement de la densité de la population ; il est inséré actuellement en plein centre d'agglomérations urbaines.

L'établissement repose sur une superficie de 4760 m² et dispose :

1. Une seule porte d'entrée et de sortie ;
2. Deux salles d'abattages ; une réservée pour l'abattage bovins ; ovins ; caprins et l'autre pour l'abattage des équidés ;
3. Un parking pour la circulation des véhicules ;
4. Une aire de stabulation : L'aire de stabulation repose sur une superficie de 800 m². Elle est divisée en 5 enclos séparés avec du fer grillage;
5. Secteurs administratifs :
 - Un bureau pour les services vétérinaires : Comporte trois (03) docteurs vétérinaires assurant l'inspection vétérinaire.
 - Un bureau réservé à l'adjudicateur de l'abattoir.

Sa capacité journalière est de mille deux cent soixante dix (1270) têtes pour les ovins et soixante cinq (65) têtes de bovin par jour. Les opérations d'abattage sont réalisées sur place c'est-à-dire en poste fixe.



Figure 2 : Salle d'abattage.



Figure 3 : Les locaux de stabulation.

II. Matériels & Méthodes

II.1. Durée et lieu de l'étude

Notre étude expérimentale sur le *Staphylococcus aureus* au niveau de la microflore intestinale du bovin, a été réalisée dans une période allant du au **16 Mars 2017 au 16 Mai 2017** en vue d'estimer la prévalence réelle du portage intestinale à *S. aureus* des bovins abattus au niveau d'un Abattoir Algérien (Cas : El Harrach); et cela dans l'optique de récolter des souches de *S. aureus* isolées et confirmées issues d'un réservoir animal sans contamination externe, pour des fins de recherches et pour apporter des données épidémiologiques explicatives qui nous permettront d'émettre des recommandations et ainsi prendre des mesures d'hygiène pré-abattage pour préserver la santé publique.

II.2. Matériels

II.2.1. L'Échantillonnage

Trente bovins (30) ont fait l'objet de notre étude, avec au total 60 échantillons réalisés, prenant en compte les deux sites de prélèvement à savoir, le colon et le rectum.

II.2.2. Sites de prélèvement

Les soixante (60) prélèvements ont été réalisés par raclage de la muqueuse intestinale, juste au moment de l'abattage, et durant la période sus-citée.

II.2.3. Matériel de prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide des écouvillons sous forme d'un tube stérile. Ces écouvillons sont des tiges en bois à extrémité en coton, stériles par oxyde d'éthylène dans tubes comme emballage à fond rond de haute résistance. Dimension du tube : 13 de diamètre foi 165mm. Sur l'emballage, il y a l'indication du code du produit, sa description, le numéro de lot, la date de péremption, la marque CE, le nom et l'adresse du fabricant, le mode de stérilisation et le symbole « usage unique ». Parmi les variations des codes du produit celui utilisé dans notre prélèvement est -300250- (tige bois + coton).

II.2.4. Matériel d'analyses

Nous avons travaillé sur un échantillon de 30 Bovins ; où nous avons effectué 60 écouvillons, au niveau du côlon et du rectum. Suivie par une partie bactériologique où nous

avons utilisé des équipements classiques d'un laboratoire de HIDAOA à L'ENSV : (**Annexe 5**). Le tableau suivant, illustre les dates de nos prélèvements ainsi que le nombre d'échantillon réalisé à chaque fois.

Dates de prélèvement	Sites	Nombre de prélèvement(s)
19 Mars	Côlon	7
	Rectum	4
02 Avril	Côlon	6
	Rectum	4
09 Avril	Côlon	3
	Rectum	6
16 Avril	Côlon	4
	Rectum	7
23 Avril	Côlon	6
	Rectum	4
14 Mai	Côlon	4
	Rectum	3
Total : 60 prélèvements		

Tableau 2 : De la répartition des échantillons par dates de prélèvements.

II.3. Méthodes

II.3.1. Technique de prélèvement

La technique de l'écouvillonnage est parmi les deux meilleures manières pour chercher les germes pathogènes et évaluer le niveau de contamination/portage microbien à l'intérieur du colon et du rectum des bovins abattus.

Dans chaque site de prélèvement (colon et rectum) nous avons choisi de racler la muqueuse interne de l'intestin. Les écouvillons sont frottés délicatement avec des mouvements de balayage.

Les étapes sont comme suivant :

- Retrait de l'écouvillon du tube;
- Après avoir effectué le prélèvement, décharger l'écouvillon;
- Casser l'écouvillon dans le tube, au niveau de la partie sécale;
- Bien refermer le tube, en vissant le bouchon au maximum;
- Lorsque le flacon est ouvert à nouveau, l'écouvillon est capté au niveau du bouchon.

Chaque tube sera identifié par la date, numéro et le site du prélèvement (Cl=colon, R=rectum). Des gants jetables sont utilisés, et changés après chaque prélèvement.

II.3.2. Transport et conservation des échantillons

Les échantillons sont transportés rapidement vers le laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV, et traités le même jour.

Le diagramme général du travail depuis la récolte des prélèvements jusqu'à l'analyse bactériologique est représenté dans la figure suivante :

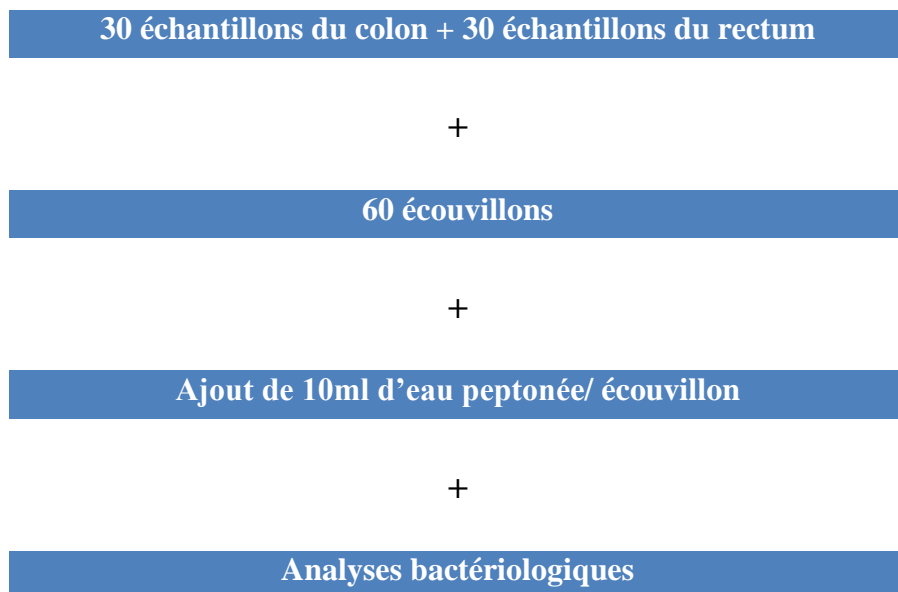


Figure 4 : Diagramme général du plan du travail.

II.3.3. Méthodes d'analyse bactériologique

La méthode de recherche des *Staphylocoques* a été effectuée selon la norme Algérienne de routine en suivant les étapes suivantes :

II.3.3.1. Pré-enrichissement

Cette phase destinée à revivifier les cellules bactériennes lésées « stressées », correspond à la préparation de la suspension mère en utilisant de l'eau peptonée tamponnée (EPT) qui contient essentiellement des peptones tryptiques, source d'azote : **(Figure 6)**

- 10 ml d'eau peptone tamponnée (EPT) sont versés dans chaque écouvillon;
- Incubation durant 16-20h dans une étuve réglée à 37°C.



Figure 5 : La phase pré-enrichissement (Photo personnelle).

II.3.3.2. Ensemencement en milieu sélectif solide

II.3.3.2.1. Gélose Chapman

La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement fermentant le mannitol. C'est un milieu semi-synthétique.

II.3.3.2.1.1. Usages

Il est utilisé pour l'isolement des *staphylococcus*.

II.3.3.2.1.2. Composition

Composition pour la préparation d'un litre de milieu. (**Annexe 6**).

II.3.3.2.1.3. Caractéristiques

- Une base nutritive ordinaire ;
- Une teneur élevée en NaCl qui permet la sélection des bactéries halophiles (comme les *Staphylococcus*) et inhibe la grande majorité des autres bactéries ;
- Un critère de différenciation : la fermentation du mannitol révélé grâce au virage de l'indicateur coloré de pH : le rouge de phénol qui permet une orientation vers certaines espèces (comme l'espèce *Staphylococcus aureus*).

II.3.3.2.1.4. Lecture

Pas de virage (le milieu reste rouge) : les colonies mannitol - car elles ne fermentent pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique. Le virage au jaune du milieu signifie que les colonies sont mannitol positif car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.

Remarquons que la gélose Chapman est une gélose sélective des staphylocoques.

Dans tous les cas, les micro-organismes cultivant sur ce milieu ont mis en évidence leur caractère halophile.

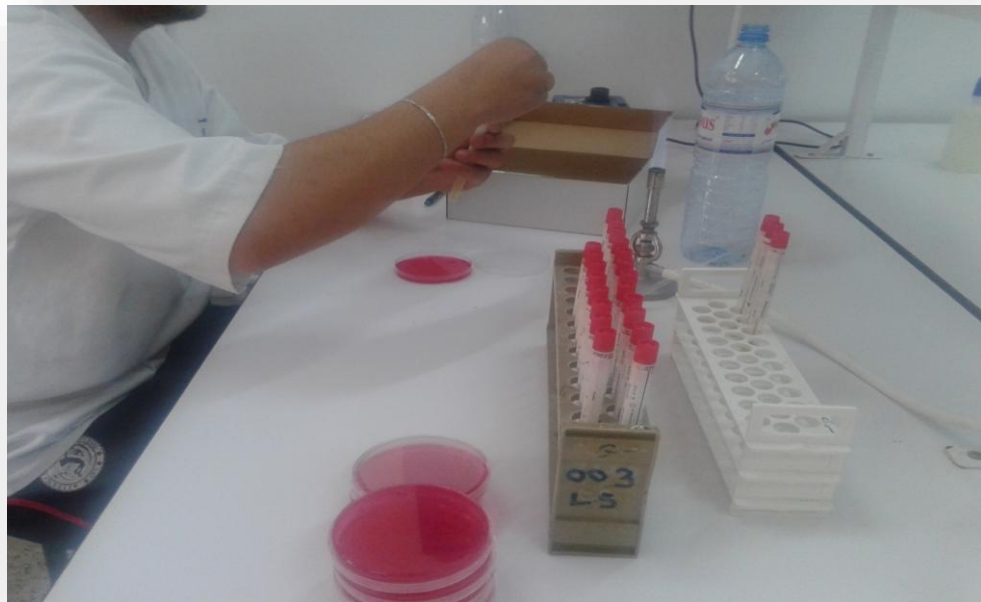


Figure 6 : Ensemencement sur gélose Chapman (Photo personnelle).

II.3.3.3. Purification sur milieu sélectif solide

Après la période d'incubation, 24 heures, **cinq (5) colonies** suspectes sont ensemencées depuis le milieu Chapman sur la surface de milieu de gélose coulée préalablement dans des boîtes de pétri, divisé en portion ces dernier sont identifier (la portion du prélèvement CI ou R, et un numéro de la colonie étudiée). (**Figure 7**).

Après 24 h d'incubation, les boîtes sont examinées afin d'abordé les tests de confirmation du *Staphylococcus aureus*. (**Figure 8**).

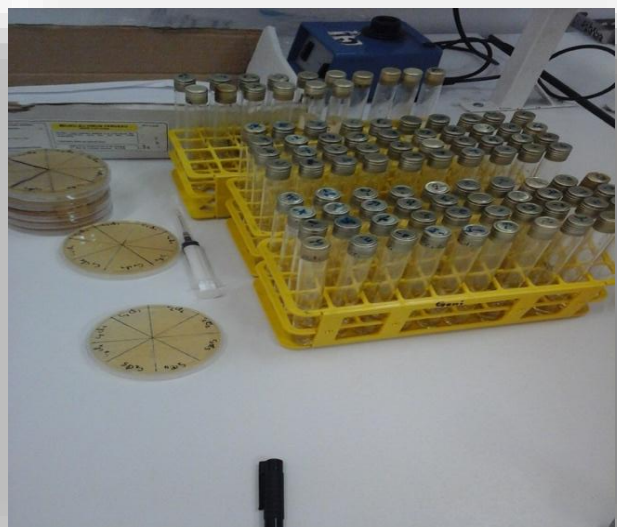
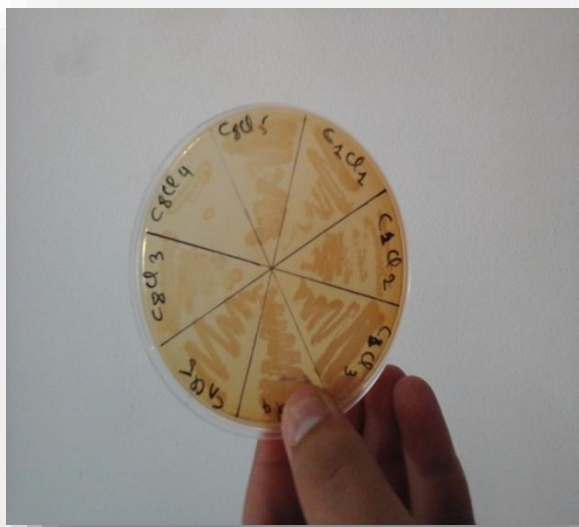


Figure 7 : Boites de pétri, divisé en portion.

Figure 8 : L'examen des boites de pétri.

(Photos personnelles).

II.3.3.4. Tests de confirmation (Voir Norme ISO 6888)

II.3.3.4.1. Recherche de Catalase

Une catalase (du grec kataluein, « dissoudre ») est une oxydoréductase héminique qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$.

II.3.3.4.1.1. Usage en microbiologie

Cette enzyme est utilisée en bactériologie systématique pour l'identification des bactéries. Il s'agit de mettre en contact une colonie de la bactérie à étudier en présence d'eau oxygénée (à

10 volumes). Une effervescence (dû à un dégagement de dioxygène) signe la présence d'une catalase.

Du fait de la production de dioxygène par la catalase, elle est absente chez les bactéries anaérobies strictes. La plupart des bactéries à Gram négatif possèdent une catalase (catalase +). Pour les bactéries à Gram positif, la recherche de cette enzyme permet de différencier les bactéries des genres *Staphylococcus* et *Micrococcus* (catalase +).

II.3.3.4.1.2. Technique

- Sur une lame de verre propre, déposer une goutte de H₂O₂, puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur boutonnée ou une anse plastique à usage unique. Il ne faut pas utiliser une anse en métal car elle serait alors oxydante ;
- Si des bulles se forment, la bactérie possède la catalase ;
- Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

II.3.3.4.1.3. Rôle du test catalase

Ce test est important pour la première orientation dans l'identification d'une souche pure bactérienne.

Pour effectuer l'identification complète d'une bactérie il faut connaître le type respiratoire. Les bactéries Gram + possèdent pour la plupart un type respiratoire aéro-anaérobie facultatif, sauf le genre *Micrococcus* (type aérobie strict).

Il faudra donc poursuivre l'identification de la souche par d'autres tests de confirmation.

II.3.3.4.2. Recherche de la Coagulase

La coagulase ou *staphylocoagulase* est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de *Staphylococcus* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus*.

D'autres germes, moins courant en pathologie, peuvent avoir une réaction positive, notamment *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*.

On distingue deux types de coagulase :

- La coagulase liée ou « *clumping factor* » adhérent au corps microbien ;
- La coagulase libre ou staphylocoagulase, une exoenzyme, propre à certaines espèces du genre *Staphylococcus*, et qui est recherché pour l'identification de *Staphylococcus aureus*.

II.3.3.4.2.1. Principe

Le principe de ce test est simple. On met en contact du plasma oxalté, incapable de coaguler seul, avec un peu de bouillon Cœur-Cerveille où a été cultivé le germe étudié. Si le fibrinogène, soluble dans le plasma, se transforme en fibrine solide, un caillot se formera au fond du tube.

« On peut également réaliser ce test par une agglutination sur lame. Sur une lame propre et sèche, on met en contact une goutte de Plasma sanguin oxalté avec une goutte de bouillonensemencé par le germe étudié (ou 1 colonie). Si le germe possède le récepteur au fibrinogène, il y aura une agglutination visible à l'œil nu ».

II.3.3.4.2.2. Technique

Dans un tube à hémolyse stérile :

- Verser 1 ml de bouillon cœur-cerveilleensemencé par la bactérie ;
- Verser 3 ml de plasma de lapin oxalaté ;
- Homogénéiser et incuber à 35 - 37 °C.
- L'observation est possible à partir de 6h d'incubation.

II.3.3.4.2.3. Résultats

Si le plasma coagule en moins de 18h, le germe possède une coagulase. La seule mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de staphylocoque ne suffit cependant pas à affirmer qu'il s'agit d'un staphylocoque doré : un second test est nécessaire (activité DNase libre ou agglutination au latex spécifique) afin d'éliminer les faux positifs.

II.3.3.4.3. Galerie API

Une galerie API (Analytical Profile Index) est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.

II.3.3.4.3.1. Principe

La galerie *API Staph*® comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

II.3.3.4.3.2. Présentation

- 25 galeries API Staph ;
- 25 boîtes d'incubation ;
- 25 ampoules d'API Staph Medium ;
- 25 fiches de résultats ;
- 1 notice.

II.3.3.4.3.3. Réactifs et Matériels

- Huile de paraffine (Réf. 70 100) ;
- Réactifs : VP 1 + VP 2 (Réf. 70 422) NIT 1 + NIT 2 (Réf. 70 442) ZYM A (Réf. 70 494) ZYM B (Réf. 70 493) ;
- McFarland Standard (Réf. 70 900) ;
- Catalogue Analytique API Staph (Réf. 20 590) ou logiciel d'identification **apiweb**™ (Réf. 40 011) (consulter bioMérieux).

II.3.3.4.3.4. Matériels

- Pipettes ; ou PSIpette
- Portoir pour ampoules ;
- Protège-ampoule ;
- Équipement général de laboratoire de bactériologie.

II.3.3.4.3.5. Mode opératoire

- A l'aide d'une pipette ou d'une PSIpette, remplir les tubes de la galerie avec *API Staph* Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.

Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la PSIpipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;

- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe ;
- Renfermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 18-24 heures.

II.3.3.4.3.6. Lecture et interprétation

II.3.3.4.3.6.1. Lecture de la galerie : (Annexe 8).

- Après incubation, lire les réactions conformément au Tableau de Lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :

-Test VP : VP 1 et VP 2.

Attendre 10 minutes. Une couleur **rose franche** ou **violette** indique une réaction **positive**. Une couleur **rose pâle** ou **rose claire** obtenue après 10 minutes doit être considérée **négative**.

-Test NIT : NIT 1 et NIT 2.

Attendre 10 minutes. Une coloration **rouge** indique une réaction **positive**.

-Test PAL : ZYM A et ZYM B (*).

Attendre 10 minutes. Une coloration **violette** indique une réaction **positive**.

() Il est recommandé de contrôler chaque ampoule de réactif ZYM B avant la 1^{ère} utilisation.*

Pour cela, il est recommandé d'utiliser la souche ATCC[®] 700404 mentionnée au paragraphe Contrôle Qualité afin d'exclure tout réactif défectueux.

- Noter les résultats sur la fiche de résultats.

II.3.3.4.3.6.2. Interprétation

L'identification est obtenue à partir du profil numérique.

- **Détermination du profil numérique :**

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique. (**Annexe 7**).

- **Identification :**

Elle est réalisée à partir de la base de données (V 4.1)

- * à l'aide du Catalogue Analytique :

- Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

- * à l'aide du logiciel d'identification **apiweb**™ :

- Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

III. Traitement des données

L'ensemble des données a été rédigé sous tableau Excel.

RESULTS & DISCUSSION



CHAPITRE_IV : RESULTATS & DISCUSSION

Dans cette partie d'étude, nous développerons dans un premier temps les résultats concernant la prévalence globale du *Staphylococcus* à *coagulase positive* et le *S. aureus* chez le bovin au niveau de l'intestin abattus à l'abattoir d'El Harrach et leur répartition par rapport aux sites de prélèvement ; puis dans un second temps le recensement des souches de *Staphylocoques* à *coagulase* + par *Galerie Api-Staph®*.

Notons que nous procédons au fur et à mesure à la discussion des résultats.

I. Résultats de l'enquête exhaustive

I.1. La prévalence globale des *S. aureus* chez les bovins au niveau de l'intestin dans l'abattoir d'El Harrach

Les résultats de la prévalence des *Staphylococcus aureus* chez les bovins au niveau de l'intestin ; sont rapportés dans le tableau 2 et 3, et illustré dans la figure 8.

Tableau 3 : Nombre et répartition des souches isolées de l'intestin des bovins abattus.

Animal	Échantillons	Souches isolées	<i>Staphylocoques</i> <i>spp</i>	<i>Staphylocoques</i> <i>coagulase+</i>
30	60	188	78	110

Tableau 4 : La prévalence globale du portage intestinal *S. à coagulase+* chez les bovins abattus

	Prévalence	%
<i>Staph spp</i>	0.41	41
<i>Staph coagl+</i>	0.59	59
Souches isolées	1	100
Totale	1	100

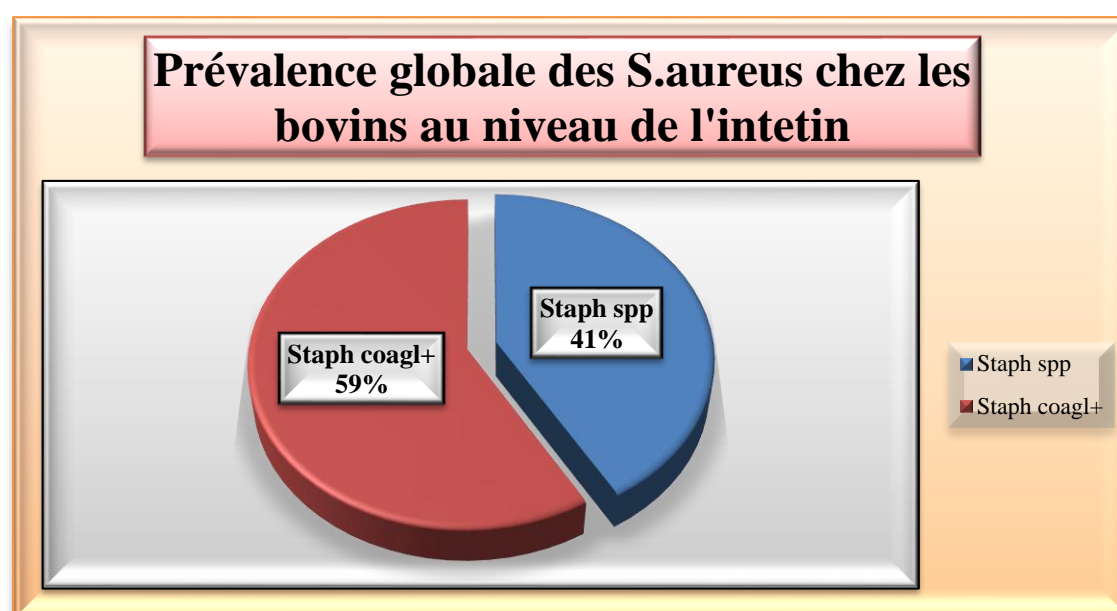


Figure 9 : La prévalence globale de portage intestinal à *S. aureus* chez les bovins abattus.

Sur 30 prélèvements (60 échantillons) analysés, 110 se sont révélés positifs, soit un taux de 59% (Figure 1). Nous considérons comme positifs, les souches qu'après le test de coagulase se manifestent comme positif.

I.2. La prévalence des *S. aureus* par rapport aux sites de prélèvement

Les résultats de la prévalence des *Staphylococcus aureus* par rapport aux sites de prélèvement ; sont rapportés dans les deux tableaux qui suivent, et illustré dans la figure 10.

Tableau 5 : Nombre et répartition des *S. aureus* par rapport aux sites de prélèvement.

	<i>Staphylocoques spp</i>	<i>Staphylocoques coagulase+</i>	Totale
Colon	41	48	89
Rectum	37	62	99

Tableau 6 : La prévalence des *S. aureus* par rapport aux sites de prélèvement.

	<i>Staphylocoques spp</i>		<i>Staphylocoques coagulase+</i>	
	Prévalence	%	Prévalence	%
Colon	0,52	52,56	0,43	43,64
Rectum	0,47	47,44	0,56	56,36

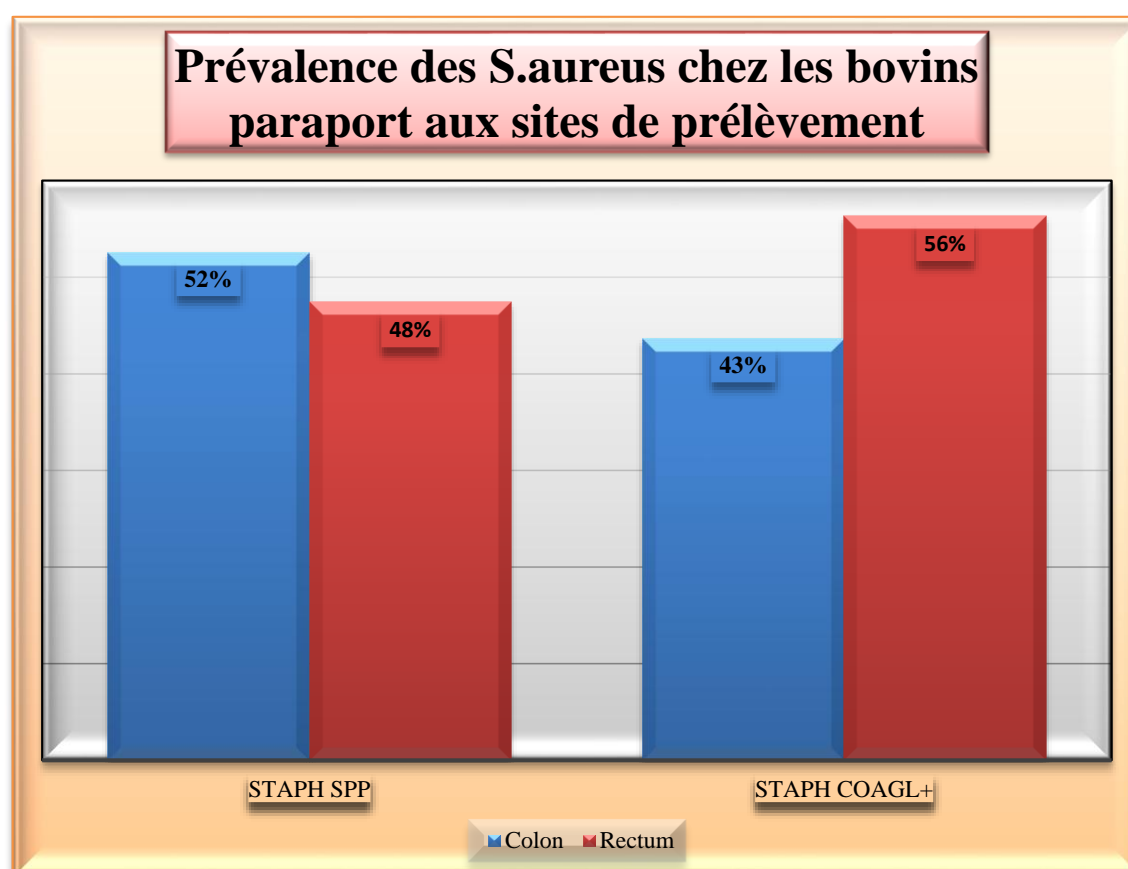


Figure 10 : La prévalence des *S. aureus* par rapport aux sites de prélèvement.

Ainsi, sur les 188 souche isolées (*Staphylococcus spp*) isolées au début ; 110 souches ont été identifiés comme *Staphylococcus aureus* à *coagulase positive* par la mise en évidence de la coagulase libre (utilisation du plasma de lapin frais) soit, un coagulum qui occupe plus que la moitié du volume initialement occupé par le liquide ; dont 48 souches *Staphylococcus coagulase +* au niveau du colon et 62 souches *Staphylococcus coagulase +* au niveau du rectum, qui représentent à 43,64% (Colon) et 56,36% (Rectum).

Ainsi, nous pouvons remarquer selon les résultats avancés que la fréquence des *Staphylocoques coagulases +* entre le Colon et le Rectum, enregistre une nette différence, avec une fréquence plus élevée au niveau du Rectum ; Nous pouvons expliquer cette variance par la composition des matières, sa position anatomique qui est en contact avec le milieu extérieur.

I.3. La prévalence des *S. aureus* chez les bovins par lieu

I.3.1. La prévalence des *S. aureus* chez les bovins au niveau du Rectum

Les résultats de la prévalence des bovins du Rectum ; sont rapportés dans le tableau 6 et 7, et illustré dans la figure 10.

Tableau 7 : Nombre et répartition des *S. aureus* chez les bovins au niveau du Rectum.

	<i>Staphylocoques spp</i>	<i>Staphylocoques Coagulase+</i>
Rectum	37	62

Tableau 8 : La prévalence des *S. aureus* chez les bovins au niveau du Rectum.

	<i>Staphylocoques spp</i>		<i>Staphylocoques coagulase+</i>	
	Prévalence	%	Prévalence	%
Rectum	0.37	37.37	0.62	62.62

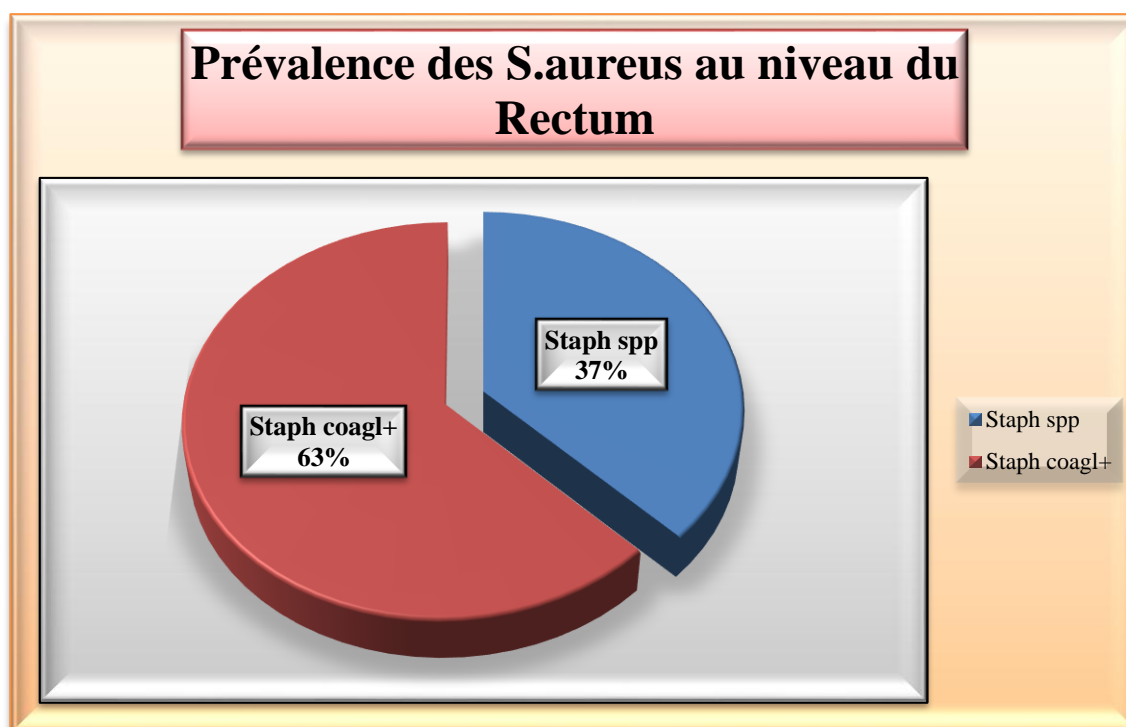


Figure 11 : La prévalence des *S. aureus* au niveau du Rectum.

Notre étude montre clairement que sur 99 colonies caractéristique isolées seulement 63% des colonies sont des *Staphylococcus* à coagulase positive et seulement 37% sont des *Staphylococcus spp*, en tenant compte que cette région est la plus contaminée de l'organisme.

I.3.2. La prévalence des *S. aureus* chez les bovins au niveau du Colon

Les résultats de la prévalence des bovins du Colon ; sont rapportés dans le tableau 8 et 9, et illustré dans la figure 11.

Tableau 9 : Nombre et répartition des *S. aureus* chez les bovins au niveau du Colon.

Lieu	<i>Staphylocoques spp</i>	<i>Staphylocoques coagulase+</i>	Total
Colon	41	48	99

Tableau 10 : La prévalence des *S. aureus* chez les bovins au niveau du Colon.

	<i>Staphylocoques spp</i>		<i>Staphylocoques coagulase+</i>	
	Prévalence	%	Prévalence	%
Colon	0.46	46.07	0.53	53.93

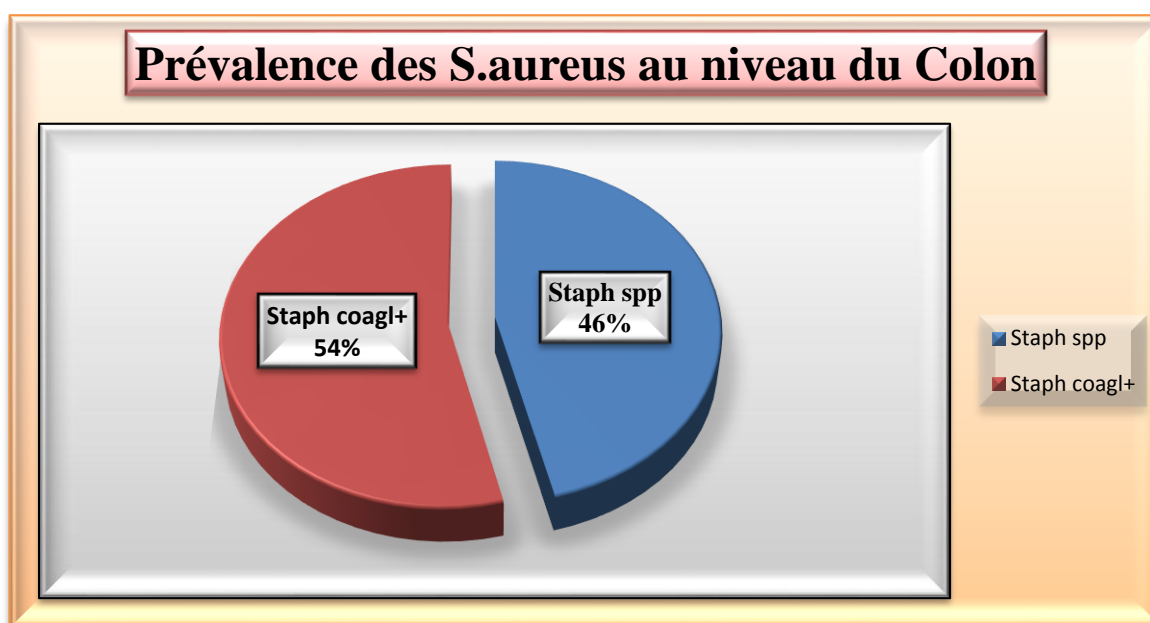


Figure 12 : La prévalence des *S. aureus* au niveau du Colon.

Pour éliminer l'hypothèse du facteur de la composition et l'emplacement anatomique, nous avons réalisé des prélèvements au niveau du colon plus précisément le colon distal ; ce dernier est considéré comme plus au moins stérile par rapport au Rectum, ce qui va être confirmé par la suite grâce aux résultats du recensement des souches *Staphylococcus coagulases* +.

II. Recensement des souches de *Staphylocoques coagulase +*

Les résultats du recensement des souches de *Staphylocoques coagulase +* la prévalence des *Staphylococcus aureus* chez les bovins au niveau du colon ; sont rapportés dans le tableau 10, et illustré dans l'histogramme (Figure 12).

Tableau 11 : Recensement des souches de *Staphylocoques à coagulase +*.

Confirmation par Test API Staph			
Caractérisation biochimique des souches isolées	Nombre	prévalence	prévalence (%)
<i>Staphylococcus lentus</i>	24	0,50	50,00
<i>Staphylococcus simulans</i>	2	0,04	4,17
<i>Staphylococcus carnosus</i>	1	0,02	2,08
<i>Micrococcus spp</i>	4	0,08	8,33
<i>Staphylococcus xylosus</i>	10	0,21	20,83
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	0,06	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	0,08	8,33
Totale	48	1	100

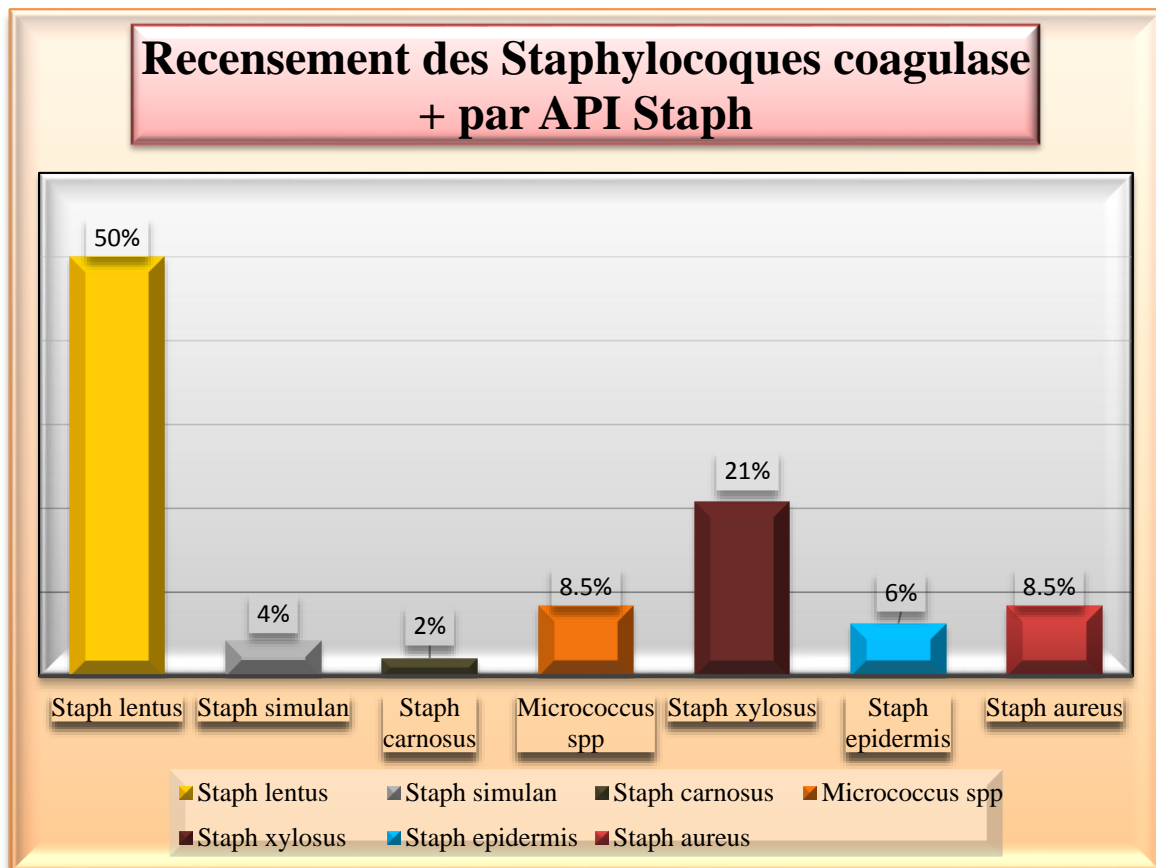


Figure 13 : La prévalence du recensement des *Staphylocoques coagulase +*.

Sur les 60 échantillons (188 souches) testés, seules les 99 colonies prélevées du colon dont 48 souches sont caractéristiques à *Staphylocoques* isolées sur gélose Chapman, sur lesquelles nous avons enregistré une dégradation du mannitol (Figure 13) ; confirmées par test de catalase positive (Figure 14), ont été soumises ultérieurement à un autre test de confirmation, par la recherche coagulase qui doit se révéler impérativement positive (Figure 15) ;



Figure 14 : Dégradation du mannitol sur gélose Chapman. (Photos personnelle).



Figure 15 : Test de catalase positif.

(Photo personnelle).

Figure 15 : Test de coagulase positive.



Figure 17 : L'Api Staph.

(Photos personnelle).

Pour pouvoir identifier les *Staphylococcus* par espèce nous avons accédées à l'utilisation de l'Api Staph (Figure16), cette dernière nous à révélé les caractérisations biochimiques des souches isolées, afin de les identifier en nombre et en espèce (Tableau 10, Figure 12).

D'après le tableau 10 et la figure 10, seulement 4 souches de *staphylocoques aureus* sont identifiées avec un taux de **8,33%** des souches étudiées au niveau du colon.

La prévalence du *Staphylococcus aureus* dans l'intestin laisse à suggérer que c'est la source prédominante de contamination et dont l'origine peut être expliquée de plusieurs manières.

Il y a plusieurs hypothèses qui sont reliées à plusieurs facteurs à-propos de l'origine des *staphylococcus aureus* trouvée :

Pathogène à réservoir mammaire

En se basant sur les études épidémiologiques et les efforts de contrôle des mammites, *S. aureus* a été classé comme un agent pathogène contagieux. Cette classification est soutenue par les données moléculaires, qui montrent que dans la plupart des troupeaux présentant des mammites à *S. aureus*, une seule souche majeure affecte plusieurs vaches. La transmission est supposée se produire principalement par la machine à traite, les lavettes d'essuyage ou les mains des trayeurs [85].

Les *Staphylococcus aureus* sont considéré comme étant l'agent pathogène mammaire causant les plus grandes pertes économiques au niveau de l'industrie des bovins laitiers. Les infections causées par *S. aureus* sont plus dommageables pour le tissu sécrétoire suite à la production de toxines par cet organisme [1].

Pathogène environnemental

La présence de plusieurs souches prouve que ce ne sont pas toutes les infections qui sont le résultat d'une transmission d'une vache à l'autre. Dans certains troupeaux, *S. aureus* montrent une épidémiologie moléculaire et une dynamique d'un agent pathogène environnemental.

Dans des cas exceptionnels, presque 5 souches différentes ont été isolées à partir de lait d'un seul animal au fil du temps, un modèle qui est suggéré pour être spécifique aux agents pathogènes environnementaux.

Le nombre de souches par troupeau est plus élevé dans les exploitations qui achètent des animaux que dans les troupeaux fermés.

Les sources de *S. aureus* comportent la peau et les sites du corps des vaches et de l'environnement agricole, par exemple les matériaux de la litière, les insectes, le personnel, les animaux, les produits alimentaires et l'aire [85].

Les *S. aureus* est une bactérie très robuste dans l'environnement, pouvant survivre dans des conditions extrêmes de température et l'humidité [42].

Avec ces conditions on peut pas obtenir une règle générale sur la prévalence et l'origine des staphylocoques au niveau de l'intestin ; mais il faut mettre en évidence un risque potentiel majeur pour les consommateurs en l'absence d'hygiène rigoureuse et de mesures préventives pour éviter toute source de contamination qui engendrera la production d'entérotoxines SE dans les aliments [56].

CONCLUSION & RECOMMENDATIONS



CONCLUSION

Au terme de notre étude, ayant eu comme objectif d'estimer la prévalence du portage intestinale bovin à *Staphylococcus aureus* au niveau de l'abattoir d'El Harrach ; nous avons pu isoler durant la période d'étude de deux mois au cours de l'année 2017, 188 souches de *Staphylococcus spp.* À partir de 60 échantillons de différents bovins abattus au niveau de l'abattoir d'El Harrach (30 Prélèvements du côlon et 30 du Rectum). Ensuite, nous avons effectué des tests de confirmation pour identifier l'espèce étudiée à savoir, *S. aureus*. Les analyses bactériologiques des échantillons ont mis en évidence la présence de la souche *S. aureus*.

Nos résultats montrent que 59% de nos souches isolées du côlon étaient des Staphylocoques positives avec un taux d'isolement du *S. aureus* qui était de l'ordre de 8,33%. En contre partie, nous avons enregistré un taux de 64% de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive au niveau du Rectum.

Notre recensement de types de souches isolées par *API Staph*® a montré une variété de profil, ainsi on peut avancer les taux suivants : *Staphylococcus aureus* à 8.5% ; *S. lentus* à 50% ; *Micrococcus spp.* À 8.5%, *S. xylosus* à 21% et *S. epidermis* à 6%. Ainsi que d'autres profils avec un taux très bas.

De part notre étude, nous nous sommes intéressés au *Staphylococcus aureus* (8.5%) mais reste à dire que les autres profils de souches ; à titre d'exemple *S. epidermis* qui est un des profils de souches a étudié de par sa pathogénicité ; aussi bien chez l'animal que chez l'humain. Nos résultats servent à actualiser les données locales en ce qui concerne les *Staphylococques*, sur le profil épidémiologique de ce germe et sa part prenante dans la flore intestinale bovine dans un contexte Algérien. Aussi, pour mettre l'accent sur le rôle important dans la rationalisation de la conduite hygiénique des éleveurs au sein de leur élevage et dans la détermination d'une stratégie de contrôle du développement des *S. aureus*.

Il est donc primordial de devoir chercher les principales sources de contamination et de proposer d'éventuels mesures préventifs en matière d'hygiène dès la naissance de l'animal.

RECOMMENDATIONS

La présence du germe pathogène (*Staphylococcus aureus*) au niveau de l'intestin implique des recommandations stricte des règles hygiéniques et sanitaires au niveau des élevages ; ces règles se résument à :

- Étudier une population plus importante, pendant une période plus longue ;
- Mettre en place un réseau de surveillance d'infections à *S. aureus* ;
- Etudier le profil génétique des espèces isolées;
- Exiger une hygiène corporelle et vestimentaire des manipulateurs (lors de la traite), un dépistage régulier et une désinfection du matériel et du lieu de travail (l'élevage) ;
- Lutter contre les rongeurs, insectes et volatiles ;
- Dépistage précoce et isolement des animaux malades ou porteurs sains des élevages (lors de mammites) ;
- Dépistage à partir de l'environnement (alimentation...) ;
- Veiller à mettre en place des plans réguliers de nettoyage, désinfection et dératisation.

REFERENCES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

1-Akers RM, 2002. Lactation and the mammary gland. 1 st ed. Iowa State Universty Press. Ames, Iowa.

2-Aly R. and Levit S. (1987). Adherence of *S. aureus* to squamous epithelium: role of fibronectin and teichoic acid. *Rev Infect Dis.* **9 (suppl 4):** 341-S350.

3-Amir L.H., Garland S.M. and Lumley J. (2006). A case-control study of mastitis : nasal carriage of *staphylococcus aureus*. *BMC Familial Practice* **11**, 57.

4-Archer G.L. and Bosilevae J.M. (2001). Signaling antibiotic resistance in staphylococci. *Science.* **291:** 1915-1916.

5-Arkoudelos J.S., Samaras F.J. and Tassou C.C. (2003). Survival of *staphylococcus aureus* and Salmonella Enteritidis on Salted Sardines (*Sardina Pilchardus*) During Ripening. *Journal of Food Protection* **66**, 1479-1481.

6-Avril J.L., Dabernat H., Denis F. and Monteil H. (2003). Bactériologie clinique. 3ème édition, ellipses, Paris. 8-28.

B

7-Bailey J.C., Lochart B.P. and Redpath M.B. (1995). The epidermolytic (exfoliative) toxins of S.A. *Med Microbial Immunol.* **184:** 53-61.

8-Biberstin E.L. and Hirsh D.C. (1999). *Staphylococcus In* : Veterinary Microbiology, Hirsh DC and Zee YC, Blackwell Science, Malden, USA, 115-119.

9-Blaser, M., Bork, P., Fraser, C., Knight, R., Wang, J., (2013). The microbiome explored : recent insights and future challenges. *Nat Rev Microbiol*, **11**, 213–217.

10-Blotière, H.M., de Vos, W.M., Ehrlich, S.D., Dore J. (2013). Human intestinal metagenomics: state of the art and future. *Curr Opin Microbiol* **16** :232-9.

11-Breche P., Gaillard J. and Simonet M. (1988). Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie “Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 267-277.

12-Bronner S., Jehl F., Peter J.D., Ploy M.C., Renault C., Arvis P., Monteil H., Prevost G. (2003). Efficacy and vitreous penetration of moxifloxacin (MXF) in a rabbit model of *staphylococcus aureus* endophthalmitis : effects on leucotoxins and virulence regulator factors gene expression. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **45** : 1621-1629 ; **Dumitrescu O., Boisset S., Badiou C., Bes M., Benito Y., Reverdy M.E., Vandenesch F., Etienne J., and Lina G. (2007).** Effect of antibiotics on *staphylococcus aureus* producing Panton-Valentine leukocidin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, **51** : 1515-1519.

C

13-Carter G.R., Chengappa M.M. and Roberts A.W. (1995). *Staphylococcus.In* : Essentials of Veterinary Microbiology. Editions William & Wilkins, Baltimore, USA, 115-120.

14-Chevallier I., Ammor S., Laguet A., Labayle S., Castanet V., Dufour E. and Talon R. (2006). Microbial ecology of a small-scale facility producing traditional dry sausage. *Food Control* **17** (6) : 446-453.

15-Cirad, CTA, Karthala, 2006 : La santé animale. Volume 1. Généralités, page 41.

16-Clements M.O. and Foster S.J. (1999). Stress resistance in *staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology* **7** (11) : 458-462.

17-Collins, S.M., Surette, M., Bercik, P. (2012). The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol* **10** : 735–742.

18-Comité Technique des Infections Nosocomiales, (1999). 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales, Ministère de l'emploi et de la Solidarité.

19-Corbier Morot-Bizot, S. Leroy, S. and Talon R. (2006). Staphylococcal community of a small unit manufacturing traditional dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology* **108** (2) : 210-217.

20-Couture B. (1990). Bactériologie médicale « Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical ». Vigot, Paris. 15-32.

D

21-Denis O., Deplano A., Nonhoff C., Hallin M., De Ryck R., Vanhoff R., De Mendonça R., Struellens M. (2006). In vitro activities of ceftobiprole, tigecycline, daptomycin, and 19 other antimicrobials against methicillin-resistant *staphylococcus aureus* strains from a national survey of Belgian hospitals. *Antimicrobial Agents for Chemotherapy*, **50** : 2680-2685.

22-Devriese L.A. (1984). A simplified system for biotyping *staphylococcus aureus* strains isolated from animal species. *Journal of Applied Bacteriology* **69**, 2161-2167 ; **IsigidiB.K., Devriese L.A., Godard C. and van Hoof J. (1990).** Characteristics of *staphylococcus aureus* associated with meat products and meat workers. *Letters in Applied Microbiology* **11**, 145-147.

E

23-Eckburg, P.B., Bik, E.M. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* **308** :1635–8 ; **Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M. (2010).** A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* **464** : 59–65 ; **Arumugam, M., Raes, J. (2011).** Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* **473** :174–80.

24-Edmiston Jr.C.E., Seabrook G.R., Cambria R.A., Brown K.R., Lewis B.D., Sommers J.R., Krepel C.J., Wilson P.J., Sniski S. and Towne J.B (2005). Molecular epidemiology of microbial contamination in the operating room environment : Is there a risk for infection ? *Surgery* **138** (4) : 573-582.

25-EL Kouri D., Pottier M.A., Trewick D., Le Gallou F., Baron D., and Potel G. (1998). Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl Méd Chir*, (Elsevier, Paris), Maladies Infectieuses, 8-007-A-10,8p.

26-Eykin SJ. (1996). Staphylococci. In: DJ Weatherall. JG Ledingham eds. *Oxford text book of medicine*. Oxford medical publications. 533-542.

27-Eyquem A., Alouf J. and Montagnier L. (1998). *Traité de Microbiologie clinique «Staphylocoques»* Nevine EL SOLH. PICCIN NUOVA, Italie. 567-591.

F

28-Farrington M., Brenwald N., Haines D. and Walpole E. (1992). Resistance to dessiccation and skin fatty acids in outbreak strains of methicillin-resistant *staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology* **36** : 56-60.

29-Fasquelle R., and Barbier P. (1951). Ann. Inst. Pasteur., 80, 127.**Fasquelle R. (1974).** Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36.

30-Fasquelle R. (1974). Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36.

31-Fauchere J.L. and Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale, ellipses, Paris. 213-217.

32-Ferron A. (1984). Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12ème édition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94.

33-Forfar J.O., Gould J.C. and Maccabe A.F. (1968). Effect of hexachlorophene on incidence of staphylococcal and gram negative infection in the new born. Lancet. **2:** 177-179.

G

34-Gareau. (2011), Bacterial infection causes stress-induced memory infection in mince, Gut **60** : 307_317.

35-Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. and Tindall B.J. Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 **March 6, 2007**” Part 9- the Bacteria: Phylum” Firmicutes”: Class “Bacilli”.

36-Gram H. (1884). Über die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt-und Trockenpräparaten. Fortschritte der Medizin **2**.

37-Grojec P.L. and Jeljazewicz J. (1985). Staphylococcal Leukocidin. Panton Valentine type. J. Toxicol. **4:** 133-189.

H

38-Harvey J. and Gilmour A. (2000). *Staphylococcus aureus*. In : Encyclopedia of food microbiology, pp. 2066-2071. London : Academic Press ; **Watson K., Carville K., Bowman J., Jacoby P., Riley T.V., Leach A.J. and Lehmann D. (2006).** Upper Respiratory Tract Bacterial Carriage in Aboriginal and Non-Aboriginal Children in à Semi-Arid Area of Western Australia. *Pediatric Infectious Disease Journal* **25** : 782-790.

39-Hnnekinne J.A., Kerouanton A., Brisabois A. and De Buyser M.L. (2003). Discrimination of *staphylococcus aureus* biotypes by pulsed-field gel electrophoresis of DNA macro-restriction fragments. *Journal of Applied Microbiology* **94** (2) : 321-329.

J

40-Jeljaszewicz J., Switalskil M. and Adlam C. (1983). Staphylocoagulase and clumping factor. In «Staphylococci and Staphylococcal infections», CSF Easmon and C.Adlam (ed). Vol.2, Academic Press, London. 525-557.

41-Joly-Guillou M.L., Régnier B. (2005). L'infection liée aux soins, stratégie de maîtrise des infections nosocomiales, épidémiologie bactérienne et clinique. *Editions bioMérieux*.

K

42-Kalmus P, Aasmae B, Karssin A, Orro T & K Kask, 2011. Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia, *Acta Vet Scand*, **53** : 7.

43-Kawano J., Shimizu A., Saith Y., Yagi M., Saito T. and Okamoto R. (1996). Isolation of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from chickens. *Journal of Clinical Microbiology* **34** (9) : 2072-2077.

44-Kirmani N., Tuazon C.U., Murray H.W., Parrish A.E. and Sheagaren J.N. (1978). *Staphylococcus aureus* carriage rate of patients receiving long term hemodialysis. *Arch Intern Med.* **138**: 1657-1659.

45-Kloos W.E. and Shleifer K.H. (1975). «Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species». *Journal of clinical Microbiology.* **Vol.1**: 82-88.

46-Kloos W.E., Zimmerman R.J. and Smith R.F. (1976). Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Applied and Environmental Microbiology* **78** (2-1) : 155-170.

47-Kourilsky R., Mercier P.J. and Pillet J. (1949). *Ann. Boil. Clin.* 5,6.173.

L

48-Le Minor L. and Veron M. (1990). *Bactériologie Médicale « Staphylococcus et Micrococcus »* J.Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773-794.

49-Lepage, P., Leclerc, M.C., Joossens, M., Mondot, S., Blottière, H.M., Raes, J., Ehrlich, D., Doré, J. (2013). A metagenomic insight into our gut's microbiome. *Gut* **62** :146–58.

50-Mandell, Douglas and Benett. (1990). *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome. *Principles and practice of infectious diseases*, Churchill-Livingstone, New York. 1489-1497.

M

51-Melconian A.K., Fleurette J. and Brun Y. (1985). Studies on staphylococci from toxic, shock syndrome in France (1981-1983). *J. Hyg. Camb* **94**: 23-29.

52-Möllby R. (1983). Isolation and properties of membrane demmaging toxins. In “Staphylococci and staphylococcal infections”, CSF Easmon and C.Adlam (ed), Vol.2, Academic Press, London. 619-669.

N

53-Nagase N., Sasaki A., Yamashita K., Shimizu A., Wakita Y., Kitai S. and Kawano J. (2001). Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *Journal of Veterinary Medical Science* **64** (3) : 245-250.

54-Naimi T., LeDell K., Boxrud D., Groom A., Steward C. and Johnson S. et al. (2001). Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota, 1996-1998. *Clin. infect. Dis.* **33**: 990–996.

55-Nauciel C. (2005). ABREGES connaissances et pratique « Bactériologie médicale ». 2ème édition. MASSON, Paris. 83-85.

56-Normano et al ; 2007

O

57-Ogston A. (1882). *Micrococcus* poisoning. *J Anat.* **17** : 24-58.

P

58-Pasteur L. (1877). A propos de deux maladies soignées à l'hôpital Saint-Louis pour, pustule maligne.

59-Pellerin J.L. (1995). L'apport du laboratoire de bactériologie dans le diagnostic et le traitement des pyodermites et des otites suppurées des carnivores domestiques. Point Vétérinaire, **26** (164) : 13-24.

60-Piemont Y., Rifal S. and Monteil H. (1988). Les exfoliatines de *Staphylococcus aureus*. Bull. Inst. Pasteur. **86** : 263-296.

Q

61-Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E. et al (2002). *Staphylococcus species*. In : Veterinary Microbiology and Microbial disease. Blackwell Science, Oxford, UK, 43-48.

R

62-Roberson J.R., Fox L.K., Hancock D.D., Gay J.M. and Besser T.E. (1994). Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *Journal of Dairy Science* **77**, 3354-3364 ; **Nagase N., Sasaki A., Yamashita K., Shimizu A., Wakita Y., Kitai S. and Kawano J. (2001).** Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *Journal of Veterinary Medical Science* **64** (3) : 245-250.

63-Roberson J.R., Fox L.K., Hancock D.D., Gay J.M. and Besser T.E. (1994). Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *Journal of Dairy Science* **77**, 3354-3364.

64-Robert Barone, 1997 : Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome troisième, SPLANCHNOLOGIE I, APPAREIL DIGESTIF APPAREIL RESPIRATOIRE, page 385.

65-Robert Barone, 1997 : Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome troisième, SPLANCHNOLOGIE I, APPAREIL DIGESTIF APPAREIL RESPIRATOIRE, page 387.

66-Robert Barone, 1997 : Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome troisième, SPLANCHNOLOGIE I, APPAREIL DIGESTIF APPAREIL RESPIRATOIRE, page 392.

67-Robert Barone, 1997 : Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome troisième, SPLANCHNOLOGIE I, APPAREIL DIGESTIF APPAREIL RESPIRATOIRE, page 409.

68-Robert Barone, 1997 : Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome troisième, SPLANCHNOLOGIE I, APPAREIL DIGESTIF APPAREIL RESPIRATOIRE, page 411.

69-Robert Barone, 1997 : Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome troisième, SPLANCHNOLOGIE I, APPAREIL DIGESTIF APPAREIL RESPIRATOIRE, page 413.

70-Robert Jarrige, 1995 : Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion, page 214.

71-Rosenbach F.J. (1884). *Microorganismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen, Wiesbaden.*

S

72-Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes, L.C., Finlay, B.B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* **90** :859–904.

73-Smith A.J., Jackson M.S. and Bagg J (2001). The ecology of staphylococcus species in the oral cavity. *Journal of Medical Microbiology* **50**, 940-946.

74-Smith, K., McCoy, K.D., Macpherson, A.J. (2007). Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. *Semin Immunol* **19** : 59–69.

75-Sommer, F., Bäckhed, F. (2013). The gut micro- biota--masters of host development and phy- siology. *Nat Rev Microbiol* **11** :227–38.

76-Spicer W.J. (2003). *Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie* Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29.

77-Standiford T.J., Arenberg D.A. and Danforth J.M. (1994). Lipoteichoic acid induces secretion of IL-8 from huma, blood monocytes: a cellular and molecular analysis. *Infect Immun.* **62**: 119-125.

T

78-Todd J.K. (1988). Toxic shock syndrome. *Clin Microb. Rev.*, **1**: 432-446.

79-Tuazon C.U., Perez A., Kishaba T. and Sheagren J.N. (1974). Increased Staphylococcal carrier rate among nacrcotic addicts. *J Infect Dis.* **129**: 725-727.

80-Tuazon C.U., Perez A., Kishaba T. and Sheagren J.N. (1975). *Staphylococcus aureus* among insulin-injecting diabetic patients: an increased carrier rate. *JAMMA.* **231**: 1272.

V

81-Vautor E., Abadie G., Guilbert J.M., Chevalier N. and Pepin M. (2005). Nasal carriage of *staphylococcus aureus* in dairy sheep. *Veterinary Microbiology* **106** (3-4) : 235-239.

W

82-Wadström T. (1983). Biological effects of cell demmaging toxins. In “staphylococci and staphylococcal in infections” CSF Easmon and C. Adlam (ed), Vol.2, Academic Press, London. 671-704.

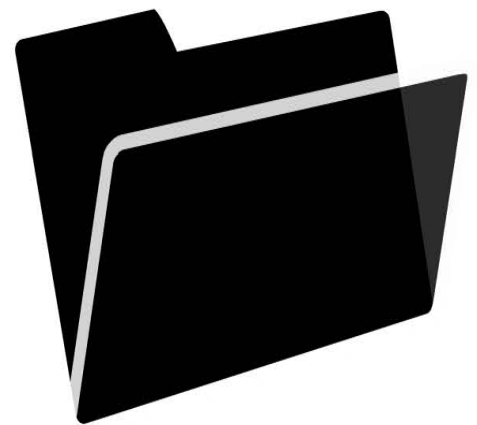
83-Wang, Y., Kasper, L.H. (2013). The role of microbiome in central nervous system disorders. 2014. *Brain Behav Immun*, sous presse.

84-Watson K., Carville K., Bowman J., Jacoby P., Riley T.V., Leach A.J. and Lehmann D. (2006). Upper Respiratory Tract Bacterial Carriage in Aboriginal and Non-Aboriginal Children in à Semi-Arid Area of Western Australia. *Pediatric Infectious Disease Journal* **25** : 782-790.

Z

85-Zadoks RN, Middleton JR, McDougall S, Katholm J & YH Schukken, 2011. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *J Man Gland Biol Neo*, **16** :357-372.

ANNEXES



ANNEXE 1

Schéma de l'intestin du bœuf

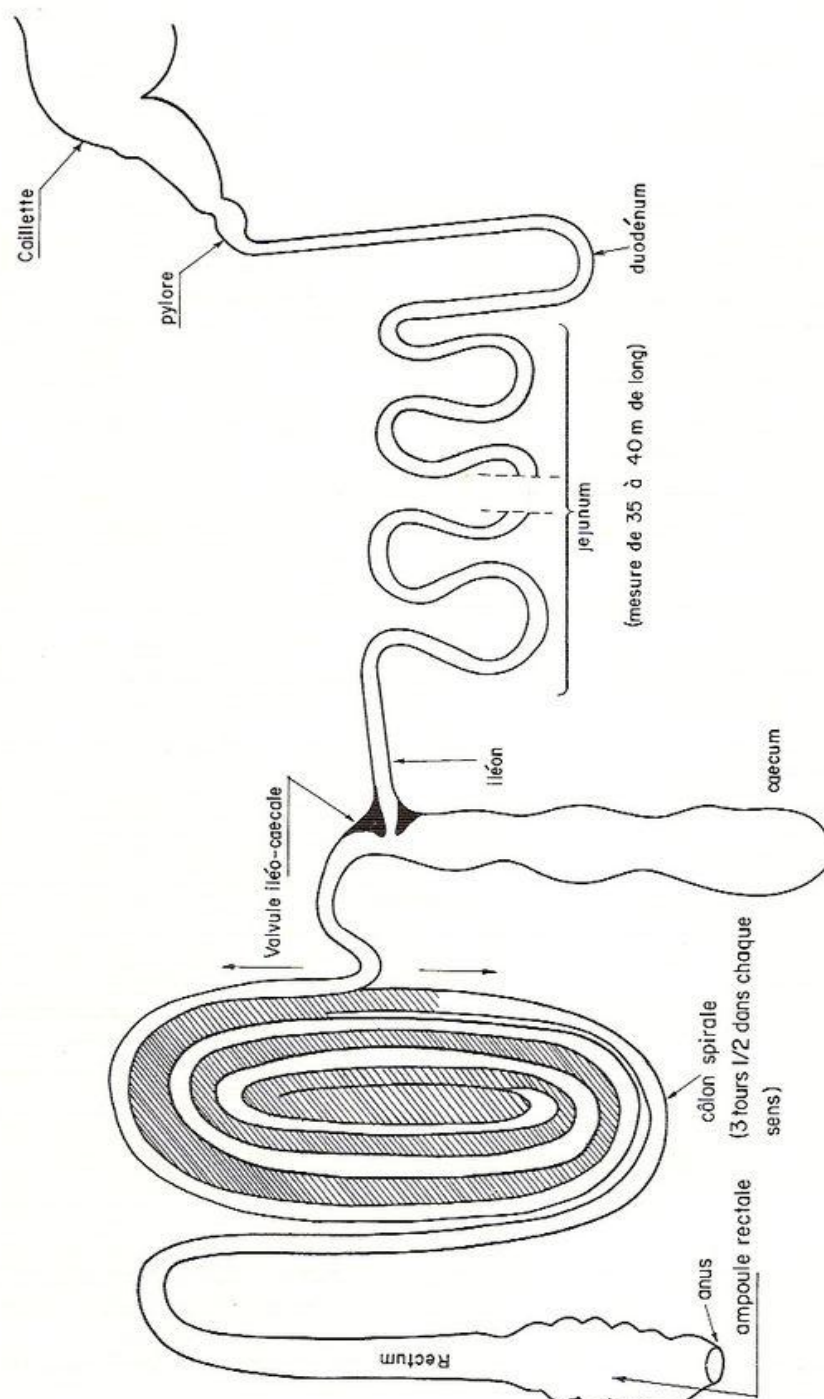


Fig. 19. Intestin du bœuf : vue schématique de ses différentes parties étalées.

ANNEXE 2

La classification hiérarchique du Phylum XIII (Firmicutes) basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN/ ARN 16S [16]

Phylum XIII : *Firmicutes*

• **Classe I : *Clostridia***

• **Classe II : *Mollicutes***

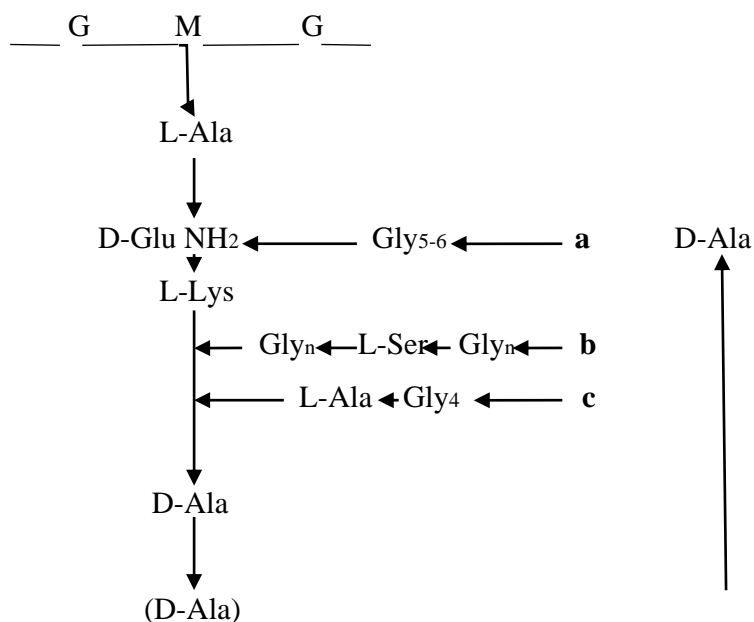
• **Classe III : *Bacilli***

- **Ordre I : *Bacillales***
 - **Famille I : *Bacillaceae***
 - ❖ **Genre : *Bacillus***
 - **Famille II : *Planococcaceae***
 - ❖ **Genre : *Planococcus***
 - **Famille III : *Listeriaceae***
 - ❖ **Genre : *Listeria***
 - **Famille IV : *Staphylococcaceae***
 - ❖ **Genre : *Staphylococcus***
- **Ordre II : *Lactobacillales***
 - **Famille I : *Lactobacillaceae***
 - ❖ **Genre : *Lactobacillus***
 - ❖ **Genre : *Pediococcus***
 - **Famille II : *Enterococcaceae***
 - ❖ **Genre : *Enterococcus***
 - **Famille III : *Leuconostocaceae***
 - ❖ **Genre : *Leuconostoc***
 - **Famille IV : *Streptococcaceae***
 - ❖ **Genre : *Streptococcus***
 - ❖ **Genre : *Lactococcus***

• **Classe IV : *Togobacteria***

ANNEXE 3

Schéma de La structure du Peptidoglycane :



G : N-acétylglucosamine; M : acide N-acétylmuramique;

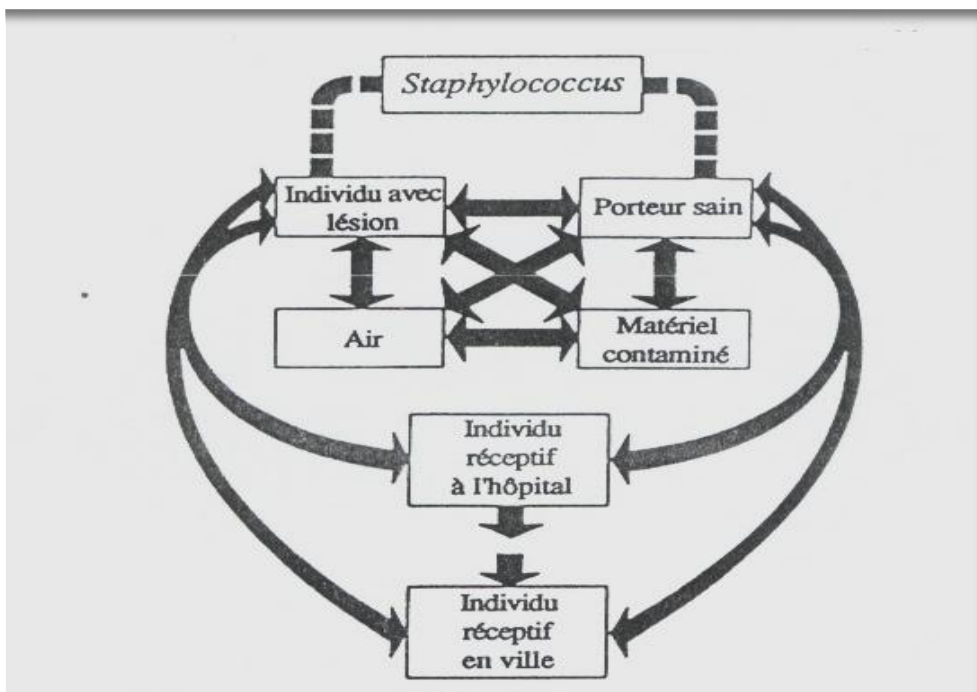
Type **a** : *S. aureus*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. simulans*, *S. xylosus* ;

Type **b** : *S. capitis*, *S. epidermidis* , *S. haemolyticus* , *S. hominis*, *S. intermedius*, *S. warneri* , *S. saprophyticus* ; Type **c** : *S. sciuri*, *S. lentus*.

Le peptidoglycane de *S. aureus* est formé de chaînes linéaires de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique réunis par des liaisons β 1-4 et β 1-6, sur l'acide N-acétylmuramique se fixe un tétrapeptide ; des ponts penta ou hexa-glycines unissent la lysine d'un tétrapeptide à l'alanine du suivant.

ANNEXE 4

Voies de transmission des staphylocoques [3].



ANNEXE 5

Matériel d'analyses

- Autoclave ;
- Incubateur ;
- Tube à essai stérile ;
- Pipettes graduées 1ml, 2ml, 10ml ;
- Stérilisateur ;
- Des boîtes de pétrie ;
- Pipettes pasteur ;
- Vortex ;
- Bec Bunsen ;

ANNEXE 6

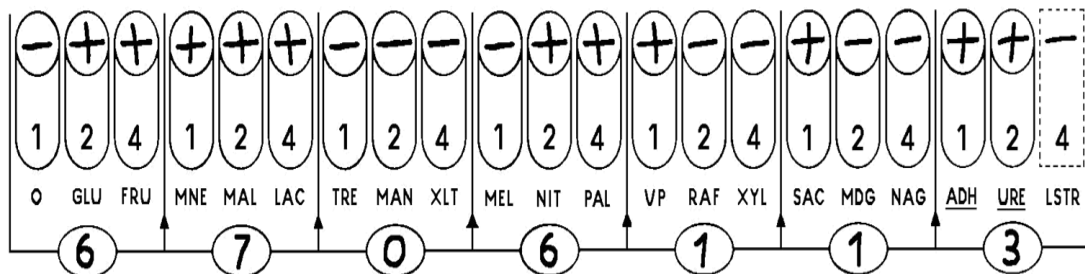
La composition pour la préparation d'un litre de milieu Gélose Chapman

- Peptone :10,0 g ;
- Extrait de viande de bœuf :1,0 g ;
- Chlorure de sodium :75,0 g ;
- Mannitol :10,0 g ;
- Rouge de phénol :0,025 g ;
- Agar-Agar :15,0 g ;
- Eau distillée :presque 1 Litre ;

PH = 7,4.

ANNEXE 7

Exemple de la Détermination du profil numérique



6 706 113 *Staphylococcus epidermidis*.

ANNEXE 8

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLUFRU MNE MAL LAC TRE MAN XL T ME L	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
	xylitol	1,4	acidification (XyLiTol)		
	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
				NIT 1 + NIT 2 / 10 min	
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites	incolore-rose pâle	rouge
				ZYM A + ZYM B / 10 min	
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	jaune	violet
				VP 1 + VP 2 / 10 min	
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	incolore-rose pâle	violet-rose
RA F XY L SA C MDG NAG	D-raffinose	1,56	acidification (RAFFinose)	rouge	jaune
	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
	méthyl-αD- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)		
	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
AD H	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange- rouge
UR E	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatif (0) et positif (GLU).

* Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

Résumé :

Notre étude avait pour but d'estimer la prévalence du portage intestinale bovin à *Staphylococcus aureus* au niveau de l'abattoir d'El Harrach, dans le but de contribuer à rechercher la présence des *S. aureus* au niveau de la flore intestinale du bovin. Ainsi, soixante (60) échantillons ont été prélevés aléatoirement à l'abattoir, entre le mois de Mars et Mai 2017. L'étude a été réalisée en deux parties, l'analyse bactériologique et l'interprétation des résultats obtenus. Ces derniers ont montré un taux de prévalence de 54 % de *Staphylococcus* à coagulse positive, avec 8,33% de *S. aureus* au niveau du Colon par *API Staph®*, contre un taux de 64 % de *Staphylococcus* à coagulse positive enregistré au niveau de la flore du rectum.

Une prévalence de *Staphylococcus aureus* dans l'intestin qui laisse à suggérer la source prédominante de contamination et dont l'origine peut être expliquée par deux hypothèses : Pathogène à réservoir mammaire, et/ou pathogène environnemental.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, prévalence, abattoir, flore intestinale.

Summary:

The aim of our study was to estimate the prevalence of *Staphylococcus aureus* bovine intestinal in the slaughterhouse of El Harrach. The objective is contribute to estimate the presence of *S. aureus* in the gut flora. For this reason, 60 specimen were randomly taken from the El Harrach slaughterhouse between March and Mai 2017. The study was conducted in three parts, the bacteriological analysis and the interpretation of the results obtained. The study showed a prevalence of 54% *Staphylococcus coagulase+*, with 8.33% for *S. aureus* with *API Staph®* ; in the gut flora of colon. Against a 64% rate of coagulase-positive *Staphylococcus* recorded in the flora of the rectum.

A prevalence of *Staphylococcus aureus* in the intestine that suggests the predominant source of contamination and whose origin can be explained by two hypotheses : Pathogen to mammary reservoir, and / or environmental pathogen.

Keywords : *Staphylococcus aureus*, prevalence, slaughterhouse, gut flora.

ملخص:

الغرض من هذه الدراسة هو المساهمة في تقدير انتشار المكورات العنقودية الذهبية في بكتيريا الأمعاء عند الأبقار بمذبح الحراش، وذلك بهدف إيجاد المكورات العنقودية الذهبية في الأمعاء. لهذا السبب تم اخذ 60 عينة عشوائية من مذبح الحراش في مدة شهرين أي من مارس إلى ماي، بحيث تضمنت هذه الدراسة ثلاثة أجزاء رئيسيين هما: التحليل البكتريولوجي؛ والتفسير ومناقشة النتائج التي تم الحصول عليها. ولقد أظهرت من هذه الدراسة وجود 54 % من المكورات العنقودية ذات التخثر الموجب للكواجلز بنسبة 8,33% للمكورات العنقودية الذهبية في القولون ب *API Staph®*، ضد معدل 64% من المكورات العنقودية إيجابية كواجلز المسجلة في بكتيريا المستقيم .

انتشار المكورات العنقودية الذهبية في الأمعاء تشير إلى إمكانية مصدر تلوث والتي يمكن تفسير أصلها بفرضيتين: مرض الثدي، و / أو تلوث البيئة المحيطة.

الكلمات الرئيسية: المكورات العنقودية الذهبية ، انتشار ، مذبح ، بكتيريا الأمعاء.