

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

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master complémentaire
en Sciences Vétérinaires

Thème

Etude des facteurs influençant la recrudescence de
l'antibio-résistance chez les *Staphylocoques*
en médecine vétérinaire

Présenté par :

AOUICHE Nesrine

dirigée par :

Dr. AZZAG N.

Soutenue en 12/2017 devant le jury composé de :

Dr. TENNAH. Safia	MCA	ENSV	Président.
Dr. AZZAG Naouel	MCA	ENSV	Promotrice.
Dr. HAFSI Fella	MCA	ENSV	Examinatrice.
Dr. BOUABDALLAH Ryhan	MCB	ENSV	Examinatrice.

Année Universitaire : 2017 / 2018.

Avant propos

Le présent mémoire rentre dans le cadre de l'obtention du diplôme de Master complémentaire à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV).

Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de L' ENSV d'Alger. Il a été réalisé sous la direction de Docteur N.Azzag pour laquelle je tiens à exprimer mes sincères remerciements et ma totale reconnaissance pour m'avoir acceptée au sein de son laboratoire de recherche et pour les orientations et l'appui prodigués au cours de cette étude.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à l'ensemble des personnes physiques ou morales qui n'ont ménagé aucun effort pour faciliter nos tâches dans le cadre de cette étude.

Il m'est particulièrement agréable d'exprimer mes remerciements à:

- Madame TENNAH S., maitre de conférences classe A à l'ENSV d'Alger, pour avoir bien voulu examiner ce mémoire et m'avoir fait l'honneur de présider le jury. Qu'il reçoive ici l'expression de ma vive gratitude.
- Madame HAFSI F., maitre de conférences classe A à l'ENSV d'Alger, pour avoir accepté d'examiner ce travail, je vous remercie infiniment.
- Madame BOUABDALLAH R. maitre de conférence classe B à l'ENSV d'Alger, qui a bien voulu examiner ce travail, je vous remercie vivement.

Mes sincères remerciements s'adressent également à :

- Mme BENEDEL Siham pour sa précieuse aide et contribution, qu'elle trouve ici l'assurance de toute ma reconnaissance.
- Toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV).

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chers frères, Adel et Samir, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance et de courage, pour leurs appuis et leurs encouragements permanents,

A mes chères sœurs Amina et Kahina, pour leurs encouragements et leur soutien moral,

A mes petits amours Pissa et Pissou,

A mes enseignants,

A mes chères amies, Fahima et Cylia.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.	TAXONOMIE DES STAPHYLOCOQUES.....	4
II.	HABITAT ET POUVOIR PATHOGENE DES STAPHYLOCOQUES.....	4
III.	CARACTERES BACTERIOLOGIQUES, CULTURAUX ET FACTEURS DE VIRULENCE	5
1.	Caractères bactériologiques du genre <i>Staphylococcus</i>	5
2.	Caractères biochimiques de <i>Staphylococcus aureus</i>	5
3.	Caractères culturels de <i>Staphylococcus aureus</i>	5
4.	Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	6
IV.	PRINCIPALES PATHOLOGIES CAUSEES PAR LES STAPHYLOCOQUES CHEZ LES ANIMAUX	6
1.	Les pyodermites	6
2.	Les mammites	7
3.	Les otites	7
V.	LES ANTIBIOTIQUES.....	8
1.	Classification des antibiotiques.....	8
1.1.	Classification d'après leur structure chimique.....	8
1.2.	Autres types de classification.....	8
2.	Source d'antibiotiques	11
2.1.	Antibiotiques d'origine naturelle	11
2.2.	Antibiotiques d'origine synthétique.....	11
2.3.	Antibiotiques d'origine hémi-synthétique	12
3.	Les Mécanismes d'action des antibiotiques.....	12
3.1.	Action sur la synthèse pariétale	13
3.2.	Action sur la membrane plasmique	14
3.3.	Action sur les acides nucléiques.....	15
3.4.	Inhibition de la synthèse des protéines	15
VI.	RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES.....	16
1.	Phénomène de la résistance et la multi résistance aux antibiotiques.....	16
2.	Types de résistance aux antibiotiques	17
2.1.	La résistance naturelle	17
2.2.	La résistance acquise.....	17
3.	Mécanismes de résistance aux antibiotiques	18
3.1.	Mécanismes non enzymatiques	19

3.2. Les mécanismes enzymatiques	20
I. ORIGINE DES ECHANTILLONS ET ISOLEMENT DES SOUCHES BACTERIENNES.....	23
II. IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES.....	24
1. Tests de la voie de fermentation du glucose	24
2. Test de l'H ₂ S, glucose et lactose.....	25
3. Test Mannitol- Mobilité.....	25
4. Test d'utilisation du citrate comme seule source de carbone	26
5. Test de l'ADH (arginine dihydrolase).....	26
6. Test de TDA (tryptophane désaminase), uréase et production d'indole	26
7. Test de nitrate réductase	27
III. FACTEURS INFLUANCANT LA RECRUESCENCE DE L'ANTIBIORESISTANCE.....	28
1. Etude statistique	28
2. Enquête sur terrain	28
.I IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES.....	34
1. Résultats des tests biochimiques	34
1.1. Tests de la voie de fermentation du glucose	34
1.2. Test de l'H ₂ S, glucose et lactose	34
1.3. Test Mannitol- Mobilité.....	34
1.4. Test d'utilisation du citrate comme seule source de carbone	34
1.5. Test de l'ADH (arginine dihydrolase).....	35
1.6. Test de TDA (tryptophane désaminase), uréase et production d'indole	35
1.7. Test de nitrate réductase	35
2. Discussion.....	36
II. FACTEURS INFLUANCANT LA RECRUESCENCE DE L'ANTIBIORESISTANCE.....	36
.1 Etude statistique	36
1.1. Influence de l'âge de l'animal sur la résistance des Staphylocoques.....	36
1.2. Influence du sexe de l'animal sur la résistance des Staphylocoques.....	37
1.3. Influence de l'espèce animale sur la résistance des Staphylocoques	37
1.4. Influence de la pathologie de l'animal sur la résistance des Staphylocoques	37
1.5. Influence de l'espèce bactérienne sur la résistance des Staphylocoques	38
1.6. Influence de la fréquence de prise d'antibiotique sur la résistance des Staphylocoques ..	38
2. Enquête sur terrain	39
3. Discussion.....	41
Conclusion	

Index des tableaux

Tableau 01. Espèces et effectif des isolats du genre *Staphylococcus* étudiés.

Tableau 02. Tableau n° 02 : Résultats des tests biochimiques des cinq isolats étudiés par galerie classique.

Tableau 03. Influence de l'âge de l'animal sur la résistance des Staphylocoques.

Tableau 04. Influence du sexe de l'animal sur la résistance des Staphylocoques.

Tableau 05. Influence de l'espèce animale sur la résistance des Staphylocoques.

Tableau 06. Influence de la pathologie de l'animal sur la résistance des Staphylocoques.

Tableau 07. Influence de l'espèce bactérienne sur la résistance des Staphylocoques.

Tableau 08. Influence de la fréquence de prise d'antibiotique sur la résistance des Staphylocoques.

Tableau 09. Résultats des pourcentages du sondage réalisé auprès des professionnels de la santé animale.

Index des figures

Figure 01. Classification des antibiotiques selon leur structure chimique.

Figure 02. Structure chimique d'une pénicilline d'hémisynthèse mettant en évidence le noyau commun naturel (acide 6-aminopénicillanique) et le radical greffé ([En ligne] Disponible sur <http://www.microbes-edu.org/> (Consulté le 20/04/2017 à 18h)).

Figure 03. Schéma illustrant les différents sites d'action des antibiotiques (Disponible sur <http://www.123bio.net/> (consulté le 09/10/2017 à 12h 22)).

Figure 04. Représentation schématique de la bicouche phospholipidique qui constitue la structure fondamentale des membranes biologiques. (Adapté de Darnell et al. 1993).

Figure 05. Schéma illustrant la structure du ribosome ([En ligne] Disponible sur <https://ed414-openlab.unistra.fr/> (consulté le 09/10/2017 à 14h26)).

Figure 06. Schéma illustrant les principaux mécanismes mis en œuvre par les microorganismes dans la résistance aux antibiotiques. Source : www.antibiotique.eu

INTRODUCTION

Introduction

Au vu de la recrudescence des maladies d'origine microbienne qui touchent les animaux et l'homme, et la résistance de plus en plus accrue des microorganismes pathogènes aux antibiotiques, le développement de stratégies palliatives et la surveillance de l'utilisation des antibiotiques ainsi que l'évolution de la résistance aux antibiotiques par les professionnels de la santé publique est primordial.

Plusieurs travaux publiés, y compris en Algérie, ont montré l'émergence de nouvelles souches bactériennes résistantes ou multirésistantes aux antibiotiques cliniquement utilisés, dont certains sont des molécules récentes (3^{ème} et 4^{ème} générations d'antibiotiques) (Touati, 2006; Aggoune-Khinache *et al.*, 2008; Messai *et al.*, 2008).

En effet, en 2009 un nouveau gène désigné sous l'appellation NDM-1 a été découvert chez plusieurs bactéries leur permettant de synthétiser une enzyme inactivant la plupart des antibiotiques présents dans le marché provoquant ainsi un véritable danger sanitaire et une éventuelle impasse thérapeutique (Durand-Parenti, 2010).

Les Staphylocoques sont parmi les bactéries problématiques en milieu vétérinaire provoquant des affections chez plusieurs animaux domestiques et sauvages. Chez le chien par exemple, les infections staphylococciques pyogènes de la peau ou pyodermites sont des affections fréquentes qui représentent une part importante des consultations. Les staphylocoques sont responsables de plus de 90 % de ces infections (Quinn *et al.*, 2001).

Le présent travail est une suite logique du PFE en sciences vétérinaires soutenu en Juin 2017 à l'ENSV – Alger. Il consiste à identifier cinq isolats bactériens (sur 100 isolés lors du pfe) appartenant au genre Staphylocoque dont l'espèce n'a pas pu être identifiée lors du PFE ; de mener une étude statistique afin de déterminer le(s) facteur(s) impliqués dans l'évolution de l'antibiorésistance et mener une enquête sur terrain auprès des médecins vétérinaires puis exploiter les données.

Ce travail est partagé en trois parties:

- La première partie fait état d'une revue bibliographique sur la taxonomie des Staphylocoques, leurs caractères bactériologiques et les principales affections liées à ces bactéries.

- La deuxième partie est consacrée à la description du matériel et des méthodes utilisées.

- Dans la troisième partie, les résultats sont présentés et interprétés. Ils concernent l'identification de cinq isolats de Staphylocoques étudiés par galerie classique, une étude statistique et une enquête sur terrain auprès des professionnels de la santé animale autour des facteurs influençant le développement du phénomène de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques.

Une conclusion faisant le bilan de notre travail est également énoncée.

Partie I

Revue Bibliographique

I. TAXONOMIE DES STAPHYLOCOQUES

La classification des staphylocoques a subi comme pour la plupart des bactéries beaucoup de changements et remaniements avec le développement de la biologie moléculaire. Le genre *Staphylococcus* est classé dans le phylum des *Firmicutes*, classe des *Bacilli*, ordre des *Bacillales*, famille des *Staphylococcaceae* (Ludwing et al, *In Bergey's Manual*, 2011).

Le genre *Staphylococcus* est d'un intérêt majeur en pathologie animale et humaine. Plusieurs espèces sont rencontrées chez l'homme, d'autres chez les animaux ou encore dans les aliments (Quinn *et al.*, 2011).

II. HABITAT ET POUVOIR PATHOGENE DES STAPHYLOCOQUES

Les Staphylocoques sont des bactéries ubiquistes (sol, poussières, eau et dans certains produits alimentaires) et commensales occasionnels ou permanents de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (Nagase *et al.*, 2002 ; Quinn *et al.*, 2011).

Les souches de *Staphylococcus aureus* sont retrouvées dans les muqueuses du tractus respiratoire, urogénital et parfois digestif (Quinn *et al.*, 2011).

Les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore cutanée chez l'homme. Beaucoup d'individus sont d'ailleurs «porteurs asymptomatiques» de ces espèces.

Chez les animaux on peut citer l'exemple du chien où 02 principales espèces cliniquement importantes sont rencontrées. Il s'agit de *S. pseudintermedius* et *S. aureus*, associé aux otites pyodermites, septicémies et infections des plaies (Labro et Bryskier, 2014).

Des travaux ont mis en évidence un lien épidémiologique entre quelques espèces du genre *Staphylococcus* et des espèces animales de la famille des canidés (renard, loup, chien...) (Bannoehr et al, 2009).

Ces bactéries sont particulièrement résistantes aux conditions hostiles, tels que choc osmotique, les variations de température et la dessiccation (Breche *et al.*, 1988 ; Nagase *et al.*, 2002).

III. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES, CULTURAUX ET FACTEURS DE VIRULENCE

1. Caractères bactériologiques du genre *Staphylococcus*

Les Staphylocoques sont des cocci à Gram positif, catalase positive, oxydase négative, asporulés, immobiles, non capsulés et halotolérants. Le type respiratoire est aéroanaérobie facultatif.

Plusieurs tests phénotypiques permettent de séparer les *Staphylococcus* des autres genres de coques, Gram positif (*Micrococcus*, *Kocuria*) qui ont des caractéristiques morphologiques et physiologiques et une niche écologique proches. Parmi les principaux tests distinctifs, le type respiratoire, l'oxydase, la capacité à fermenter le glucose et le glycérol et la sensibilité à divers antibiotiques permettent de séparer ses genres (Brun et Bes, 2000).

2. Caractères biochimiques de *Staphylococcus aureus*

Les souches de *Staphylococcus aureus* produisent les enzymes coagulase et nucléase. Elles sont VP +, uréase +, acétone + et indole -. Elles réduisent les nitrates en nitrites, produisent de l'ammoniaque à partir de l'acide aminé arginine et elles sont lipolytiques et hémolytiques (Freney et al., 1999 ; Ananthanarayan et Paniker, 2006).

Staphylococcus aureus est capable de d'utiliser plusieurs glucides, substrats protéiques et lipidiques grâce à son arsenal enzymatique. Les souches peuvent dégrader le glucose, saccharose, lactose et mannitol. Le glucose et le mannitol peuvent être utilisés aussi bien en absence qu'en présence d'oxygène (Guiraud et Rosec, 2004).

3. Caractères cultureux de *Staphylococcus aureus*

A propos des caractères cultureux, les souches de *S. aureus* ne sont pas très exigeantes et poussent facilement sur les milieux usuels. La température optimale est comprise entre 30 °C à 37 °C mais les souches sont capables de pousser entre 7 °C et 45 °C. Le pH optimum de croissance est compris entre 7 et 7,5 mais elles sont capables de supporter des pH allant de 4.2 à 9.3. Les *S. aureus* sont capable de pousser sur des milieux très salés (5 à 10% de NaCl) (Bhatia et Zahoor, 2007 ; Di Giannatale et al., 2011).

Après 24 h d'incubation sur gélose ordinaire, les colonies de *S. aureus* ont généralement un diamètre compris entre 2 et 4 millimètres de diamètre, de formes circulaires, lisses et brillantes. Les colonies peuvent être blanchâtres à jaunâtres (Denis et poly, 2007; Ananthanarayan et Paniker, 2006).

4. Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*

Les souches de *S. aureus* possèdent beaucoup de facteurs de virulence responsables de leur pathogénicité. En effet, plusieurs enzymes et cytotoxines facilitent la décomposition des tissus de l'hôte qui seront utilisés comme nutriments pour la croissance des bactéries.

Parmi ces substances, les hémolysines, les nucléases, les protéases, les lipases, les hyaluronidases et les collagénases permettant une pénétration des tissus et une forte adhésion. (Todar, 2005; Nehal *et al.*, 2010).

Il faut savoir par contre que si les facteurs de virulence de *S. aureus* sont bien connus et très étudiés, il existe très peu de travaux relatifs aux facteurs de virulence des autres espèces telles que *Staphylococcus schleiferi* et *Staphylococcus pseudintermedius* qui ont un intérêt en médecine vétérinaire.

IV. PRINCIPALES PATHOLOGIES CAUSEES PAR LES STAPHYLOCOQUES CHEZ LES ANIMAUX

1. Les pyodermites

L'espèce *S. pseudintermedius* est responsable de pathologies cutanées qui représentent jusqu'à 90 % des cas de pyodermites chez le chien. Il est aussi à noter que cette espèce est souvent isolée à partir de la peau et les muqueuses des chiens sains (porteurs sains). (Allaker *et al.*, 1992).

L'espèce *S. aureus* est un agent pathogène opportuniste chez le chien pouvant être responsable d'affections, principalement cutanées. Cependant la prévalence de ce portage est beaucoup moins importante que celle de *S. pseudintermedius* (Boost *et al.* 2008 ; Hanselman *et al.*, 2009).

Il existe aussi d'autres espèces responsables de pyodermites telles que *S. intermedius* (responsable de furonculoses chez le chien,) et *S. hyicus* (responsable de dermites chez le porc).

Chez le chien, des *S. intermedius* multiresistants aux antibiotiques ont été mis en évidence. Des travaux publiés dans la revue *Veterinary Dermatology* mentionnent une fréquence de 23% des cultures staphylococciques en relation avec des pyodermites (Loeffler *et al*, 2007).

Chez les bovins, des infections cutanées dues a *Staphylococcus aureus* sont également souvent recensées (Brun et Bes, 2000 ; Hermans *et al*, 2010).

Chez le lapin, *Staphylococcus aureus* cause des abcès sous-cutanés, des dermatites et des pododermatites. C'est aussi un agent de dermatite chez le cheval (Hermans *et al*, 2010).

2. Les mammites

L'espèce *S. aureus* est responsable de nombreuses mammites chez les ruminants et est le principal agent de mammites sub-cliniques chez les bovins. Cette espèce provoque également des mammites chez le lapin. (Leonard et Markey, 2008 ; Fitzgerald, 2012).

Hormis *S. aureus*, les principales espèces de staphylocoques fréquemment isolées lors de mammites sont *S. chromogenes*, *S. epidermidis*, *S. xylosus* et *S. hominis* (Bouaziz, 2005).

Globalement, il faut savoir qu'environ 60 % des mammites rencontrées sont provoquées par *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* et ensuite tous les Staphylocoques à coagulase négative. Cela montre clairement l'importance des Staphylocoques dans les mammites (Bouaziz, 2005).

3. Les otites

L'otite est une inflammation du conduit auditif. Il s'agit d'une pathologie extrêmement fréquente chez les carnivores domestiques. Les principaux germes responsables d'otites sont les Staphylocoques, mais aussi d'autres germes comme *Pseudomonas*, et certaines levures.

Parmi les Staphylocoques impliqués dans les otites, *Staphylococcus aureus* et les deux sous-espèces, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* et *Staphylococcus schleiferi* subsp. *schleiferi*, sont parmi les principaux germes responsables d'otites chez les chien (Bes *et al*. 2002 ; Frank *et al*. 2003 ; May *et al*. 2005). Il faut aussi noter *Staphylococcus pseudintermedius* est aussi fréquemment isolé lors d'otites externes (Penna *et al*, 2010).

V. LES ANTIBIOTIQUES

Un antibiotique est une substance naturelle, synthétique ou semi-synthétique qui à très faible concentration tue ou inhibe la croissance bactérienne par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Dans le premier cas, on parle d'antibiotique bactéricide et dans le second cas d'antibiotique bactériostatique. Les antibiotiques sont des molécules non actives contre les virus. Ils n'accélèrent pas la guérison et ne protègent nullement contre l'infection virale (Quevauvilliers, 2011).

1. Classification des antibiotiques

Les molécules antibiotiques se différencient par leur structure chimique, leur mode d'action, leur spectre d'action, leurs effets secondaires et leur origine. C'est pourquoi il existe plusieurs types de classification basée sur ces critères.

1.1. Classification d'après leur structure chimique

D'après leur structure chimique souvent complexe et de nature très variée, Berdy *et al.* (1987, 2005) proposent un système de classification ouvert à tous les antibiotiques. Ce système les répartit dans neuf grandes familles chimiques (Figure 01) et il est le plus utilisé en recherche fondamentale.

Il est à noter que ce type de classification met à l'écart tout intérêt thérapeutique et clinique, c'est pour cela qu'il existe aussi d'autres variantes de classer les antibiotiques.

1.2. Autres types de classification

Dans le domaine pharmaceutique et médical où la classification chimique importe peu ; d'autres types de classifications sont utilisés. Les composés bioactifs peuvent être classés en fonction de leur spectre d'action, de leur type d'action, de leur mode d'action, de leur origine ou encore de leur charge électrique :

Selon leur spectre d'action, les antibiotiques peuvent avoir un spectre large, moyen, ou très étroit.

Selon leur type d'action, les antibiotiques peuvent être bactéricides ou fongicides comme ils peuvent être bactériostatiques ou fongistatiques.

Selon leur mode d'action, les antibiotiques sont classés selon la cible moléculaire sur laquelle ils se fixent.

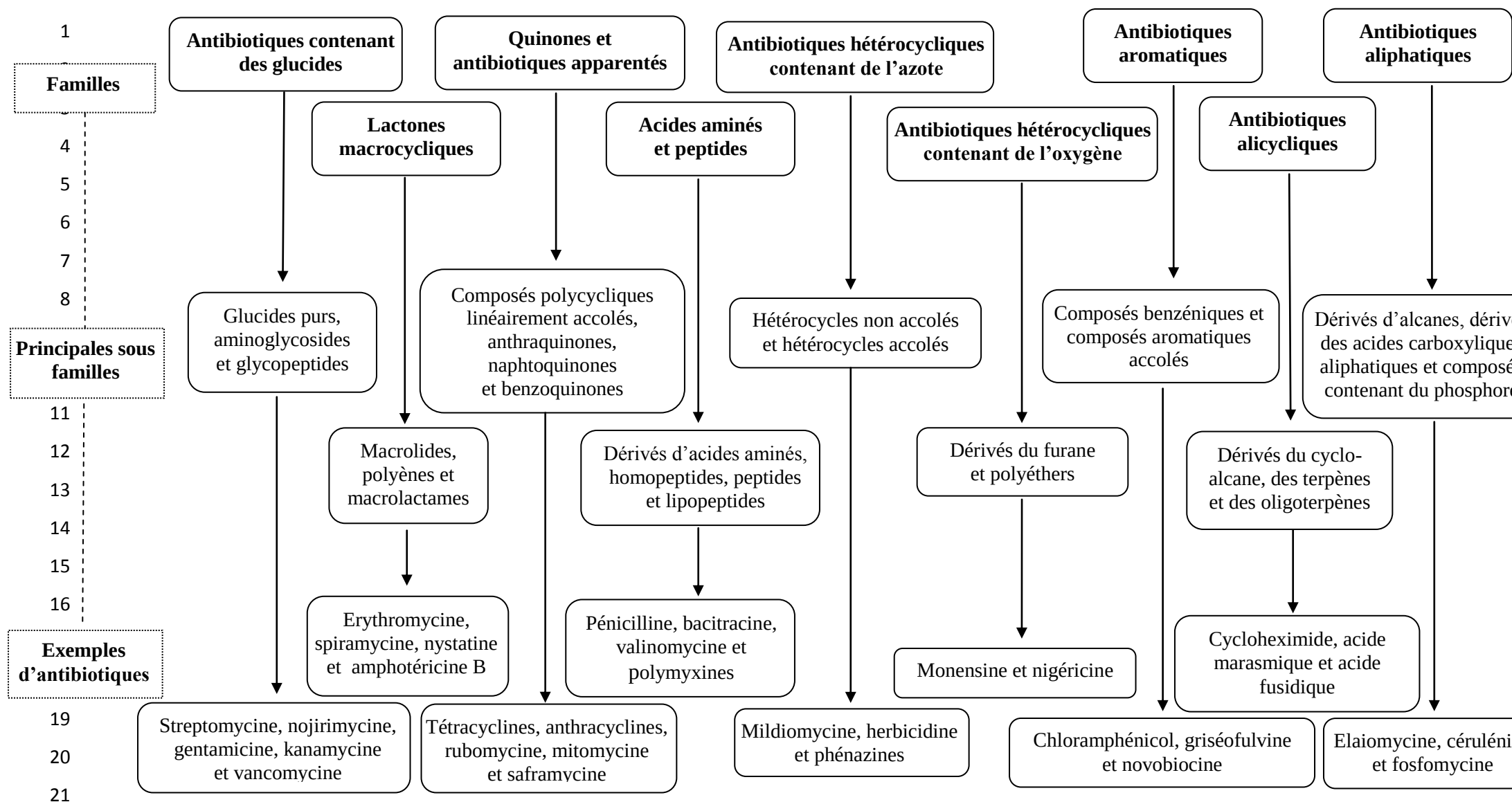


Figure 01. Classification des antibiotiques selon leur structure chimique (Berdy *et al.*, 1987; Berdy, 2005)

Selon leur origine, les antibiotiques peuvent être élaborés par divers organismes vivants. Ils peuvent être d'origine fongique (ex: pénicillines), bactérienne (ex: bacitracine) ou encore végétale.

Selon leur charge électrique, les antibiotiques peuvent être à caractère acide (ex: pénicilline), basique (ex: aminosides) ou neutre (ex: nogalamycines, mutactimycines) (Berdy *et al.*, 1987, 2005; Lamari, 2006).

2. Source d'antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être d'origine naturelle, héli-synthétique ou purement synthétique.

2.1. Antibiotiques d'origine naturelle

La pénicilline fut découverte en 1928 par Alexander Fleming, à partir d'un champignon nommé : *Penicillium notatum* ; depuis cet exploit, les recherches se sont lancées sur d'autres microorganismes. (Abayomi, 2010).

Waksman passa au crible des milliers de microorganismes ; aidé par Schatz et Bugie, il découvrit la streptomycine en 1944 dans des cultures de *Streptomyces griseus*. Ensuite, il découvrit d'autres antibiotiques importants tels que l'actinomycine, la griséine et la néomycine. Par la suite d'autres antibiotiques majeurs furent découverts tels que la polymyxine B (1947) produite par *Bacillus polymyxa*, le chloramphénicol (1948) sécrété par *Streptomyces venezuelae*, la tétracycline (1948), l'érythromycine (1952), la vancomycine (1956), la kanamycine (1957), la lincomycine (1962), etc., élaborés par diverses espèces de *Streptomyces*. (Ben youssef et Belguith et Hadiji, 2016).

2.2. Antibiotiques d'origine synthétique

Les travaux d'Ehrlich sur les substances tinctoriales avaient marqué la recherche pharmacologique de la fin du 19^{ème} siècle et début du 20^{ème} siècle ; de même des colorants de type sulfamides ont été synthétisés en 1908 par Gelmo et en 1919 par Heidelberger et Jacobs. C'est grâce à Gerhard Domagk, que l'action antimicrobienne de la sulfamidochrysoidine fut découverte au début des années 1930. Il l'a découverte alors qu'il recherchait des substances chimiques toxiques pour les bactéries, cela a ouvert la voie à l'utilisation des sulfamides en chimiothérapie anti-infectieuse.

D'autres agents antibactériens ont été synthétisés, comme les 5-nitrohétérocycles comprenant le 5-nitrofuryle (1944), les 5-nitroimidazoles dont le métronidazole (1959), l'éthionamide en (1956), le triméthoprime (1957), les pénèmes (1977), l'acide nalidixique (1962) et les fluoroquinolones à la fin des années 1970 (*in* Bergogne-Berezi et Dellamonica, 1999).

2.3. Antibiotiques d'origine hémi-synthétique

L'hémisynthèse consiste à utiliser une molécule naturelle comme point de départ et à effectuer sur celle-ci des modifications artificielles en vue d'obtenir des dérivés ayant des performances plus élevées par rapport à la molécule de départ.

Beaucoup d'antibiotiques sont fabriqués industriellement par hémisynthèse à partir d'un substrat commun. L'acide 6-aminopénicillanique est une pénicilline naturelle obtenue à partir de *Penicillium*. Elle est rattachée à un radical (R) qui représente les diverses protéines susceptibles d'être greffées (Figure 02). Ce greffage est réalisé afin de diversifier le champ d'action de la pénicilline naturelle. En effet, certaines bactéries résistantes produisent une enzyme (pénicillinase) pour ouvrir le cycle Béta-lactame et rendre ainsi inactive la pénicilline naturelle. Des pénicillines d'hémisynthèse tel que la méticilline et l'oxacilline résistent à la pénicillinase (Milcent, 2003).

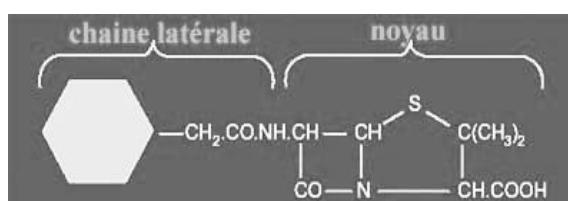


Figure 02. Structure chimique d'une pénicilline d'hémisynthèse mettant en évidence le noyau commun naturel (acide 6-aminopénicillanique) et le radical greffé ([En ligne] Disponible sur <http://www.microbes-edu.org/> (Consulté le 20/04/2017 à 18h)).

3. Les Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules qui agissent sur des cibles spécifiques stoppant ainsi la prolifération microbienne en inhibant une étape primordiale de leur développement à des

niveaux différents du processus métabolique. Selon sa nature, l'antibiotique peut bloquer la synthèse de la paroi, la membrane plasmique, la synthèse des acides nucléiques ou encore la synthèse protéique empêchant ainsi leur survie et leur cycle de reproduction. (Karp et Masson, 2010)

La Figure 03 ci-dessous illustre les différents sites d'action des antibiotiques chez la bactérie.

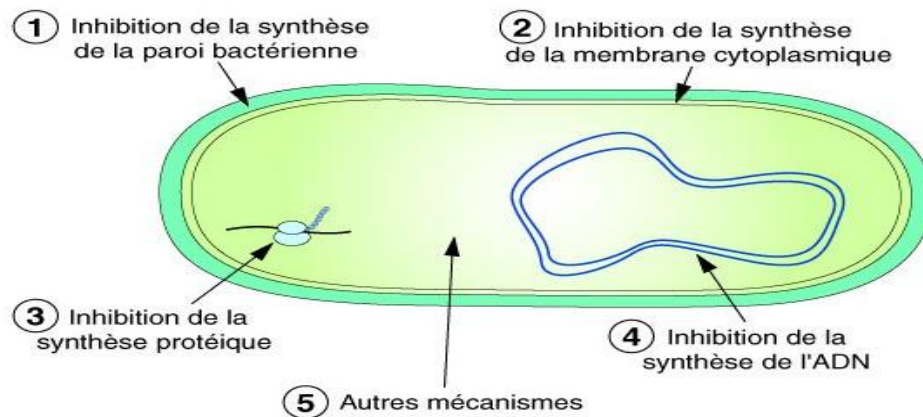


Figure 03. Schéma illustrant les différents sites d'action des antibiotiques (Disponible sur <http://www.123bio.net/> (consulté le 09/10/2017 à 12h 22))

3.1. Action sur la synthèse pariétale

Les bactéries et les fungi disposent d'une paroi protectrice. L'élément essentiel qui la caractérise chez les bactéries est la muréine, appelé aussi peptidoglycane, qui est un polymère complexe constitué de sucres aminés et tétrapeptides reliés par différents types de liaisons chimiques. Chez les fungi, la constitution de la paroi est différente. Elle est riche en chitine, en glucanes et d'autres polysides selon les espèces, tels que les chitosanes chez les Mucorales et les mannanes chez les levures (Leyral et Vierling, 2007 ; Lansing et *al.*, 2010). Les antibiotiques qui agissent sur la paroi, entravent le déroulement normal de sa synthèse et exposent ainsi le microorganisme aux différents facteurs de stress externes, notamment la pression osmotique qui conduit à la lyse cellulaire (Lansing et *al.*, 2010).

Les antibiotiques antibactériens (β -lactamines, cyclosérine, fosfomycine et glycopeptides) agissent sur la synthèse pariétale empêchant l'insertion des acides aminés formant le tétrapeptide muréique ou en empêchant l'insertion de ce dernier au niveau de la muréine (Asselineau et Zalta, 1973).

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse pariétale fongique (ex.: échinocandines) bloquent la synthèse des glucanes pariétaux, essentiels à la paroi cellulaire fongique, entraînant ainsi un déséquilibre osmotique puis la lyse de la cellule fongique (Asselineau et Zalta, 1973; Carle, 2003).

3.2. Action sur la membrane plasmique

La membrane cellulaire représente une entité primordiale et vitale chez tout microorganisme. Elle est constituée d'une double couche phospholipidique et de protéines qui lui sont associées (Figure 04.).

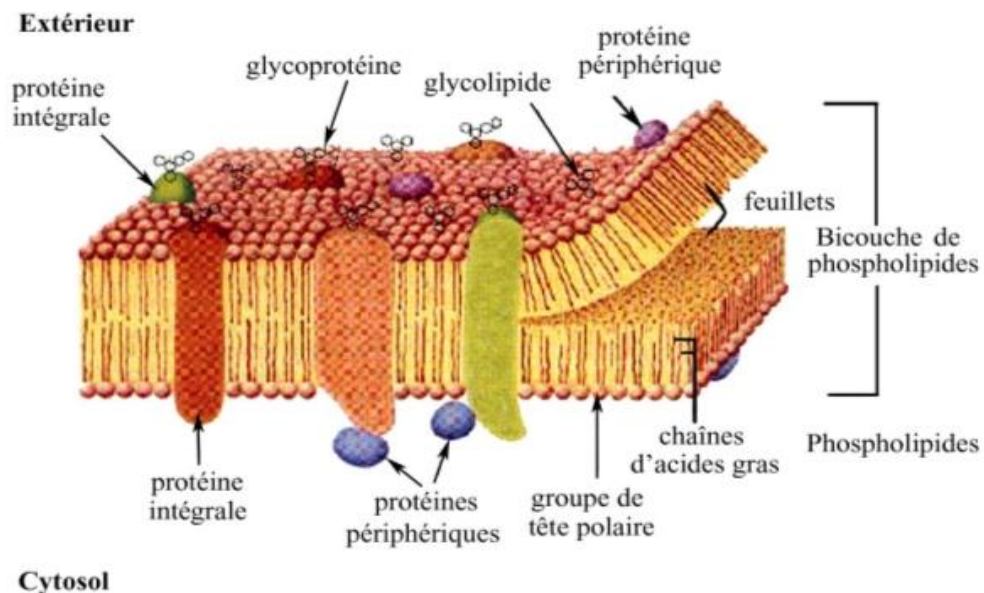


Figure 04. Représentation schématique de la bicouche phospholipidique qui constitue la structure fondamentale des membranes biologiques. (Adapté de Darnell et al. 1993).

La membrane cytoplasmique est une barrière sélective permettant de maintenir les métabolites et les ions à l'intérieur du microorganisme. Elle est aussi impliquée dans la stabilisation du gradient de protons qui permet l'emmagasinement de l'énergie cellulaire (Prescott et al, 2002). Certains antibiotiques visent à rompre cette membrane provoquant la dispersion de l'énergie chimio-osmotique et la fuite du contenu cytoplasmique au milieu extracellulaire rendant toute survie bactérienne impossible.

Ces antibiotiques peuvent être antibactériens (ex.: polymyxines) ou antifongiques (ex.: amphotéricine B et nystatine). Ces derniers, agissent sur les stérols de la membrane plasmique eucaryote, nécessaires à l'intégrité de la membrane cellulaire, conduisant ainsi à la formation de pores provoquant une augmentation de la perméabilité avec perte du contenu cytoplasmique puis la mort de la cellule fongique (Carle, 2003 ; Sylvie et Pharm 2003 ; Hulin et *al.* 2005). Les polymyxines pénètrent les membranes bactériennes grâce à leur caractère amphiphile et s'incorporent aux couches lipidiques par l'intermédiaire de leur extrémité hydrophobe (acide gras) alors que l'extrémité hydrophile reste à l'extérieur. Cette action a pour effet la désorganisation membranaire et la mort cellulaire (Prescott et *al.*, 2002).

3.3. Action sur les acides nucléiques

Les acides désoxyribonucléiques (ADN) constituent le support d'information génétique. L'acide ribonucléique (ARN) intervient essentiellement comme support intermédiaire des gènes lors de la synthèse protéique. Cela montre l'importance vitale des acides nucléiques (ADN et ARN) pour toute entité biologique vivante.

Les antibiotiques qui ont une action sur la synthèse des acides nucléiques ciblent l'une des étapes majeures (la synthèse d'ADN et sa réplication, la transcription d'ADN en ARN). Parmi ces antibiotiques, les quinolones et fluoroquinolones qui agissent en se liant au complexe ADN-ADN gyrase bactérienne, ce qui a pour effet d'inhiber la gyrase (indispensable à l'ouverture de la double hélice). Ceci inhibe la réplication de l'ADN, donc la division bactérienne. La mitomycine et l'acide nalidixique empêchent respectivement la réplication de l'ADN (en se fixant sur les deux brins d'ADN) et sa synthèse (par inhibition de l'incorporation de la thymine). L'actinomycine empêche la transcription de l'ADN en ARN messager (Asselineau et Zalta, 1973 ; Prescott et *al.*, 2002 ; Lansing et *al.*, 2010).

3.4. Inhibition de la synthèse des protéines

La synthèse protéique constitue également une étape vitale pour les cellules microbiennes. L'ARN messager est traduit en protéines (protéines structurales, enzymatiques, de transport) au niveau des ribosomes.

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique agissant sur les ribosomes, comme c'est le cas des macrolides, des tétracyclines et du chloramphénicol. Au niveau du ribosome, ces antibiotiques peuvent empêcher la fixation de l'ARN de transfert porteur d'acides aminés, la

translocation et la transpeptidation. D'autres antibiotiques (ex. streptomycine) provoquent des erreurs de lecture du code génétique (Asselineau et Zalta, 1973).

Le ribosome est un très gros assemblage de plusieurs protéines et d'ARN ribosomiaux (ARNr), composé de deux sous-unités ; une grande et une petite. Ces deux sous-unités s'assemblent et forment, à leur interface, une « tête de lecture » capable de décoder l'ARN messenger (Figure 05). Certains antibiotiques agissent sur la petite sous-unité (30S) ribosomale (ex : aminosides, cyclines et glycylyclines) et d'autres sur la grande sous-unité ribosomale (50S) comme les macrolides, les oxazolidinones, les acides fusidiques et les phénicolés.

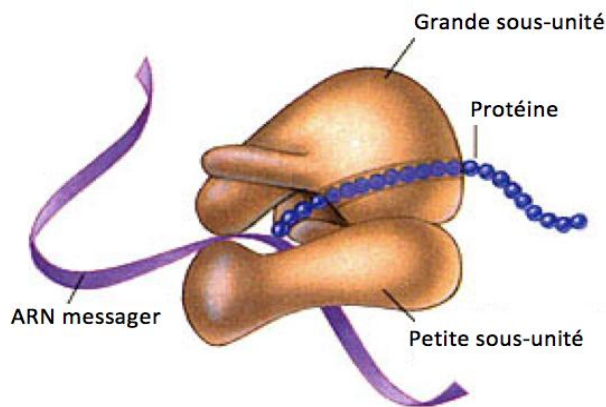


Figure 05. Schéma illustrant la structure du ribosome ([En ligne] Disponible sur <https://ed414-openlab.unistra.fr/> (consulté le 09/10/2017 à 14h26))

VI. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

1. Phénomène de la résistance et la multi résistance aux antibiotiques

L'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire est contrôlé, cela s'explique par le fait que l'antibiothérapie animale compte un ensemble de contraintes pouvant se répercuter sur la santé humaine consommateur. L'une de ces contraintes, engendrées par une antibiothérapie prolongée, est l'émergence du phénomène d'antibiorésistance avec apparition de souches bactériennes parfois multirésistantes aux antibiotiques. Cela rend la lutte contre les infections et les maladies d'origine microbienne très difficile avec échecs thérapeutiques conduisant souvent à la mort de l'animal et l'émergence de pathogènes pour l'Homme. En effet, ce

phénomène est très fréquent, illustrant parfaitement l'ampleur des conséquences à long terme d'une antibiothérapie mal menée.

La résistance des microorganismes aux antibiotiques est un phénomène connu depuis très longtemps à évolution perpétuelle, sous l'effet de la pression de sélection des antibiotiques, et accéléré par l'usage intensif et automatique de ces molécules. De nombreux travaux et publications dans le monde et en Algérie font état de la constante évolution du phénomène de l'antibiorésistance signalant même l'apparition de nouvelles souches bactériennes multirésistantes aux antibiotiques cliniquement utilisés, dont certains sont des céphalosporines de troisième et quatrième générations (Touati *et al.*, 2006 ; Messai *et al.*, 2008 ; Sekhsokh *et al.*, 2008 ; Kumarasamy *et al.*, 2010). En effet, il faut remonter à l'époque des années 1940 pour constater que très peu de temps après le début de l'usage thérapeutique de la pénicilline, il a été enregistré antibiorésistance sur des souches de staphylocoques (Mary barber, 1946).

2. Types de résistance aux antibiotiques

2.1. La résistance naturelle

La résistance d'une espèce ou d'un genre bactérien donné qui ont la capacité de résister à un antibiotique. Le support de cette résistance est chromosomique (Lansing *et al.*, 2010).

2.2. La résistance acquise

La résistance acquise est la capacité d'une souche bactérienne à résister à une concentration d'antibiotique, beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce bactérienne (Schwarz et Chaslus, 2001). C'est une propriété de souche ; cette résistance peut être acquise soit par mutation chromosomique (20% des cas) soit par acquisition de matériel génétique exogène (transfert de plasmides conjugatifs ou de transposons) (Yala *et al.*, 2001; Barrial *et al.*, 2005; Lansing *et al.*, 2010).

2.2.1. Résistance par mutation chromosomique

C'est un phénomène rare, mis en cause dans une toute petite partie des résistances rencontrées en clinique. Souvent, l'augmentation de la résistance se fait progressivement par

plusieurs mutations chromosomiques successives. Cependant, il est possible qu'une seule mutation chromosomique puisse induire une augmentation très importante de l'antibiorésistance. La diffusion de ce type de résistance est étroitement liée à la nature de la souche bactérienne mutante (Demerc, 1948).

2.2.2. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène

Contrairement à la mutation chromosomique où l'on a une augmentation par paliers de la résistance, l'acquisition de matériel génétique exogène permet l'apparition d'une augmentation brusque de la résistance. Cette acquisition de nouveaux gènes se fait par l'intermédiaire de plasmides ou de transposons par trois mécanismes : la conjugaison, la transformation et la transduction.

La conjugaison peut s'effectuer entre deux bactéries de même espèce ou bien entre deux bactéries d'espèces différentes mais compatibles. Elle a pour principe, le transfert d'une copie du plasmide porteur des gènes de résistance par l'intermédiaire des pili sexuels (Lederberg, 1946)

La transformation est un autre phénomène qui a généralement lieu entre bactéries de genres proches pour permettre la recombinaison. Il a pour principe l'obtention de nouveaux gènes de résistance par le réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries (Griffith, 1928).

Enfin, la transduction se fait par la transmission de séquences d'ADN entre différentes bactéries et ce par l'intermédiaire d'un virus "bactériophage". Ce mécanisme n'a lieu que pour des bactéries de la même souche vue la spécificité des bactériophages (Lwoff, 1950).

3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Pour survivre, la bactérie tente d'échapper à l'action des antibiotiques par différentes stratégies, ces dernières peuvent être classées en deux types principaux : des mécanismes non enzymatiques (intrinsèques) et des mécanismes enzymatiques. (Voir figure 06).

3.1. Mécanismes non enzymatiques

Parmi les mécanismes non enzymatiques qu'utilise la bactérie pour sa survie : l'imperméabilité, la modification de la cible d'antibiotique, les systèmes d'efflux et la résistance par absence de site d'action.

3.1.1. L'imperméabilité : « Résistance par diminution de la pénétration d'un antibiotique »

L'existence de l'enveloppe hydrophobe externe chez les bactéries permet une résistance naturelle à plusieurs antibiotiques hydrophiles cela est dû au composant lipopolysaccharidique (LPS) présent sur les enveloppes des bactéries à Gram négatif (Cavallo *et al.*, 2004). Des mutations peuvent entraîner des modifications quantitatives ou qualitatives de l'expression des porines. Ces dernières sont des protéines possédant des canaux centraux qui permettent le passage de molécules hydrophiles de petite taille comme les β -lactamines, les aminosides et les phénicolés. Leur inactivation ou la diminution de leur nombre est responsable de la résistance acquise à plusieurs familles d'antibiotiques par diminution de la diffusion des antibiotiques (Carvallo *et al.*, 2004).

3.1.2. Systèmes d'efflux : « Résistance par augmentation de l'excrétion d'un antibiotique »

Ce mécanisme est actif chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Il consiste à l'expulsion des antibiotiques hors de la cellule bactérienne, mais il existe surtout chez les bactéries n'ayant pas un système de dégradation intracellulaire, possédant des protéines membranaires qui induisent une augmentation de l'excrétion de l'agent antibactérien et par conséquent l'augmentation de la résistance à ce dernier (Cavallo *et al.*, 2004).

3.1.3. Altération des cibles d'antibiotiques

Si la cible est modifiée de telle manière que l'antibiotique ne puisse pas s'y fixer, la bactérie acquiert une résistance qui s'étend souvent à toute la famille de l'antibiotique à cause d'une moindre affinité (Fauchère et Avril, 2002; Cavallo *et al.*, 2004).

Le ribosome est le siège de la synthèse protéique et en même temps le site de fixation de quelques antibiotiques provoquant l'arrêt de la synthèse protéique. La modification acquise de

celui-ci par mutation, diminue l'affinité du site de fixation de l'antibiotique et rend la bactérie résistante (Fauchère et Avril, 2002).

3.1.4. Résistance par absence de site d'action

C'est une résistance naturelle par absence du site d'action. Par exemple, Les bactéries résistent naturellement aux antifongiques par absence de stérols et les champignons résistent aux pénicillines par absence de peptidoglycane.

3.2. Les mécanismes enzymatiques

Ces mécanismes consistent à synthétiser des enzymes qui ont le pouvoir de réduire ou carrément inactiver l'antibiotique. Parmi ces enzymes, celles inactivant les aminosides, les phénicolés et les β -lactamines (Cavallo et *al.*, 2004).

3.2.1. Les enzymes inactivant les phénicolés

La production d'une chloramphénicol acétyltransférase plasmidique est souvent la cause de la résistance au chloramphénicol. Cette substance est détectée chez certaines espèces d'entérobactéries telles que *Salmonella typhi* et *Pseudomonas* et *Yersinia* (Cavallo et *al.*, 2004). Mais il peut exister aussi, une résistance au chloramphénicol par le biais d'une nitroréductase (Smith et Erwin, 2007).

3.2.2. Les enzymes inactivant les aminosides

Ces enzymes sont classées en trois catégories d'après la réaction produite: aminoside acétyltransférases, aminoside adényltransférases et aminoside phosphotransférases; seules ces dernières confèrent un haut niveau de résistance (Cavallo et *al.*, 2004).

3.2.3. Les enzymes inactivant les β -lactamines

Plusieurs bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* produisent des enzymes inactivant les

antibiotiques. Ces bactéries présentent une résistance naturelle aux aminopénicillines (Ampicilline-Amoxicilline) et aux carboxypénicillines, due à une pénicillinase constitutive, c.à.d produite constamment et indépendamment de la présence de l'antibiotique (Cattoir, 2004).

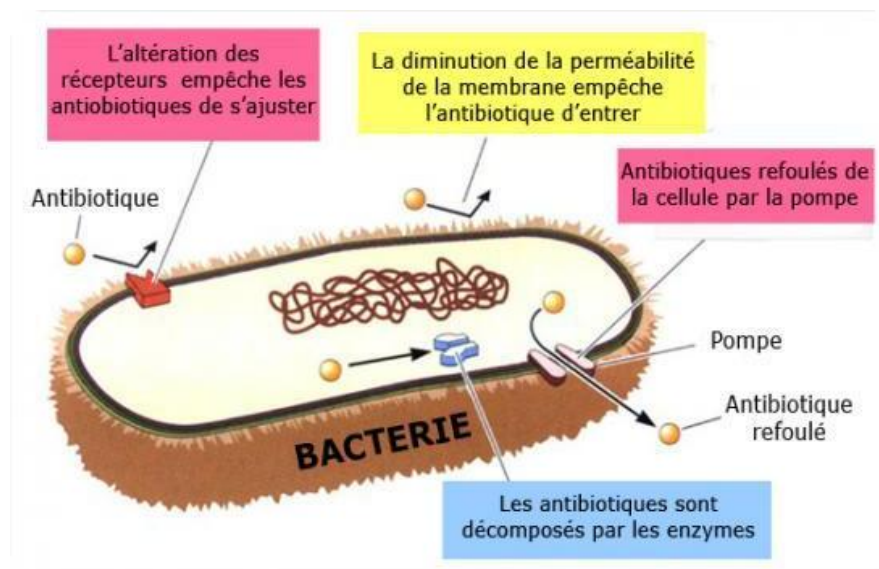


Figure 06. Schéma illustrant les principaux mécanismes mis en œuvre par les microorganismes dans la résistance aux antibiotiques. Source : www.antibiotique.eu

Partie II

Matériel et méthodes

Les prélèvements, l'isolement et l'identification partielle des souches bactériennes ont été réalisés dans le cadre du Projet de Fin d'Etude pour l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire (Aouiche et Mohammedi, 2017). Dans le présent travail, des tests complémentaires permettant de confirmer l'identité des espèces ont été accomplis. De plus, une étude statistique basée sur les résultats obtenus en pfe et une enquête sur terrain auprès des professionnels de la santé animale ont été réalisés.

I. ORIGINE DES ECHANTILLONS ET ISOLEMENT DES SOUCHES BACTERIENNES

Les prélèvements ont été effectués dans le cadre du projet de fin d'étude sur divers animaux provenant des services de « médecine canine », « chirurgie » et « anatomie pathologique » de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (E.N.S.V.), d'une clinique chirurgicale de la médecine humaine située à Bordj-bouarréridj et d'un cabinet vétérinaire situé à Ain-Allah (Alger). Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'E.N.S.V. d'Alger. Chaque analyse a été suivie d'une fiche d'enquête afin de recueillir le maximum d'information (espèce animale / sexe / âge / type de prélèvement / pathologie suspectée / état de santé / description). (Aouiche et Mohammedi, 2017)

Les principaux types de prélèvements réalisés sont d'origine auriculaire, viscérale, à partir de plaies infectées et d'abcès. Les méthodes de prélèvements effectuées sont décrites en annexe 01.

L'isolement des souches bactériennes a été effectué à partir de suspension bactérienne, par étalement sur milieu de gélose nutritive coulée en boîtes de Pétri, après enrichissement. Les boîtes sont incubées à 37°C durant 24 h. Les colonies bactériennes ont été purifiées et étudiées individuellement (Aouiche et Mohammedi, 2017).

II. IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES

L'identification des souches bactériennes isolées dans le cadre du PFE a été réalisée en se basant sur des tests micromorphologiques (forme, regroupement, coloration de Gram), culturaux suivis d'une identification par galerie Api. Nous avons identifié 100 souches dont 39 bactéries appartenant au genre *Staphylococcus* (voir tableau n° 01 ci-dessous). Cinq de ces dernières ont été identifiées en tant que *Staphylococcus* sp. par manque de galerie rapide Api Staph qui nous permettraient de les identifier précisément.

Tableau n° 01. Espèces et effectif des isolats du genre *Staphylococcus* étudiés.

Espèces de <i>Staphylococcus</i>	Nombre
<i>Staphylococcus aureus</i>	18
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	02
<i>Staphylococcus lentus</i>	01
<i>Staphylococcus simulans</i>	02
<i>Staphylococcus xylosus</i>	11
<i>Staphylococcus</i> sp.	05

Afin d'identifier ces cinq bactéries et leur attribuer un nom d'espèce, des tests complémentaires physiologiques et biochimiques ont été réalisés par galerie classiques dans le cadre du présent travail et les résultats obtenus ont été comparés aux profils des espèces du genre *Staphylococcus*.

1. Tests de la voie de fermentation du glucose

Ce test s'effectue sur milieu Clark et Lubs et permet de mettre en évidence la voie de fermentation du glucose empruntée par la bactérie à travers les produits synthétisés. En effet, il existe la voie de fermentation des acides mixtes révélée par le test rouge de méthyle (RM) et la voie de fermentation butanediolique révélée par le test vosges-proskauer (VP).

Le test consiste à ensemencer deux tubes de milieu Clark et Lubs avec quelques gouttes de suspension bactérienne. Après incubation à 37 °C durant 24 à 48 h. La lecture des résultats se fait après vérification de l'apparition d'un trouble comme suit :

- Ajout d'une goutte de rouge de méthyle dans le premier tube. Une coloration rouge témoin d'une forte acidification indique un résultat positif pour la voie des acides mixtes.
- Ajout d'une goutte de chacun des réactifs VP1 et VP2 dans le deuxième tube. Une coloration rouge en surface témoin de la présence de l'acétoïne indique un résultat positif pour la voie butanediolique (François Denis, 2011).

2. Test de l'H₂S, glucose et lactose

Ce teste s'applique sur milieux de Kligler-Hajna. Ce dernier contient deux glucides « glucose » et « lactose ». Cela nous permet de mettre en évidence l'utilisation de ces deux sucres en plus de la production d'H₂S.

Le test consiste à ensemencer le milieu de culture en tube incliné par une pipette chargée de la suspension bactérienne. Le culot est ensemencé quant à lui en piqure centrale. L'incubation du tube se fait pendant 24 heures à 37°C, sans trop visser le tube.

- Le 1^{er} sucre dégradé est le glucose, sa fermentation nécessite l'anaérobiose (dans le culot). Une production d'acides résulte de cette dégradation, révélée par un virage de couleur du rouge de phénol vers le jaune.
- Le 2^{ème} sucre dégradé est le lactose, sa dégradation nécessite l'aérobiose (sur la pente). Le virage du rouge de phénol au jaune sur la pente du tube signifie une acidification due à l'oxydation du lactose, on peut donc dire que la souche est à lactose (+).
- Quant à la production de H₂S, elle est mise en évidence par la présence du précipité noir (précipité de sulfure de fer noir), qui témoigne la combinaison du H₂S formé avec le citrate de fer présent (François Denis, 2011).

3. Test Mannitol- Mobilité

Ce test s'applique sur milieu Mannitol-Mobilité et permet de mettre en évidence la mobilité de la souche et la fermentation du mannitol.

Le test consiste à ensemencer le tube de mannitol-mobilité par piqure centrale, et l'incuber par la suite à 37°C pendant 24 heures. Le milieu mannitol-mobilité contient une faible teneur d'agar (gélose semi-solide) qui rend le déplacement des bactéries mobiles

possible. La diffusion des bactéries autour de la piqûre centrale indique la mobilité de ces dernières.

L'utilisation du mannitol est signalée par l'indicateur de pH (rouge de phénol). L'utilisation du mannitol acidifie le milieu qui peut ainsi être révélé par le virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide (jaune) ((François Denis, 2011).

4. Test d'utilisation du citrate comme seule source de carbone

Ce test s'applique sur milieu Citrate de Simmons et permet l'étude de l'utilisation du citrate par la bactérie, comme seule source de carbone. Seules les bactéries possédant une "citrate perméase" ont la capacité d'utiliser cet acide organique comme source de carbone.

Le test consiste à ensemencer sur la pente d'un tube contenant le milieu Citrate de Simmons et de l'incuber à 37°C pendant 24 h.

La lecture des résultats est possible grâce à la présence d'un indicateur de pH (bleu de bromothymol) et d'un seul composé carboné «citrate de sodium». L'oxydation du citrate entraîne la libération de CO₂ et la consommation de H⁺ entraînant une alcalinisation du milieu révélée par le virage du bleu de bromothymol à sa teinte basique (bleu) ((François Denis, 2011).

5. Test de l'ADH (arginine dihydrolase)

Ce test a pour but de mettre en évidence l'enzyme ADH. Cela consiste à ensemencer le milieu avec une goutte de suspension bactérienne. Le tube doit être agité et bien vissé avant de le placer dans un incubateur à 37°C pendant 24 heures.

La dégradation de l'arginine par l'enzyme arginine dihydrolase, provoque une alcalinisation du milieu et donc un virage de couleur du milieu au violet ((François Denis, 2011).

6. Test de TDA (tryptophane désaminase), uréase et production d'indole

Ce test s'applique sur milieu urée-indole et permet de mettre en évidence la présence d'une uréase, une tryptophanase et un tryptophane désaminase (TDA).

Le test consiste à ensemencer trois tubes contenant le milieu urée-indole par un inoculum bactérien et de les incuber à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats se fait comme suit :

- Une forte alcalinisation du milieu révélée par un virage de l'indicateur de pH (rouge de phénol) à sa teinte basique (rouge) indique la dégradation de l'urée par l'uréase.
- Un précipité marron foncé se forme en présence du réactif « chlorure de fer » lors de la dégradation du tryptophane par la TDA.
- Un complexe coloré en rouge se forme en présence du réactif de Kovacs lors de production d'indole, cela permet de mettre en évidence l'hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase ((François Denis, 2011).

7. Test de nitrate réductase

Ce test a pour but de mettre en évidence la présence de nitrate réductase, un complexe enzymatique capable de réduire les nitrates en nitrites ou bien les réduire en nitrites puis en azote moléculaire (diazote).

La technique consiste à ensemencer un milieu liquide nitraté et à mettre en évidence la présence des nitrites par ajout du réactif de Griess (Nit1 et Nit2) responsable de la formation d'un complexe rouge en contact avec les nitrites.

En absence de coloration rouge (absence de nitrites), l'ajout du zinc catalysant la réduction des nitrates en nitrites, mise en évidence par le réactif de Griess démontre l'absence de synthèse de nitrate réductase chez la bactérie. L'absence de virage de couleur (au rouge) après ajout de zinc, démontre la réduction des nitrates en diazote par la bactérie ((François Denis, 2011).

III. FACTEURS INFLUENCANT LA RECRUESCENCE DE L'ANTIBIORESISTANCE

1. Etude statistique

Une étude statistique, basée sur le test de conformité de χ^2 , permettant de déterminer les facteurs influençant la recrudescence du phénomène de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques a été menée. Pour cela, les profils de résistance de la totalité des espèces de staphylocoques isolées ont été étudiés en relation avec les facteurs : fréquence de consommation des antibiotiques, âge de l'animal, sexe de l'animal, la pathologie et l'espèce animale.

Le test de conformité χ^2 a été appliqué par le logiciel Excel de Microsoft. Il permet d'étudier le lien ou l'indépendance qui existe entre deux variables aléatoires. La significativité exprime l'improbabilité que deux variables soient indépendantes. On utilise pour cela un seuil de signification qui signifie que le résultat observé a moins de 5 % de chances d'être obtenu par hasard. Il est donc jugé statistiquement significatif.

Pour cela le test consiste à comparer une valeur « p » à ce seuil :

- Si la valeur « p » est supérieure à 0,05, le résultat n'est pas significatif ;
- Si la valeur « p » est inférieure à 0,05, le résultat est considéré comme significatif ;
- Si la valeur « p » est inférieure à 0,01, le résultat est considéré comme hautement significatif ;
- Si la valeur « p » est inférieure à 0,001, le résultat est considéré comme très hautement significatif.

2. Enquête sur terrain

Un questionnaire composé de 12 questions, basé principalement sur des questions fermées, a été préparé et distribué auprès des professionnels de la santé animale dans la région d'Alger et ses environs afin de recueillir des données sur terrain, à savoir la prévalence des infections staphylococciques et l'évolution de l'antibiorésistance, les méthodes et stratégies suivies par les vétérinaires face à ces infections et les approches thérapeutiques adoptées face au phénomène de l'antibiorésistance.

Ces données sont exploitées en tentant d'établir un lien entre la méthode thérapeutique utilisée et l'émergence de staphylocoques résistants voir multi-résistants.

Les résultats obtenus (proportions) sont confrontés à ceux de la littérature et ceux obtenus sur la base des échantillons isolés. Le modèle du questionnaire est présenté ci-dessous.

Modèle du questionnaire utilisé lors de l'enquête relative à l'antibio-résistance des staphylocoques, auprès des professionnels de la santé animale

Nom du vétérinaire (Facultatif): Dr.

1. Recevez-vous beaucoup d'infections staphylococciques ?

- ☐ Oui
☐ Non

2. Avez-vous constaté la présence d'une antibio-résistance dans les infections staphylococciques que vous recevez ?

- ☐ Oui
☐ Non

Si oui, quels sont les principaux antibiotiques vis-à-vis desquels les staphylocoques sont résistants ?

3. Utilisez-vous des antibiotiques à titre préventif ?

- ☐ Oui
☐ Non

4. Réalisez-vous des tests d'antibiogramme avant traitement par antibiothérapie ?

- ☐ Oui
☐ Non

5. A propos de la résistance aux antibiotiques, avez-vous constaté une différence significative entre les patients ayant reçu beaucoup d'antibiotiques au préalable et ceux n'ayant jamais (ou peu) pris d'antibiotiques ?

- ☐ Oui
☐ Non

6. Quels antibiotiques utilisez-vous le plus souvent contre les infections staphylococciques ?

.....

7. Dans le cas de staphylocoques résistants, quelles solutions palliatives adoptez-vous ? Y a-t-il un ou plusieurs antibiotique (s) que vous réservez à ce genre de situations pour éviter les échecs thérapeutiques et sauver les patients ?

.....

.....

.....

8. Avez-vous remarqué un lien entre l'utilisation abusive des antibiotiques et le développement de la résistance staphylococcique ?

.....

.....

9. Avez-vous remarqué un quelconque lien entre le sexe ou l'âge des patients, l'organe atteint ou l'espèce animale et la résistance des staphylocoques ?

- ☐ Oui
- ☐ Non

-Si oui précisez lesquels :

.....

.....

.....

10. Avez-vous remarqué un lien entre l'espèce bactérienne et le développement de la résistance staphylococcique ?

.....

.....

11. A votre avis, qui est concerné par la lutte contre l'antibio-résistance ?

- ☐ Les vétérinaires
- ☐ Les médecins
- ☐ Les éleveurs
- ☐ Les boîtes pharmaceutiques
- ☐ Autre réponse :.....
.....

12. Pensez-vous pouvoir contribuer à la réduction de l'utilisation des antibiotiques ?

- ☐ Oui
- ☐ Non

Si non, pourquoi ? Quelle est la nature des entraves et difficultés auxquelles vous faites face ?

Signature

Partie III

Résultats Et Discussion

I. IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES

Les résultats des tests biochimiques et physiologiques réalisés par galerie classique pour les cinq isolats appartenant au genre *Staphylococcus* dans le but de leur donner un nom d'espèce, sont présentés en ci-dessous :

1. Résultats des tests biochimiques

1.1. Tests de la voie de fermentation du glucose

Après ajout du rouge de méthyle, les cinq isolats ont montré une coloration rouge, témoignant d'une acidification du milieu. Les cinq isolats sont donc RM⁺ (voie des acides mixtes). La réaction VP est négative pour les cinq isolats.

1.2. Test de l'H₂S, glucose et lactose

Les cinq tubes ont montré un virage de couleur au jaune en surface et au niveau du culot de milieu. Les cinq tubes sont donc glucose (+) et lactose (+).

Aucun précipité noir n'a été mis en évidence. Les cinq tubes sont donc H₂S(-).

1.3. Test Mannitol- Mobilité

La croissance des bactéries s'est déroulée au niveau de la piqûre centrale sans diffusion latérale, indiquant ainsi l'absence de mobilité pour les cinq isolats.

Le virage de couleur au jaune s'est produit au niveau des cinq tubes. Les cinq isolats sont donc mannitol (+).

1.4. Test d'utilisation du citrate comme seule source de carbone

Un virage de couleur au bleu a été observé au niveau des tubes des cinq isolats. Les cinq bactéries sont donc capables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone.

1.5. Test de l'ADH (arginine dihydrolase)

Un virage de couleur du milieu au violet a été observé chez trois isolats sur cinq indiquant la présence de l'arginine dihydrolase chez ces bactéries.

1.6. Test de TDA (tryptophane désaminase), uréase et production d'indole

Un précipité marron foncé s'est formé dans quatre tubes sur cinq en présence du réactif « chlorure de fer ». Quatre tubes sont donc TDA (+).

Un virage au rouge a été observé dans les tubes des cinq isolats indiquant la dégradation de l'urée par l'uréase. Les cinq isolats sont donc uréase (+).

Aucun complexe rouge ne s'est formé en présence du réactif de Kovacs. Les cinq tubes sont donc indole (-).

1.7. Test de nitrate réductase

Les cinq tubes ont montré un virage de couleur (au rouge). Les cinq isolats sont donc Nitrate réductase (+).

Tableau n° 02 : Résultats des tests biochimiques des cinq isolats étudiés par galerie classique.

	Glucose	Lactose	Mannitol	H ₂ S	Nitrate réductase	VP	Citrate	ADH	TDA	Uréase	Indole
Isolat 1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
Isolat 2	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-
Isolat 3	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
Isolat 4	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
Isolat 5	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>S. aureus</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	ND	+	-
<i>S. xylosus</i>	+	+	+	-	+	+/-	+	-	ND	+	-

S. : *Staphylococcus* ; VP : Voges Proskauer ; ADH : arginine dihydrolase ; TDA : Tryptophane désaminase.

2. Discussion

Les cinq isolats de *Staphylococcus* ont été identifiés sur la base d'une recherche de onze caractères biochimiques en utilisant une galerie api staph. Les cinq isolats ont été identifiés en tant que *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus xylosus*.

Même s'il est admis qu'il n'est pas très juste d'identifier une espèce sur la base de la recherche d'une dizaine de profils enzymatiques, la plupart des tests biochimiques qui ont été réalisés sont des tests distinctifs pour les espèces du genre Staphylocoque figurant parmi les tests de la galerie Api Staph. En effet, il est connu en taxonomie numérique que même l'étude d'une centaine de caractères phénotypiques ne représente que 5 à 20 % (selon les espèces) de l'information génétique globale contenue dans le génome bactérien (Bergey's Manual, 2004).

Il est donc évident que la classification de la présente étude n'est que approximative, un rapprochement sur la base de quelques caractères phénotypiques. En effet, c'est ainsi que les isolats 02 et 03 ont été rapprochés de l'espèce *Staphylococcus xylosus* et les isolats 01, 04 et 05 ont été rapprochés de l'espèce *S. aureus*.

II. FACTEURS INFLUANCANT LA RECRUESCENCE DE L'ANTIBIORESISTANCE

1. Etude statistique

Formulation des hypothèses :

>>H0: il n'y a pas un lien qui relie les deux variables.

>>H1: il y a un lien entre les deux variables.

1.1. Influence de l'âge de l'animal sur la résistance des Staphylocoques

	Nbr. Staph. non résist.	Nbr. Staph. résist.	Total général
Adulte	05	13	18
Jeune	03	18	21
Total général	08	31	39

Le résultat du test χ^2 , $P=0,29$. $P>0,05$, donc on peut dire que la différence n'est pas

significative.

L'hypothèse H_0 ne peut être rejetée au risque de 5%. On n'a donc pas d'argument statistique pour affirmer l'influence de l'âge sur le développement des Staphylocoques résistants.

1.2. Influence du sexe de l'animal sur la résistance des Staphylocoques

	Nbr. Staph. non résist.	Nbr. Staph. résist.	Total général
Femelle	05	15	20
Mâle	03	16	19
Total général	08	31	39

Le résultat du test χ^2 , $P=0,47$. $P>0,05$, donc on peut dire que la différence n'est pas significative.

L'hypothèse H_0 ne peut être rejetée au risque de 5%. On n'a donc pas d'argument statistique pour affirmer l'influence du sexe d'animal sur la recrudescence de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques.

1.3. Influence de l'espèce animale sur la résistance des Staphylocoques

	Nbr. Staph. non résist.	Nbr. Staph. résist.	Total général
Agneau	00	03	03
Canine	04	08	12
Ecureuil	01	02	03
Féline	02	09	11
Humain	00	05	05
Volaille	01	04	05
Total général	08	31	39

Le résultat du test χ^2 , $P=0,60$. $P>0,05$, donc on peut dire que la différence n'est pas significative.

L'hypothèse H_0 ne peut être rejetée au risque de 5%. On n'a donc pas d'argument statistique pour affirmer l'influence de l'espèce animale sur la recrudescence de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques.

1.4. Influence de la pathologie de l'animal sur la résistance des Staphylocoques

	Nbr. Staph. non résist.	Nbr. Staph. résist.	Total général
Autopsie	01	06	07
Coryza	01	03	04

Otite	04	13	17
Plaie	02	09	11
Total général	08	31	39

Le résultat du test χ^2 , $P=0,95$. $P>0,05$, donc on peut dire que la différence n'est pas significative.

L'hypothèse H_0 ne peut être rejetée au risque de 5%. On n'a donc pas d'argument statistique pour affirmer l'influence de la pathologie animale sur le développement de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques.

1.5. Influence de l'espèce bactérienne sur la résistance des Staphylocoques

	Nbr. Staph. non résist.	Nbr. Staph. résist.	Total général
<i>Staphylococcus aureus</i>	03	18	21
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	01	01	02
<i>Staphylococcus lentus</i>	00	01	01
<i>Staphylococcus simulans</i>	01	01	02
<i>Staphylococcus xylosus</i>	03	10	13
Total général	08	31	39

Le résultat du test χ^2 , $P=0,52$. $P>0,05$, donc on peut dire que la différence n'est pas significative.

L'hypothèse H_0 ne peut être rejetée au risque de 5%. On n'a donc pas d'argument statistique pour affirmer l'influence de l'espèce bactérienne sur le développement de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques.

1.6. Influence de la fréquence de prise d'antibiotique sur la résistance des Staphylocoques

Nombre d'isolats	Fréquence de prise d'ATB des animaux correspondants aux isolats	Nbr. Staph. non résist.	Nbr. Staph. résist.
03	00	03	00
03	01	03	00
06	02	02	04
06	03	00	06
10	04	00	10
07	05	00	07
02	06	00	02
01	08	00	01
01	10	00	01
39	/	08	31

La fréquence de prise d'antibiotique est exprimé en nombre de prise par vie ; ATB : antibiotique

Le résultat du test χ^2 , $P=0,0002$. $P<0,001$, donc on peut dire que la différence est significative. L'hypothèse H_0 peut être rejetée au risque de 5%. On a donc un argument statistique pour affirmer l'influence de la fréquence de prise d'antibiotiques sur le développement de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques.

2. Enquête sur terrain

Les résultats de l'enquête sur terrain, relative au développement de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques sont donnés au niveau du tableau n° ci-dessous. Les proportions des réponses sont mentionnées selon le type de question (ouverte / fermée).

Résultats et discussion

Tableau n° 09: Résultats des pourcentages du sondage réalisé auprès des professionnels de la santé animale.

		Oui
Quest.01	Recevez-vous beaucoup d'infections Staphylococciques	82%
Quest.02	Avez-vous constaté une antibiorésistance dans les infections d'origine Staphylococciques	91%
Quest.03	Utilisez-vous des antibiotiques à titre préventif ?	70%
Quest.04	Réalisez-vous des tests d'antibiogramme avant traitement par antibiothérapie	10%
Quest.05	Y'a-t-il différence significative observée entre les patients consommant beaucoup d'antibiotiques et ceux occasionnellement	82%
Quest.06	Y'a-t-il un lien entre l'utilisation abusive d'ATB et le développement de la résistance vis-à-vis des Staphylocoques ?	82%
Quest.07	Y'a-t-il un lien entre le sexe ou l'âge des patients, l'organe atteint ou l'espèce animale et la résistance vis-à-vis des Staphylocoques ?	0%
Quest.08	Y'a-t-il un lien entre l'espèce bactérienne et le développement de la résistance Staphylococcique ?	0%
Quest.09	Pensez-vous pouvoir contribuer à la réduction de l'utilisation des antibiotiques ?	82%

Quest.10	Quels sont les principaux antibiotiques vis-à-vis desquels les staphylocoques sont résistants ?	Pénicilline 82%	Macrolide 23%	Cefoxitine 12%	Méticilline 08%	Amoxicilline 12%	/	/
Quest.11	Quels antibiotiques utilisez-vous le plus souvent contre les infections staphylococciques.	Vancomycine 16%	Erythromycine 08%	Tyrosine 12%	<u>Tetracycline</u> <u>28%</u>	<u>Amoxicilline</u> <u>24%</u>	Pyostacine 08%	Macrolide 04%
Quest.12	Antibiotiques utilisés dans le cas de staphylocoques résistants.	<u>Sulfamides + trimetoprim</u> <u>10%</u>	Pénicilline + streptomycine 14%	<u>Enfx</u> <u>31%</u>	Tyrosine 14%	<u>Cephalexine</u> <u>14%</u>	<u>Marbocycline</u> <u>17%</u>	/

Enfx : Enrofloxasine (fluoroquinolones) ; Les propositions calculées correspondent aux réponses obtenues par les professionnels de la santé animale.

3. Discussion

Les résultats de l'étude statistique relative aux facteurs influençant le développement du phénomène de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques ont montré que parmi tous les facteurs étudiés, seule la fréquence de prise d'antibiotiques influence significativement le développement de ce phénomène.

En effet, ces résultats concordent parfaitement avec ceux obtenus par l'enquête sur terrain auprès des professionnels de la santé animale, lesquels ont répondu à 82 % qu'une différence substantielle a été notée entre les patients consommateurs occasionnels (rares) et ceux consommant beaucoup d'antibiotiques. De plus, plusieurs travaux et enquêtes mentionnés dans la littérature confirment ces résultats (Burn-Buisson, 2016 ; E.C.D.C., 2015 ; A.N.S.M., 2017).

Les infections d'origine staphylococciques sont parmi les plus répandues en pathologie vétérinaire. En effet, les professionnels de la santé animale ont affirmé cela à 82 %. Il faut signaler que 91 % de ces professionnels de la santé affirment l'existence d'une antibiorésistance problématique chez les staphylocoques mis en cause décelés souvent par des échecs thérapeutiques.

Afin de tenter d'expliquer concrètement l'augmentation de l'antibiorésistance chez les Staphylocoques en milieu vétérinaire, nous devons mettre l'accent sur les pratiques de tous les acteurs du milieu vétérinaire (médecin et éleveur). En effet, les résultats de notre enquête montrent que seuls 10% des médecins vétérinaires ont reconnu pratiquer l'antibiogramme avant prescription d'un antibiotique. Cet élément indique le faible taux de l'antibiothérapie ciblée qui conduit souvent à des prescriptions anarchiques contribuant à l'augmentation de l'antibiorésistance. Cet élément est aggravé par l'utilisation préventive des antibiotiques (70% des réponses obtenues).

Par ailleurs, selon les réponses des médecins vétérinaires, une grande résistance des Staphylocoques a été notée vis-à-vis de la pénicilline G (82 % des réponses). En effet, les souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à la pénicilline G à 95% (résistance plasmidique connue) (Cavallo *et al.*, 2004). De plus, les résultats de pfe nous ont permis de souligner cette résistance (87,10 % des isolats de *Staphylococcus* résistants à la pénicilline G) (Aouiche et Mohammadi, 2017). Plusieurs travaux antérieurs ont déjà affirmé cette résistance (résistance à 93,3%) (Djebib et Djebib, 2015).

Il existe un mécanisme de résistance aux β -lactamines y compris la méticilline (oxacilline) par modification de la cible d'antibiotique. Les souches de Staphylocoques restent cependant

assez sensibles à la méticilline (Cavallo *et al.*, 2004). En effet, selon les réponses des professionnels de la santé animale, la méticilline est parmi les antibiotiques suggérés considérés comme les plus efficaces.

Il est aussi à noter l'existence d'une résistance aux aminosides, macrolides et lincosamides par production d'enzymes qui inactivent les antibiotiques (résistance plasmidique) (Cavallo *et al.*, 2004).

CONCLUSION

Conclusion et recommandations

A partir des 100 bactéries isolées lors de notre travail de P.F.E., 39 ont été identifiés comme des staphylocoques. Cinq d'entre eux n'ayant pas été identifiés ont subi dans le présent travail une étude taxonomique basée sur des tests biochimiques et physiologiques réalisés par galerie classique. Cette identification a permis de rapprocher les cinq staphylocoques de leurs espèces, à savoir *S. xylosus* (02 isolats) et *S. aureus* (03 isolats).

Sur les 39 staphylocoques, nous avons donc obtenu 21 *S. aureus*, 13 *S. xylosus*, 02 *S. chromogenes*, 02 *S. simulans* et 01 *S. lentus*.

Les données obtenues lors des travaux du PFE et du présent travail (espèces bactériennes, espèce, sexe et âge de l'animal, maladie, fréquence de prise d'antibiotiques) nous ont permis par la suite de mener une étude statistique afin de déterminer les facteurs influençant l'antibiorésistance chez les staphylocoques. Cette étude statistique a été complétée par une enquête sur terrain auprès des médecins vétérinaires qui a confirmé les résultats de notre partie expérimentale.

Les résultats nous ont permis de conclure d'une part que parmi tous les facteurs étudiés seule la fréquence de la prise d'antibiotique influence significativement l'évolution de l'antibiorésistance et d'autre part que les pratiques utilisées par les professionnels de la santé animale et humaine en terme de prescription antibiotique sont impliquées dans le maintien et l'aggravation de cette situation. En vu de cette situation, plusieurs recommandations ont été établies :

- Il est nécessaire que toute prescription antibiotique soit effectuée après test de sensibilité aux antibiotiques par antibiogramme.
- Il est également important d'éviter les prescriptions antibiotiques à titre préventif afin de réduire la pression de sélection et donc du phénomène de l'antibiorésistance.
- Il est aussi essentiel que les professionnels de la santé animale et humaine sensibilisent les patients afin d'éviter l'automédication et la consommation anarchique et abusive des antibiotiques.

Références Bibliographiques

Liste des références

Abayomi S. Plante médicinale et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala. 2010. 378 P.

Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Dossier thématique « Antibiotiques » accessible à l'URL : [http://ansm.sante.fr/Dossiers/Antibiotiques/Bien-utiliser-les-antibiotiques/\(offset\)/0](http://ansm.sante.fr/Dossiers/Antibiotiques/Bien-utiliser-les-antibiotiques/(offset)/0). 2017.

Aggoune-Khinache N., Bensersa D., Henniche F.Z., Daoudi M., Abdouni MA., Chabani A., Tiouit. Algeria. *Med. Mal. Infect.*, 39, pp 413-414.

ALLAKER R.P., LLOYD D.H. ET BAILEY R.M.: Population sizes and frequency of staphylococci at mucocutaneous sites on healthy dogs. *The Veterinary Record*. 1992. pp. 303-304.

Aouiche N et Mohammedi F. La détection des bactéries multirésistantes au niveau du laboratoire de l'ENSV. 2017.

Asselineau J. et Zalta P. Les antibiotiques, Structure et exemples de mode d'action. Paris. Hermann Ed.1973.

Bannoehr I., Franco.A, Iurescia, Battisti A., Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus*. *Journal of clinical Microbiology* 47. 2009.

Barrial K., Scotet J., Classification raisonnée des betalactamases chez les bacilles gram négatif, 2005.

Ben youssef et Belguith et Hadiji, 2016 (ECOLE NATIONALE DE MEDECINE VETERINAIRE SIDI THABET Année 2016-2017/ Introduction à l'Enseignement de Toxicologie/ PHARMACIE & TOXICOLOGIE Pr Agrégé Samir BEN YOUSSEF Dr Jamel BELGUITH Dr Rim Hadiji

Berdy J. Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiotics* 58, 2005. pp 1–26.

Berdy J., Aaszalos A. and Mc Nitt K.L. CRC Handbook of antibiotic compounds. Vol. XIII. Microbial metabolites. part 1,2,3. Florida, USA. CRC Press, Boca Raton. 1987.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG (Eds). Vol 4: Taxonomic Outline of the Procaryotes. 2ème édition, Springer-Verlag, New York. 401 p. Bergey's Manual, 2004.

Bergogne-Berezé E. et Dellamonica P. Antibiothérapie en pratique clinique, 2° Ed. Elsevier-masson. 1999. p. 14.

Bes M., Guérin-Faubleé V., Freney J. Et Etienne J.: Isolation of *Staphylococcus schleiferi* subspecies *coagulans* from two cases of canine pyoderma. The Veterinary Record, 150, pp. 487-488. 2002.

Betalactamines, Elsevier, 2004. Pp. 130-180.

BOOST M.V., O'donoghue M.M. et James A. () : Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners. Epidemiology and Infection, 136. pp. 953-964. 2008.

Bouaziz O. Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'est Algérien. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 2005. 212 P.

Bourdeau P., Le Point Vétérinaire. Numéro spécial "Biologie Clinique". 1994.

Brun y. Et bes m. (2000) : *Staphylococcus*. In : FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W. ET Bollet C. (EDS.). Précis de Bactériologie Clinique, ESKA, pp. 783-830.

Cattoir V. Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie. Biologie*, 52, pp 607–616. 2004

Cavallo J.D. Betalactamines,. Elsevier, pp 130-180. 2004.

Christian Brun-Buisson. Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. 2016. 20P.

Djebib S. et djebib A., Etude de la sensibilité et la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques, 2014-2015.

Dand Naim M. Metallo-beta-lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* in Demerc, Journal Omaha Midwest society. 1948. P24. 2008.

Denis F. Avril JL, Dabernat H, Monteil H Bactériologie clinique, 3ème édition, Ellipses-Marketing. 602 p. 2000.

Durand-Parenti C.- NDM-1, cette bactérie multirésistante que redoutent les scientifiques. 2010.

Fauchere J.L. et Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Editions Ellipses, p : 105- 111.

François Denis et Olivier Barraud, Bactériologie médicale ; techniques usuelles, Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, 2011.

François Pebret, Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. 2003.

Frank MG, Barreiros RM, Biendenkapp JC, Rudy JW. mRNA up régulation of MHC II and pivotal pro-inflammatory genes in normal brain aging. 2006.

Griffith, hétérocyclique, Editeur: EDP sciences.1928. pp, 85-90.

Konte, M., Vassiliades, G., & Leforban, Y. Prélèvements biologiques pour analyses au laboratoire. 1990.

Lamari L. Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat d'Etat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. 2006.

Lamari L., Zitouni A., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Lebrihi A., Lefebvre G., Seguin E. and Tillequin F. (2002).- New dithiolopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233-I. Taxonomy, production, isolation and biological properties. *J. Antibiotics*, 55: 696-701.

Lamari, L., Zitouni A., Dob T., Sabaou N., Lebrihi A., Germain P., Seguin E. and Tillequin F. (2002b).- New dithiolopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. II. Physicochemical properties and structure elucidation. *J. Antibiotics*, 55, 702-707.

LEONARD F.C. ET MARKEY B.K. (2008) : Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review. *Veterinary Journal* (London, England : 1997), 175, pp. 27-36.

Loeffler A 1 , Linek M , Moodley A , Guardabassi L , Sung JM , Winkler M , Weiss R , Lloyd DH .2007. *Revue Veterinary Dermatology*
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=17991158&ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum

LOEFFLER A., LINEK M., MOODLEY A., GUARDABASSI L., SUNG J.M.L., WINKLER M., WEISS R. ET LLOYD D.H. (2007) : First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Veterinary Dermatology*, 18, pp. 412-421..

MAY E.R., HNILICA K.A., FRANK L.A., JONES R.D. ET BEMIS D.A. (2005) : Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from healthy dogs and dogs with otitis, pyoderma, or both. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227, pp. 928-931.

Messai Y., Iabadene H., Benhassine T., Alouache S., Tazir M., Guatier V., Arlet G., Bakour R. (2008).- Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie*, 56, 319-325. Milcent R. (2003).- Chimie organique.

PENNA B., VARGES R., MARTINS R., MARTINS G. ET LILENBAUM W. (2010) : In vitro antimicrobial resistance of staphylococci isolated from canine urinary tract infection. *The Canadian Veterinary Journal. la Revue Veterinaire Canadienne*, 184, pp. 738-742.

Prescott LM., Harley J.P., Klein D.A., Bacq-Calberg C.M. and Dusart J., (2002). *Microbiologie*. De Boeck University. 1147p.

Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J. ET LEONARD F.C., 2001 : *Staphylococcus* species. In.: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, Blackwell Science, pp. 43-48.

Santé publique France. Morbidité et mortalité des infections à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques en France en 2012. Étude Burden BMR, rapport - Juin 2015. Saint-Maurice : Santé publique France - Institut de veille sanitaire ; 2015. 21 p. Accessible à l'URL : <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2015/Morbidite-et-mortalite-des-infections-a-bacteries-multi-resistantes-aux-antibiotiques-en-France-en-2012>.

Schwarz, S., and E. Chaslus-Dancla. 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance.

Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamzaoui SA. [Frequency and antibiotic susceptibility of bacteria identified in urine]. *Med Mal Infect*. juin 2008;38(6):324-7. Smith et Erwin, 2007.

Source internet: www.viamed.fr/node/1247. European centre for disease prevention and control (ECDC)/European Food Safety Authority/European medicines agency. Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report. Accessible à l'URL : http://ecdc.europa.eu/en/publications/_layouts/forms/Publication_DispForm.aspx?List=4f55ad51-4aed-4d32-b960-af70113dbb90&ID=1249

Touati A., Caractérisation des phénotypes de résistance acquis aux β -lactamines des souches d'entérobactéries isolées dans les hôpitaux de Béjaia. Doctorat soutenu à l'Université A. Mira de Béjaia. 2006.

Yala D., Merad A.S., Mohammedi D. and Ouar Korich M.N. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91, 5-12. 2001.

Annexes

Annexe 01. Méthode de prélèvements

Prélèvement auriculaire	Prélèvement à partir d'abcès	Prélèvement à partir de plaie infectée	Prélèvement à partir d'organes
Le pavillon de l'oreille doit être fermement tenu vertical. L'écouvillon stérile est ensuite doucement introduit dans l'oreille jusqu'à atteindre le canal horizontal. Le tympan ne doit pas être touché. L'écouvillon est alors délicatement roulé sur la paroi interne du canal afin de prélever de l'exsudat puis il est retiré (Bourdeau P, 1994).	Le prélèvement est effectué au niveau de la membrane pyogène de l'abcès pour pouvoir prélever un maximum de bactéries. Si l'abcès est bien délimité, une ponction d'abcès est nécessaire (Vigot, 1921).	Ce <i>prélèvement</i> permet d'identifier le ou les germes responsables de l'<i>infection</i> locale et le choix de l'antibiothérapie adaptée. Pour cela, il suffit de nettoyer avec la solution antiseptique le pourtour de la plaie afin d'éliminer la flore commensale et de prélever ensuite les sécrétions les plus douteuses avec une seringue stérile ou un écouvillon (François Pebret, 2003).	Ce type de prélèvement permet le diagnostic des maladies microbiennes par isolement à partir d'organes lésés (poumon, foie, rein, rate, ganglion, cœur...). Il est effectué immédiatement après la mort de l'animal d'une manière stérile. Il est recommandé de ne jamais attendre au-delà de 6 heures après la mort si ce n'est pas le cadavre d'un petit animal conservé au froid (Konte <i>et al.</i>, 1990). Après chaque prélèvement, il est primordial d'identifier l'échantillon en notant les informations relatives au patient sur l'écouvillon, de remplir la fiche de demande d'examen en précisant exactement le lieu et le type du prélèvement (si c'est une plaie : postopératoire, traumatique, escarre, ulcère, mal perforant plantaire, fistule. L'oreille droite ou gauche pour le prélèvement auriculaire...). Il faut acheminer ensuite le prélèvement au laboratoire accompagné de la feuille de demande d'examen, dans un délai très bref. (François Pebret, 2003)

Résumé

Trente neuf isolats bactériens appartenant au genre *Staphylococcus* ont fait l'objet d'une étude taxonomique et statistique dans le but de déterminer les facteurs influençant l'évolution de l'antibiorésistance.

L'étude taxonomique a porté sur cinq isolats de staphylocoques, basée sur des tests biochimiques et physiologiques par galerie classique. Les résultats ont permis de les rapprocher de l'espèce *Staphylococcus aureus* (03 isolats) et de *S. xylosus* (02 isolats).

L'étude des facteurs influençant l'évolution de l'antibiorésistance a été faite par étude statistique basée sur le test de conformité de χ^2 complétée par une enquête sur terrain auprès des médecins vétérinaires. Les résultats ont montré que parmi tous les facteurs étudiés, seule la fréquence de prise d'antibiotique influence significativement l'évolution de l'antibiorésistance.

Abstract

Thirty nine bacterial isolates belonging to the genus *Staphylococcus* were the subject of a taxonomic study. A statistical study was conducted to determine the factors influencing the evolution of antimicrobial resistance.

The taxonomic study focused on five staphylococcal isolates, based on classical biochemical and physiological tests. The results brought bacterial isolates closer to *Staphylococcus aureus* (03 isolates) and *S. xylosus* (02 isolates).

The study of the factors influencing the evolution of antimicrobial resistance was made by a statistical study based on the χ^2 conformity test complemented by a field survey of veterinary doctors. The results showed that among all the factors studied, only the frequency of antibiotic intake significantly influences the evolution of antimicrobial resistance.

ملخص

تم دراسة 39 عزلة بكتيرية تنتمي إلى جنس *Staphylococcus* في دراسة تصنيفية وإحصائية لتحديد العوامل المؤثرة على تطور مقاومة مضادات الميكروبات (antibiorésistance).

ركزت الدراسة التصنيفية على خمس عزلات من *Staphylococcus*، على أساس الاختبارات البيوكيميائية والفسولوجية - الطريقة الكلاسيكية (Galerie classique). النتائج قربتهم من *Staphylococcus aureus* (03 عزلة) و *S. xylosus* (02 عزلة).

تم دراسة العوامل المؤثرة في تطور مقاومة مضادات الميكروبات من خلال دراسة إحصائية تعتمد على اختبار χ^2 مكمل بتحقيق ميداني قرب الأطباء البيطريين. أظهرت النتائج أنه من بين جميع العوامل التي تمت دراستها، فإن كثرة تناول المضادات الحيوية يؤثر بشكل كبير على تطور مقاومة مضادات الميكروبات.