

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



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

# Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master  
en  
Médecine vétérinaire

## THEME

**Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches  
de *S. aureus* isolées depuis des produits de pêche**

Présenté par :

M<sup>r</sup> DERRADJI Ilyes  
M<sup>r</sup> CHILALI Hichem

Soutenu publiquement, le 24 Novembre 2020

Devant le jury :

Mme MIMOUNE Nora	Maître de conférences A (ENSV)	Présidente
Mme SAHRAOUI Lynda	Maître de conférences B (ENSV)	Examineur
Mme HACHEMI Amina	Maître de conférences B (ENSV)	Promotrice

2019-2020

## *Remerciements*

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le Tout Puissant et Miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrante Mme Hachemi Amina pour l'orientation, la confiance et surtout sa patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'elle trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Nous tenons également à remercier tous le personnel du laboratoire d'HIDAOA pour leurs aides.

Un remerciement spécial aux membres de jury, Mme Mimoune et Mme Sahraoui, pour le temps et la patience qu'ils ont consacrés à examiner notre document ainsi que Pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de faire partie de ce jury.

En fin à tout personne qui à participer de loin ou de près à l'élaboration de ce projet.

## Dédicaces

Je dédie ce modeste travail ;

A mes chers parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance pour leurs sacrifices et leurs précieux conseils. Et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mes frères *Allaa Eddine, Chahine* et mes sœurs *Djihad et Rania*, pour l'amour, l'attention et l'aide qu'ils m'ont apportés.

A tous les membres de ma famille, petits et grands.

A mon binôme Hichem CHILALI pour son dévouement et son aide.

A mes amis, ma deuxième famille, vous occupez une place particulière dans mon cœur, je vous souhaite que du bonheur et du succès dans votre vie.

*A la mémoire de mon ami ASSIL BELALTA*

ILYES

Je dédie ce modeste travail à tous qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma vie. A ceux qui ont toujours voulu que je sois là où je suis aujourd'hui : A mes chers parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de L'amour dont ils ne cessent de me combler. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance pour leurs sacrifices et leurs précieux conseils. Et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A Mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, à mon frère unique. Que dieu le protège

A tous les membres de ma famille, petits et grands.

A mon binôme Ilyes DERRADJI pour son dévouement et son aide.

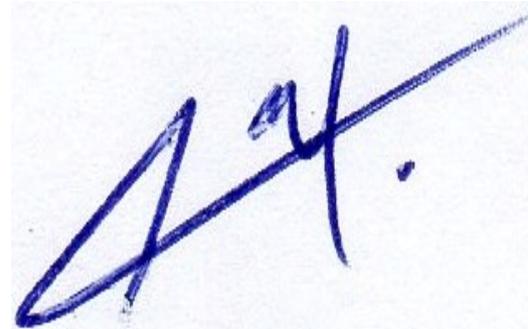
A mes amis, ma deuxième famille, vous occupez une place particulière dans mon cœur, je vous souhaite que du bonheur et du succès dans votre vie.

*HICHEM*

## Déclaration sur l'honneur

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

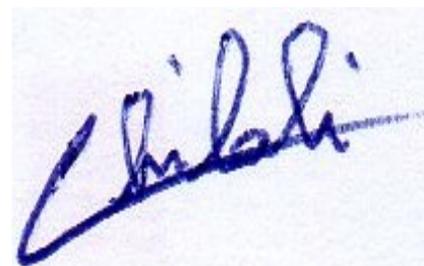
Signature

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized 'D' followed by 'Ilyes' and a period.

## Déclaration sur l'honneur

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

Signature

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Chilali', is written on a white background. The signature is cursive and includes a horizontal line at the end.

## **Résumé :**

La recrudescence de la multi-résistance aux agents antimicrobiens constitue un problème majeur de santé publique.

La *S.aureus* une bactérie connue par sa multirésistantes

Sur la lumière de cette problématique, on a réalisé ce travail qui a pour objet d'évaluer la sensibilité de 37 souches de *S. aureus* isolées depuis des poissons collectés depuis deux ports (Bouharoune et la pêcherie d'Alger)

Au cours de notre étude nous avons marqué une résistance absolue aux Bêta-lactamines ainsi que l'existence d'une résistance envers le chloramphénicol ce qui signifie son utilisation bien qu'elle soit interdite.

Dans notre étude, on a pu isoler 31 profils différents d'antibiorésistance, Quinze (15) profils ont été trouvés dans les échantillons commercialisés dans la région d'Alger avec un taux de 49% et Seize (16) profils de résistance à Tipaza (51%).

Au finale, nous tenons à souligner le danger possible d'une transmission de souches antibiorésistantes depuis l'homme et l'animal terrestre à l'environnement marin surtout face aux traitements anarchiques par les antibiotiques.

## **Mots clés :**

*Staphylococcus aureus*, résistance aux antibiotiques, antibiogramme, poissons, antibiotiques

## **Abstract**

The resurgence of multi-resistance to antimicrobial agents is a major public health problem. The *S.aureus*, a bacterium known for its multi-resistant In light of this problem, we carried out this work, which aims to assess the sensitivity of 37 strains of *S. aureus* isolated from fish collected from two ports (Bouharoune and La Algiers fishery).

During our study, we noted an absolute resistance to beta-lactams as well as the existence of resistance to chloramphenicol, which means its use despite being prohibited.

In our study, we were able to isolate 31 different antimicrobial resistance profiles, Fifteen (15) profiles were found in the samples marketed in the Algiers region with a rate of 49% and Sixteen (16) resistance profiles to Tipaza (51%).

Finally, we would like to stress the possible danger of transmission of antibiotic resistant strains from humans and terrestrial animals to the marine environment especially when faced with anarchic treatment with antibiotics.

## **Keywords:**

*Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance, antibiotic susceptibility test, fish, antibiotics

## الملخص:

إن عودة ظهور المقاومة المتعددة للعوامل المضادة للميكروبات يمثل مشكلة صحية عامة كبرى.

المكورات العنقودية الذهبية هي بكتيريا معروفة بمقاومتها للأدوية المتعددة.

في ضوء هذه القضية، قمنا بتنفيذ هذا العمل الذي يهدف إلى تقييم حساسية 37 سلالة من هذه المكورات معزولة من الأسماك التي تم جمعها من مينائين (بوهارون و الجزائر)

خلال دراستنا لاحظنا وجود مقاومة مطلقة للبيتا لاكتام وكذلك وجود مقاومة للكلورامفينيكول مما يعني استخدامه على الرغم من حظره.

في دراستنا، تمكنا من عزل 31 ملفاً مختلفاً لمقاومة مضادات الميكروبات، وتم العثور على خمسة عشر (15) ملفاً شخصياً في العينات التي تم تسويقها في منطقة الجزائر بمعدل 49٪ وستة عشر (16) ملفاً للمقاومة لتيبيازة (51٪).

أخيراً، نود التأكيد على الخطر المحتمل لانتقال سلالات مقاومة للمضادات الحيوية من البشر والحيوانات الأرضية إلى البيئة البحرية، خاصة في مواجهة العلاج الفوضوي بالمضادات الحيوية.

## الكلمات المفتاحية

مقاومة المضادات الحيوية، مضاد حيوي، سمك، مضادات حيوية، مكورات عنقودية.

# TABLE DES MATIERES

Remerciements et Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Liste des abréviations

Résumé

Introduction .....1

## PARTIE I : Etude bibliographique

Chapitre I. Les antibiotiques .....3

I. Définition des antibiotiques : ..... 3

II. Historique : ..... 3

III. L'usage des antibiotiques en médecine vétérinaires : ..... 4

III.1. L'usage curatif : ..... 4

III.2. L'usage métaphylactique : ..... 4

III.3. L'usage prophylactique : ..... 4

III.4. Facteurs de croissance : ..... 6

IV. Critères de classification des antibiotiques : ..... 6

IV.1. L'origine : ..... 6

IV.2. structure chimique : ..... 6

IV.3. Le Spectre d'activité : ..... 7

IV.4. Mode d'action : ..... 7

IV.5. Modalités d'action : ..... 7

IV.5.1. Bactéricides : ..... 7

IV.5.2. Bactériostatiques : ..... 8

V. Familles des antibiotiques les plus utilisées : ..... 8

V.1. Bêta-lactamines : ..... 8

V.1.1. Sous famille : « pénicillines » ..... 8

V.1.2. Sous famille : « céphalosporines » ..... 9

V.2. Aminosides : ..... 9

V.3. Polypeptides : ..... 9

V.3.1. Polymyxines : ..... 9

V.3.2. Antibiotiques polypeptidiques non tensio-actifs : ..... 9

V.4. Macrolides : ..... 9

V.5. Phenicoles : .....	10
V.5. cyclines : .....	10
V.6. Quinolones : .....	10
V.7. Sulfamides : .....	10
V.8. Diaminopyrimidines : .....	11
VI. Mécanisme d'action des antibiotiques : .....	11
VI.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne : .....	11
IV.2. Inhibiteur de la synthèse de l'acide tétrahydrofolique : .....	11
IV.3. Inhibiteur de la fonction de l'ADN : .....	12
VII. Phénomène d'antibiorésistance : .....	12
VII.1. Définition : .....	12
VII.2. Modes d'émergence de la résistance bactérienne : .....	12
VII.2.1. Résistance naturelle : .....	12
VII.2.2. Résistance acquise : .....	13
VII.3. Méthode de mesure de la résistance bactérienne : .....	13
VII.4. Voies de transmission et évolution de la résistance bactérienne : .....	15
VII.4.1. La transmission verticale : .....	15
VII.4.2. La transmission horizontale : .....	15
VII.4.3. Transmission Animal-Homme : .....	15
VII.4.4. L'évolution des résistances : .....	19
VIII.les mécanismes de la résistance bactérienne : .....	20
VIII.1. Mécanismes génétiques de la résistance : .....	20
VIII.1.1. Résistance chromosomique : .....	20
VIII.1.2. Résistance extra-chromosomique : .....	21
VIII.2. Mécanismes biochimiques de la résistance : .....	21
VIII.2.1. Modification de la cible : .....	21
VIII.2.2. Modification de la perméabilité : .....	22
VIII.2.3. Action des pompes d'efflux : .....	22
IX. La résistance des staphylocoques : .....	23
<b>Chapitre II. Les méthodes de diagnostique d'antibiorésistance des souches bactériennes</b>	<b>24</b>
<b>I. METHODES PHENOTYPIQUES : .....</b>	<b>24</b>
<b>I.1 L'antibiogramme : .....</b>	<b>24</b>
<b>I.1.1 Bactériostase et bactéricidie : .....</b>	<b>24</b>
<b>A. Bactériostase et Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) : .....</b>	<b>24</b>
<b>B. Bactéricidie et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) : .....</b>	<b>27</b>
<b>I.1.2 L'antibiogramme standard : .....</b>	<b>27</b>

---

A.	Conditions techniques :	28
B.	Lecture interprétative :	32
C.	Compte rendu ou rapport d'analyse :	33
D.	Avenir de l'antibiogramme :	34
II.	METHODES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE :	35
II.1	Introduction :	35
II.2	Amplification génique par polymérase chain réaction (PCR) :	35
II.2.1	Exemple : Détection génotypique des résistances chez <i>Staphylococcus aureus</i> :	37
II.3	Hybridation sur puces :	38
II.4	Séquençage partiel ou total des gènes :	39
II.5	La confrontation génotypique et phénotypique : une adaptation nécessaire à l'interprétation des résultats :	39
Chapitre III.	Caractères généraux des staphylocoques	41
I.	Définition des staphylocoques :	41
II.	Position taxinomique et classification :	42
III.	Généralités sur le " <i>Staphylococcus aureus</i> " :	42
III.1.	Historique :	43
III.2.	Habitat :	43
III.3.	Caractères bactériologiques :	44
III.3.1.	Caractère morphologiques :	44
III.3.2.	Caractères cultureux :	45
III.3.3.	Caractères biochimiques :	46
III.3.4.	Caractères utiles pour l'identification du genre de <i>Staphylococcus</i> :	47
IV.	Pouvoir pathogène de <i>S. aureus</i> :	47
IV.1.	Facteurs de virulence :	48
IV.1.1.	Génétique des <i>S. aureus</i> :	48
IV.1.1.1.	Génome :	48
IV.1.1.2.	Support génétique de la virulence :	49
IV.1.2.	Composants de la surface :	50
IV.1.2.1.	Exopolysaccharides capsulaires :	50
IV.1.2.2.	Acides teichoïques (polysaccharides A) :	50
IV.1.2.3.	Peptidoglycane :	51
IV.1.3.	Facteurs d'adhésion et d'invasion :	51
IV.1.3.1.	Protéines A :	51
IV.1.3.2.	Protéines de liaison au collagène ou Collagen adhésin (Cna) :	51
IV.1.3.3.	Protéines de liaison au fibrinogène ou Clumping factor (ClfA et ClfB) :	51

IV.1.3.4. Protéines de liaison au fibronectine A et B ou fibronectin-binding proteins (Fnbp A et Fnbp B) :	52
IV.1.4. Les substances élaborées par le <i>S. aureus</i> :	52
IV.1.4.1. Enzymes :	53
A. La coagulase libre :	53
B. La staphylokinase ou fibrinolysine :	53
C. Fatty acid modifying enzyme (FAME) :	54
D. Catalase :	54
E. Hyaluronidase :	54
F. Protéase :	54
G. Désoxyribonucléase thermostable :	55
H. $\beta$ -lactamases :	55
I. Lipases :	55
J. Phosphatases :	56
IV.1.4.2. Toxines :	56
A. Hémolysines ou staphylolysines :	56
B. La leucocidine de Panton Valentine (PVL) :	56
C. Les toxines pyrogènes :	57
D. Les superantigènes :	57
V. Formation de biofilm :	59
V.1. Rôle du Biofilm in vivo :	59
VI. Résistances aux antibiotiques :	60
VI.1. Origine de l'antibiorésistance :	61
VI.2. Mécanismes de l'antibiorésistance :	61
VI.2.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines :	62
VI.2.2. Résistance aux tétracyclines :	62
VI.2.3. Résistance à la mupirocine :	62
VI.2.4. Résistance aux aminosides :	62
VI.2.5. Résistance aux fluoroquinolones :	62
VI.2.6. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) :	63
VI.2.7. Résistance aux sulfamides et la triméthoprime :	63
VI.2.8. Résistance aux glycopeptides :	63

## PARTIE II : Etude expérimentale

I .MATERIELS ET METHODES :	64
I.1. Durée de l'étude :	64
I.2. lieu de l'étude :	64

---

<b>I.3. Matériel de laboratoire :</b> .....	65
<b>I.3.1. Les milieux de culture : (Annexe 1)</b> .....	65
<b>I.3.2. L'échantillonnage :</b> .....	65
<b>I.3.2.1. Nature des échantillons :</b> .....	65
<b>I.3.2.2.Sites de prélèvement (ou description de la région d'étude) :</b> .....	65
<b>I.4. Préparation de l'échantillon :</b> .....	66
<b>I.4.1 : Reviver les souches :</b> .....	66
<b>I.4.2 : Purification des souches :</b> .....	67
<b>I.5. L'antibiogramme :</b> .....	67
<b>I.5.1. Antibiotiques testés :</b> .....	67
<b>I.5.2. technique :</b> .....	68
<b>I.5.3. Application des disques d'antibiotiques :</b> .....	68
<b>I.5.4. Lecture des résultats :</b> .....	69
<b>II. RESULTATS :</b> .....	72
<b>II.1. Sensibilité de quelques souches de S. aureus isolées des poissons aux antibiotiques par région :</b> 72	
<b>II.1.1. Sensibilité de quelques souches de S. aureus isolées des poissons Commercialisés à la région de Bouharoune :</b> .....	72
<b>II.1.2. Sensibilité de quelques souches de S. aureus isolées des poissons Commercialisés à la région d'Alger centre (la pêche) :</b> .....	73
<b>III. DISCUSSION :</b> .....	75
<b>Conclusion</b> .....	79

**Références**

**Les annexes**

---

# *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01 :</b>	Milieus requis pour antibiogramme de diffusion sur gélose.	<b>29</b>
<b>Tableau 02 :</b>	Critères de catégorisation de la sensibilité de <i>Staphylococcus</i> spp selon les valeurs critiques des CMI et des diamètres de zones d'inhibition de l'EUCAST 2017.	<b>30</b>
<b>Tableau 03 :</b>	Classification du <i>Staphylococcus aureus</i> (Yves and Michel 2009)	<b>42</b>
<b>Tableau 04 :</b>	La répartition des échantillons par site de prélèvement.	<b>66</b>
<b>Tableau 05 :</b>	L'interprétation des résultats pour chaque antibiotique selon l'Addendum 2014 (Réseau Algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques).	<b>70</b>
<b>Tableau 06 :</b>	les profils de résistance rencontrés dans notre étude (souches d'Alger centre)	<b>74</b>
<b>Tableau 07 :</b>	les profils de résistance rencontrés dans notre étude (souches de Bouharoune).	<b>75</b>

# Liste des figures

<b>Figure 01 :</b>	Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide :(En haut) : macro-méthode en tubes (En bas) : micro-méthode en plaque de micro titration (jaune : croissance +, rouge : absence de croissance).	<b>25</b>
<b>Figure 02 :</b>	Détermination de la CMI par dilution en milieu solide	<b>26</b>
<b>Figure 03 :</b>	Différentes étapes et cycles de la technique PCR	<b>36</b>
<b>Figure 04 :</b>	Micrographie électronique à balayage colorisée de <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline sur la surface d'un pansement de plaie. Grossissement x 18,501.	<b>45</b>
<b>Figure 05 :</b>	Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i>	<b>48</b>
<b>Figure 06 :</b>	Étapes de formation du biofilm	<b>59</b>
<b>Figure 07 :</b>	Histogramme de sensibilité/ résistance aux antibiotiques des souches de <i>S. aureus</i> isolées des poissons Commercialisés à la région de Bouharoune.	<b>72</b>
<b>Figure 08 :</b>	Histogramme de sensibilité/ résistance aux antibiotiques des souches de <i>S. aureus</i> isolées des poissons Commercialisés à la région d'Alger centre (la pêche).	<b>74</b>

## *Liste des photos*

- Photo 01 :* le laboratoire d'HIDAOA à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger. **64**
- Photo 02 :* Technique d'antibiogramme (Photo personnelle 2020). **69**
- Photo 03 :* Résultat de l'antibiogramme (zones d'inhibition) (Photo personnelle 2020). **69**

# *Liste des annexes*

<i>Annexe 01 :</i>	Milieux de culture	<b>65</b>
<i>Annexe 02 :</i>	Antibiotiques testés sur les souches de S.aureus	<b>67</b>
<i>Annexe 03 :</i>	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour S. aureus ATCC 25923	<b>68</b>

# *Liste des abréviations*

°C : Degré Celsius

**ADH** : Arginine-dehydrolase

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**Agr**: accessory gene regulator

**ARGs**: Antibiotic Resistance Genes

**ARN**: Acide ribonucléique

**ATB** : antibiotique

**bêta-PFTs** : beta-barrel pore-forming toxins

**BLSE** : Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu

**C3G** : céphalosporine de troisième génération

**CAMP** : **C**ollection of **A**nti-**M**icrobial **P**eptides

**CARD** : base de données complète sur la résistance aux antibiotiques

**CASFM** : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CifA**: clumping factors A

**CifB**: clumping factors B

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**Cna** : Collagen adhésin

**COA** : coagulase

**DHF** : dihydrofolate réductase

**Fab** : fragment antigen binding

**FAME**: fatty acid modifying enzyme

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**Fc $\gamma$**  : fragment constant  $\gamma$

**Fnbp:** fibronectin-binding proteins

**G+C:** Guanine+ Cytosine

**geh:** Glycerol ester hydrolase

**GISA :** Glycopeptide-Intermediate S.aureus

**H :** heure

**HGT :** Transfert horizontal de gènes de résistance aux antibiotiques

**HLA :** Système de l'Human Leukocyte Antigen

**IgG :** immunoglobulines de classe G

**IgM :** immunoglobulines de classe M

**IL-1 :** interleukine 1

**IMG :** la base de données intégrée sur le génome microbien

**KDa:** kilo Dalton

**lip:** Triacylglycerol lipase

**LPXTG:** Leucine-Proline-any-Threonine-Glycine

**LT4:** lymphocytes T CD4+

**MGRAST:** Metagenomics Rapid Annotation using Subsystem Technology

**OIE :** Organisation mondiale de la santé animale

**OMS :** Organisation mondiale de la santé

**PAB :** acide para-aminobenzoïque

**Pb :** paire de base

**PCR :** Polymerase Chain Reaction.

**PTSAs :** Pyrogenic Toxin Superantigen

**PVL :** leucocidine de Panton Valentine

***S. hyicus:*** *Staphylococcus hyicus*

***S. intermedius:*** *Staphylococcus intermedius*

***S. aureus :*** *Staphylococcus aureus*

**SARM:** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

**SCN** : Staphylocoques à coagulase négative

**SCP** : Staphylocoques à coagulase positive

**SERAMs** : Secretable Expended Repertoire Adhesive Molecules

**SFC** : Sepsis Flow Chip

**TCR** : T cell receptor

**THF** : acide tétrahydrofolique

**TNF alpha** : Tumor Necrosis Factor

**TSST-1** : Toxic Shock Syndrome Toxin -1

**VISA** : Vancomycine-Intermediate S.aureus

**VRSA** : vancomycine resistance S.aureus

**VW** : von Willebrand

**WTAs** : acides teichoïques mur

**β-lactamines**: bêta-lactamines

## Introduction

La sécurité alimentaire est toujours menacée par de nombreux agents pathogènes responsables d'une variété de maladies. (BELENEVA, 2011). Les intoxications alimentaires sont considérées comme l'une des principales causes de toutes les maladies d'origine alimentaire. Elles ont un impact majeur sur la santé publique dans le monde entier.

À ce jour, 250 différentes maladies d'origine alimentaire sont décrites et les bactéries sont les agents responsables de deux tiers des épidémies de ces maladies (Bhatia et Zahoor, 2007). Parmi les bactéries prédominantes impliquées dans ces maladies, *Staphylococcus aureus*, reconnu dans le monde entier comme un important agent pathogène polyvalent à l'homme et l'animal, provoquant ainsi une grande variété de maladies, allant de la sévérité de l'intoxication alimentaire (MCCORMICK et al., 2001; LE LOIR et al., 2003), le syndrome du choc toxique, à des infections moins graves, comme les furoncles (LOWY, 1998).

En dépit de sa pathogénicité, *S. aureus* est également hébergé dans les narines de 20-30% de personnes en bonne santé, alors qu'environ 60% de la population héberge le micro-organisme par intermittence (KLUYTSMAN et al., 1997) et est présent de même sur la peau et les muqueuses des animaux producteurs de denrées alimentaires (JABLONSKY ET BOHACH, 1997).

La virulence de cet agent pathogène dépend de plusieurs facteurs parmi eux, la résistance aux antibiotiques, qui constitue une menace majeure pour la santé publique de part le monde, en raison de la circulation de souches résistantes dans l'environnement et la possible contamination de l'eau et de la nourriture (DE BOER et al., 2009).

L'utilisation répandue d'antibiotiques a accentué l'émergence de souches multirésistantes, ce qui rend plus difficile son éradication. La multi-résistance de *S. aureus* est assez commune dans les milieux hospitaliers et les fermes (LIVERMORE, 2000; SAKOULAS ET MOELLERING, 2008), où elle fut détectée chez les animaux (Lee, 2003) et les aliments comme la viande (NORMANNO et al, 2007; PESAVENTO et al, 2007), le lait et ses produits (GUNDOGAN et al, 2006 ; PELES et al, 2007; PEREIRA et al, 2009) ainsi que les produits de la pêche (BELENEVA, 2011).

Pour ces nombreuses raisons, de nos jours cette bactérie fait l'objet d'une étude pointilleuse dans des domaines multidisciplinaires tels : la biologie moléculaire, biologie cellulaire, phylogénie, génétique évolutive, etc.

L'objectif de notre travail était justement d'étudier le profil de résistance des de *S. aureus* déjà isolées et identifiées dans différents échantillons de poissons et ce vis-à-vis de certaines familles d'antibiotiques.

Ainsi, notre travail s'étale sur trois chapitres :

- ✚ Le premier couvre de façon assez large les connaissances relatives aux antibiotiques.
- ✚ Le deuxième repose sur une étude approfondie sur les *staphylococcus aureus*.
- ✚ Le troisième est la partie expérimentale, qui représente l'étude bactériologique.
- ✚ Et finir par des recommandations suivies par une conclusion générale.

---

## Chapitre I. Les antibiotiques.

### I. Définition des antibiotiques :

L'antibiotique : **anti** : du préfixe anti- indiquant l'hostilité, l'opposition ou la défense (contre) ; **bio, biotique** : du grec bios [bio], vie. (**DICTIONNAIRE MEDICALE, 2012**).

Les antibiotiques sont des agents strictement antibactériens dont la toxicité sélective, résulte d'un mode d'action spécifique. Ils exercent un effet relativement lent (de l'ordre de l'heure) mais à faible concentration (de l'ordre de mg/L). Leur forte efficacité permet une utilisation in vivo par voie générale (**BOSGIRAUD, 2003**). Les antibiotiques ont une origine naturelle s'ils sont extraits d'organismes vivants. Ils peuvent aussi être obtenus par synthèse chimique totale ou partielle. Chaque antibiotique possède un mode d'action spécifique et une cible bien déterminée. En fonction de leur concentration et du temps de contact avec les bactéries, ils peuvent être bactéricides ou bactériostatiques (**ROBERT, 2000**).

### II. Historique :

Alors même que la notion d'agent infectieux était inconnue, certains peuples tels que les Chinois ou les Egyptiens utilisaient déjà des préparations à base de moisissures du genre *Penicillium* pour traiter certaines infections de la peau.

Ce n'est qu'au cours du 18<sup>ème</sup> siècle que l'invention du microscope permet de mettre en évidence le développement des bactéries et, de ce fait, de mettre en doute la théorie de la maladie comme phénomène spontané (**CHATELLET, 2007**).

La première pierre à l'édifice de la lutte antimicrobienne est apportée en 1877 par Pasteur et Joubert qui montrèrent que l'injection, à un animal, de bactéries responsables de la maladie du charbon, *Bacillus anthracis*, en même temps que des bactéries communes, ces dernières empêchaient les premières de se développer. Cette découverte fait naître la notion d'antibiose par opposition à celle de symbiose. C'est en 1928 que Fleming permet d'élucider cette notion en contaminant involontairement des cultures de staphylocoques par des souches de *Penicillium notatum* (**PHILIPPON, 2010**).

La difficulté à isoler et purifier la substance chimique – ici, la pénicilline – complique l'avancée des recherches de Fleming. Ce n'est que 10 ans plus tard que ses travaux sont récupérés par Florey et Chain permettant ainsi l'isolement d'un sel sodique de pénicilline. La réalisation de tests sur diverses espèces animales afin de vérifier l'innocuité du traitement, permet l'investissement d'un industriel Américain, Pfizer, et la production à grande échelle de la pénicilline dès 1943 (**CHATELLET, 2007 ; PHILIPPON, 2010**).

Parallèlement, de nombreuses autres recherches sont réalisées pour trouver d'autres substances antimicrobiennes provenant de champignons ou de micro-organismes.

Au bilan, les antibiotiques peuvent aujourd'hui être d'origine naturelle, semi-synthétique ou produits totalement par génie chimique. Les antibiotiques actuellement utilisés en médecine vétérinaire sont généralement issus de bactéries actinomycétales du genre *Streptomyces*, de bacilles ou de champignons (**CHATELLET, 2007**).

### **III. L'usage des antibiotiques en médecine vétérinaires :**

En médecine vétérinaire, il existe quatre usages possibles des antibiotiques, chacun ayant un objectif précis (**Schwarz, S., and E. Chaslus-Dancla. 2001**).

#### **III.1. L'usage curatif :**

L'usage curatif ou thérapeutique, consiste à traiter individuellement les animaux qui présentent des signes cliniques d'infection, c'est-à-dire à traiter une infection bactérienne existante. L'objectif majeur est d'obtenir la guérison de ces animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. En général le traitement est individuel et il est mis en œuvre chez les animaux domestiques, et les grands animaux de rentes (vaches laitières, ...). Le plus souvent, le traitement antibiotique est donné par voie orale ou par voie parentérale.

Dans le cas d'une antibiothérapie de type curative, à l'initiation du traitement, il est généralement admis que la charge bactérienne est importante (**KONIG et al, 1998**) étant donné que les animaux ont déjà développé des symptômes cliniques.

#### **III.2. L'usage métaphylactique :**

Les traitements individuels sont souvent impossibles pour les grands élevages d'animaux tels que les bandes de porcs, de volailles ou de veaux.

Lorsqu'une infection contagieuse se déclare chez quelques animaux dans un élevage à grand effectif, l'ensemble du groupe (la case pour les porcelets, le lot, ...) est traité, c'est ce qu'on appelle la métaphylaxie ou prévention en milieu infecté. Cet usage permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en phase d'incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes. La métaphylaxie est généralement mise en œuvre à partir d'un seuil d'atteinte des animaux au sein du lot de 10-15% de l'effectif.

Une antibiothérapie précoce sur la totalité des animaux du groupe (lot, parquet, ...) peut permettre de réduire le nombre d'animaux malades et/ou la mortalité et peut diminuer la quantité d'antibiotique qui aurait été nécessaire pour traiter un grand nombre d'animaux malades présentant des signes cliniques d'infection.

Généralement, les traitements métaphylactiques se font par administration dans l'eau de boisson ou dans l'aliment. Ce type d'administration comporte certains risques tels que : une non homogénéité de la préparation antibiotique-nourriture, une incompatibilité de la substance avec les composés de la nourriture ou une insolubilité dans l'eau de boisson. De plus, une prise insuffisante de l'antibiotique, résultant de la diminution de la prise alimentaire et hydrique due au syndrome fébrile, ou à la modification du goût de l'aliment ou de la boisson peut conduire à une mauvaise exposition des animaux car la dose individuelle n'est pas contrôlée.

Lors d'une antibiothérapie de type métaphylactique, les animaux traités ne sont probablement porteurs que d'une **faible charge bactérienne** étant donné qu'ils ont peu ou pas encore développé de signes cliniques d'infection. Pour les traitements métaphylactiques, le germe impliqué est connu *a priori* ainsi que ce que sera le devenir de la pathologie si rien n'est fait.

### **III.3. L'usage prophylactique :**

Les antibiothérapies prophylactiques sont mises en place lors de situations critiques C'est-à-dire lors de présence d'un facteur de risque très souvent associées au développement d'infections. Il s'agit notamment de périodes associées à un stress comme lors de transports, de regroupement d'animaux provenant d'élevages divers ou du sevrage, mais aussi lors de traitements chirurgicaux.

Elles peuvent être appliquées de façon individuelle ou sur un groupe d'animaux. Les animaux traités ne présentent alors aucun signe clinique d'infection mais la connaissance a priori des infections se développant dans ces situations permet de choisir une classe d'antibiotique adaptée à la prévention des infections dues aux bactéries les plus fréquemment rencontrées.

La principale différence entre la métaphylaxie et la prophylaxie est que lors d'une prophylaxie il n'y a pas encore de germe impliqué mais seulement un facteur de risque.

### **III.4. Facteurs de croissance :**

Les antibiotiques peuvent être utilisés dans l'aliment au titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance et les performances des animaux, sans que les mécanismes à l'origine de l'amélioration de ces performances aient été clairement élucidés (**DIBNER et al ; 2005**). Cet usage fait l'objet de nombreuses critiques et il est totalement interdit au sein de l'union Européenne depuis 2006 (**SOULSBY, 2007**).

## **IV. Critères de classification des antibiotiques :**

On classe les antibiotiques car le nombre de molécules est élevé, pour faciliter le choix thérapeutique, on les classe selon :

### **IV.1. L'origine :**

Les antibiotiques peuvent être obtenus de sources divers, (**MOULIN & COQUEREL, 1998**), jusqu'à la fin de siècle dernière, les antibiotiques utilisés pour le traitement des infections étaient des produits naturels (**LULLANN & MOHR, 2003**) c'est-à-dire des substances extraites d'organismes vivant, supposant aux bactéries ; elles sont donc initialement d'origine extractive à partir de cultures de micro-organismes tels que les moisissures et les bactéries (**MOULIN & COQUEREL, 1998**), il peut être fabriqué par héli synthèse. Il s'agit de la constitution d'une molécule d'antibiotique par modification chimique d'une molécule de base, afin d'améliorer les capacités pharmacologique ou physique de celle-ci (**STORA, 2010**), et la plupart des médicaments antibactériens actuellement commercialisés sont d'origine synthétique obtenus, par la synthèse totale.

### **IV.2. structure chimique :**

Très variable, souvent une structure de base comme le cycle  $\beta$ -lactame (famille des Bêta-lactamines) sur laquelle il y a héli-synthèse. Elle donne souvent le nom à la famille (**GOGNY et al , 2001**).

### **IV.3. Le Spectre d'activité :**

Le spectre d'activité d'un antibiotique est la collection des micro-organismes dont les infections associées peuvent être traitées d'une manière efficace au dosage habituel. Il est différent pour chaque famille d'antibiotiques, bien qu'il puisse se recouper, en partie ou en totalité, avec celui d'autres antibiotiques, c'est-à-dire que les mêmes germes peuvent être sensibles à plusieurs antibiotiques à la fois.

Selon (**CHEYMOL et al, 1999**), un antibiotique peut avoir un spectre d'activité large ou étroit. Les antibiotiques à large spectre peuvent agir sur un grand nombre de bactéries différentes, à gram+ et à gram-, alors que ceux à spectre étroit n'agiront que sur les bactéries à gram+ ou à gram-.

Pour déterminer l'activité d'un antibiotique il faut déterminer sa Concentration Minimale Inhibitrice ou CMI en interprétant un antibiogramme. Cette méthode consiste à mettre en culture une souche bactérienne (en milieu gélosé ou liquide) en présence d'antibiotiques dont la concentration varie dans le milieu. Pour de faibles teneurs en antibiotique, la croissance bactérienne reste normale tandis qu'elle est inhibée pour des concentrations plus élevées. La CMI est alors la plus petite concentration permettant de visualiser l'inhibition de cette croissance bactérienne.

### **IV.4. Mode d'action :**

L'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certains êtres pluricellulaires. Donc sur la paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines ou sur la synthèse des acides nucléiques (**PHILIPPON , 2010**).

### **IV.5. Modalités d'action :**

On distingue deux types d'antibiotiques : les bactéricides, qui tuent les bactéries, et les bactériostatiques, qui empêchent les bactéries de se multiplier (**ANTIBIOTIQUE.EU, 2014**).

#### **IV.5.1. Bactéricides :**

Certains antibiotiques provoquent, à partir d'un seuil, l'apparition d'une mortalité bactérienne. On appelle cela la bactéricidie.

#### IV.5.2. Bactériostatiques :

La bactériostase correspond au ralentissement de la croissance de la bactérie pouvant aller jusqu'à l'arrêt de sa croissance.

L'activité antibactérienne est caractérisée *in vitro* par :

- la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) : concentration minimale d'antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible après 18 à 24 heures d'incubation à 35°C.
- la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) : concentration minimale d'antibiotique qui élimine 99,9% des bactéries d'un inoculum standardisé à 10<sup>5</sup>- 10<sup>6</sup> bactéries/mL.
- Le rapport CMB/CMI permet de caractériser le type d'activité d'un antibiotique donné :
- CMB/CMI ≤ 2 : antibiotique bactéricide.
- CMB/CMI 4 à 16 : antibiotique bactériostatique.
- CMB/CMI > 16 : bactérie dite « tolérante » à l'antibiotique.

### V. Familles des antibiotiques les plus utilisées :

#### V.1. Bêta-lactamines :

Les bêtalactamines constituent la famille d'antibiotique la plus importante, aussi bien par leur indication en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes (**CARAVALLO et al, 2004**), Ce sont des antibiotiques bactéricides, actifs par voie orale (à l'exception de la Benzylpénicilline ou Pénicilline G), de distribution extracellulaire, caractérisés par une forte élimination urinaire (**PUYT, 2006**).

##### V.1.1. Sous famille : « pénicillines »

Ce sont les antibiotiques les plus anciens. Les pénicillines se divisent en plusieurs catégories en fonction de leur spectre d'activité : les pénicillines de type G sont actives sur une moins grande variété de germes que les pénicillines de type A (amoxicilline, ampicilline) et M (methicilline, oxacilline).

- ✓ Spectre : étroit (gram positif).
- ✓ Pharmacocinétique : Sa résorption parentérale est complète. Sa distribution est extracellulaire et à élimination rénale.

### **V.1.2. Sous famille : « céphalosporines »**

Ce sont des antibiotiques proches des pénicillines (elles ont un mécanisme d'action semblable).

Elles sont divisées en trois groupes dits de 1ère, 2ème ou 3ème génération.

- ✓ Spectre : Large pour les 1ères générations et étroit (gram positif) pour les 2ème et 3ème générations.
- ✓ Pharmacocinétique : Résorption est tissulaire, distribution extracellulaire et son élimination est rénale.

### **V.2. Aminosides :**

Ces antibiotiques sont actifs sur les bactéries gram positif, notamment les staphylocoques. Ils ne passent pratiquement pas à travers la paroi de l'intestin et sont donc administrés par voie injectable la plus connu est la Streptomycine qui est extraits des souches de Streptomyces (moisissures) (PUYE et al. 2006).

- ✓ Spectre : Etroit sauf pour la Gentamycine.
- ✓ Pharmacocinétique : Résorption parentérale, distribution extracellulaire, élimination rénale.

### **V.3. Polypeptides :**

#### **V.3.1. Polymyxines :**

Antibiotiques bactéricides à spectre étroit dirigé contre les bactéries à Gram négatif, non résorbés par voie digestive, à distribution extracellulaire et élimination urinaire : Colistine (Polymyxine E) et Polymyxine B (usage local exclusivement) (YALA et al, 2001).

#### **V.3.2. Antibiotiques polypeptidiques non tensio-actifs :**

Antibiotiques bactériostatiques à spectre étroit dirigé contre les bactéries à Gram positif, non résorbés par voie digestive : Bacitracine (additif également sous forme de sel de zinc), Tyrothricine et Thiostrepton (antibiotique polypeptidique soufré) (YALA et al, 2001).

### **V.4. Macrolides :**

Ce sont des antibiotiques capables d'arrêter la croissance des bactéries en les empêchant de synthétiser leurs protéines. Ils sont aussi efficaces sur de nombreuses espèces bactériennes, notamment les entérocoques, les Gonocoques, et quelques bacilles à gram positif.

- ✓ Spectre : Etroit gram négatif.
- ✓ Pharmacocinétique : Résorption tissulaire, métabolisme hépatique, élimination biliaire.

### **V.5. Phenicoles :**

Ce sont des antibiotiques qui agissent sur l'inhibition de la synthèse des protéines. Mais il existe des résistances élevées dans le monde, ils sont interdits en usage interne, de même qu'en usage vétérinaire.

- ✓ Spectre : Large.
- ✓ Pharmacocinétique : La résorption est orale et parentérale la distribution intra et extra cellulaire, l'élimination rénale et biliaire.

### **V.5. cyclines :**

Antibiotiques bactériostatiques, à spectre large, résorbés par voie digestive : Tétracycline, Chlortétracycline, Oxytétracycline, Doxycycline (**GOGNY, 2001**).

### **V.6. Quinolones :**

Ce sont des antibiotiques bactéricides synthétiques qui inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en empêchant sa réplication et transcription.

- ✓ Spectre : Etroit gram négatif.
- ✓ Pharmacocinétique : Résorption majoritairement digestive, diffusion intracellulaire
- ✓ Élimination : Biliaire et urinaire.

### **V.7. Sulfamides :**

Antibactériens dérivés de l'acide para-amino-benzoïque, bactériostatiques, à large spectre d'activité antibactérienne (bactéries à Gram positif et négatif), ainsi que parfois anticoccidienne, en majorité résorbés par voie digestive (**BOURIN et al, 1993**). On en distingue donc : des Sulfamides d'action générale, des Sulfamides d'action digestive et des Sulfamides coccidiostatiques.

## V.8. Diaminopyrimidines :

Antibactériens bactériostatiques à large spectre d'activité, possédant une synergie d'action (effet bactéricide) en association avec des Sulfamides, bien résorbés par voie orale et présentant une distribution intracellulaire : Triméthoprime et Baquiloprime (YALA et al, 2001).

## VI. Mécanisme d'action des antibiotiques :

L'action sélective des antibiotiques repose d'une part sur les structures cibles, qui n'existent pas dans les cellules humaines (paroi cellulaire, ADN gyrase...etc), et d'autre part sur les enzymes bactériennes qui sont plus sensibles que les enzymes analogues des cellules des mammifères (KAYSER et al, 2008).

Les antibiotiques ont plusieurs mécanismes d'action qui leur permettent d'être opératifs sur la gamme entière des bactéries (STORA, 2010).

### VI.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne :

Dans la plupart des cas, une paroi cellulaire entoure les bactéries comme une écorce rigide ; elle les protège des agressions extérieures et empêche une rupture de la membrane cellulaire sous l'influence d'une pression interne (osmotique) (LÜLLAMANN & MOHR, 2003). La paroi est constituée d'un ensemble de chaînes à des bases aminées sucrées, le N-acétylglucosamine et l'acide N-acetylmuramique qui sont reliées entre elles par des unités tétrapéptidiques. La fixation des tétrapéptidiques au niveau de la paroi est assurée par les enzymes la transpéptidases et la carboxypeptidase (PIERI & KIRKIACHARIAN, 1986).

Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi interviennent à la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane (CARBON, 1995) en inhibant les transpéptidases et empêchant les liaisons interpéptidiques. Il en résulte la formation de zones fragiles ayant comme conséquence la lyse de la bactérie (LÜLLAMANN & MOHR, 2003).

### IV.2. Inhibiteur de la synthèse de l'acide tétrahydrofolique :

L'acide tétrahydrofolique (THF) est un coenzyme d'une étape de synthèse des bases puriques et pyrimidiques. Celles-ci sont des éléments constitutifs de l'ADN et l'ARN. THF est synthétisé à partir de l'acide dihydrofolique sous l'action de l'enzyme dihydrofolate réductase (DHF).

Les antibiotiques inhibant la synthèse de l'acide tétrahydrofolique tels que les sulfamides, ont une structure qui ressemble à celle de l'acide para-aminobenzoïque (PAB) un élément de base dans la synthèse de DHF par les bactéries. Les antibiotiques en tant que faux substrats, bloquent de façon compétitive la transformation du PAB et inhibent la synthèse de DHF (**CALOP, LIMAT et al, 2008**).

#### **IV.3. Inhibiteur de la fonction de l'ADN :**

L'acide désoxyribonucléique (ADN) sert de matrice pour la synthèse des acides nucléiques. Les ARN gouvernent la synthèse de protéines et permettent ainsi la croissance cellulaire. Les antibiotiques inhibiteurs de la fonction de l'ADN empêchent la fermeture du brin d'ADN en agissant sur la gyrase, cette dernière est une enzyme responsable de la fermeture et l'ouverture du brin d'ADN (**LÜLLAMANN & MOHR, 2003**).

### **VII. Phénomène d'antibiorésistance :**

#### **VII.1. Définition :**

Pour un traitement, quel qu'il soit, son efficacité à soigner une pathologie est fortement menacée par l'apparition potentielle d'une résistance. Pour un antibiotique, c'est son efficacité à lutter contre un germe qui est concerné. En effet ce dernier peut développer une résistance vis-à-vis de l'antibiotique.

La résistance bactérienne est définie comme la capacité des bactéries à résister aux effets des antibiotiques ou des biocides censés les contrôler ou les tuer (**ANSM, 2012**).

Le phénomène d'antibio-résistance n'est pas nouveau, mais le nombre de micro-organismes résistants, et multi-résistants, ainsi que les localisations géographiques affectées ne cessent de croître dans des proportions inquiétantes, dans certains cas, le phénomène de résistance est réversible (**PERRIN, 2012**).

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise (**MUYLAERT et al, 2012**).

#### **VII.2. Modes d'émergence de la résistance bactérienne :**

##### **VII.2.1. Résistance naturelle :**

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques. On dit que cette résistance est innée ou naturelle. Leur patrimoine génétique leur permet de se défendre grâce à plusieurs techniques. La résistance peut être due à la structure de la bactérie (par exemple, les mycoplasmes par leur absence de paroi sont insensibles aux bêtalactamines) ou à l'impossibilité pour l'antibiotique de pénétrer dans la cellule (les bactéries gram négatives grâce à leur membrane externe sont insensibles à la vancomycine).

Ces résistances sont retrouvées dans l'ensemble des souches d'une même famille d'antibiotiques et représentent donc le spectre d'activité naturel des familles et sous-familles d'antibiotiques (SCOTT, 2009 ; GUERIN-FAUBLEE, 2010).

#### **VII.2.2. Résistance acquise : (cf. VII.4)**

Plus inquiétante, la résistance acquise entraîne la résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant. Cette résistance peut survenir *via* une mutation (directement sur le chromosome bactérien) ou plus fréquemment par acquisition de matériel génétique mobile (plasmide, transposon, intégron ...) permettant dans les deux cas de contourner l'effet délétère de l'antibiotique (SCOTT, 2009 ; GUERINFAUBLEE, 2010).

En général, les mutations permettent aux bactéries de se doter d'une résistance à un antibiotique ou une famille d'antibiotique, alors que, *via* un plasmide, elles peuvent acquérir simultanément une résistance pour plusieurs antibiotiques ou plusieurs familles d'antibiotiques.

#### **VII.3. Méthode de mesure de la résistance bactérienne :**

La cible pharmacologique d'un antibiotique est la bactérie pathogène. Pour qu'un antibiotique soit actif, il faut donc que cette dernière soit présente et accessible. L'effet de l'antibiotique est variable selon la concentration : ralentissement de la croissance bactérienne (effet sub-inhibiteur), inhibition de la croissance (effet bactériostatique) jusqu'à la mort de la bactérie (effet bactéricide). Plusieurs tests, statiques ou dynamiques, permettent d'étudier *in vitro* la pharmacodynamie des antibiotiques sur une population bactérienne (AFSSA, 2006).

Pour mesurer microbiologiquement la résistance d'une bactérie, la notion communément utilisée dans le monde scientifique est la concentration minimale inhibitrice (CMI). C'est un test statique. La CMI représente la première concentration en antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée. La mesure de la CMI est souvent accompagnée de la mesure de la concentration minimale bactéricide (CMB).

Elle correspond à la concentration permettant de réduire la population bactérienne d'un facteur 1000 (AFSSA, 2006 ; SCOTT, 2009 ; PERRIN, 2012). Les mesures des CMI et des CMB sont dépendantes des conditions de cultures de la bactérie. Les conditions de détermination de ces indicateurs ont donc été calibrées et standardisées (AFSSA, 2006).

Ensuite, des antibiogrammes peuvent être réalisés. Leur interprétation repose sur l'évaluation de la CMI en fonction du diamètre d'inhibition. Ces outils permettent de prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques en matière d'efficacité clinique. Ainsi, une souche pathogène peut être catégorisée cliniquement de sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles (AFSSA, 2006 ; PERRIN, 2012).

Les tests dynamiques déterminent l'évolution de la population bactérienne au cours du temps. Ils nécessitent la mise en place de techniques de dénombrement. L'indicateur le plus utilisé est l'aire sous la courbe (AUC) 1. Cette approche permet d'étudier la cinétique de bactéricide ou l'effet post-antibiotique. Ce dernier représente le temps de maintien de la suppression de la croissance bactérienne après avoir enlevé l'antibiotique du milieu (*in vitro*) ou après que les concentrations soient devenues inférieures à la CMI (*in vivo*) (AFSSA, 2006 ; PERRIN, 2012).

Depuis une vingtaine d'années, les experts ont développé une approche pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK/PD) pour décrire, prédire et comprendre les relations entre le déroulement d'un traitement et son efficacité clinique et bactériologique. Les principaux paramètres utilisés sont le maintien d'une concentration supérieure à la CMI, le rapport de la concentration maximale par rapport à la CMI, le rapport de l'AUC par la CMI et l'AUC supérieure à la CMI (AFSSA, 2006 ; BOUSQUET-MELOU et al., 2012).

Différents outils moléculaires sont actuellement utilisés pour la détection et la caractérisation des gènes et des mutations impliqués dans la résistance aux antibiotiques. Ces gènes de résistance aux antibiotiques sont situés soit sur des structures auto-répliquatives autonomes (de type plasmides), soit sur le chromosome. La méthode de choix, utilisée à la fois pour la détection des gènes de résistance et pour la mise en évidence de mutations, est la PCR (Polymérase Chain Réaction) (AFSSA, 2006).

## VII.4. Voies de transmission et évolution de la résistance bactérienne :

Une fois une résistance acquise, elle peut diffuser dans la population bactérienne. Différentes voies peuvent être mises en œuvre.

### VII.4.1. La transmission verticale :

La diffusion de résistances peut se faire par la voie verticale. En effet, le génome bactérien est soumis à des mutations chromosomiques. Ce phénomène est rare et spontané.

Dans le cas d'une mutation codant une résistance à un antibiotique, ce dernier joue le rôle de révélateur. Si cette mutation est viable, elle est transmise aux cellules filles lors de la reproduction bactérienne. La transmission de ce type de résistance est purement héréditaire et ne concerne généralement qu'un antibiotique à la fois. Par exemple, c'est une mutation de la protéine S 12 du ribosome qui confère à *Escherichia coli* sa résistance à la Streptomycine (**PERROT, 1998 ; AFSSA, 2006 ; SCOTT, 2009**). Une fois la résistance transmise, elle devient un avantage en présence d'antibiotique : les bactéries normales sont inhibées et les bactéries mutées se développent.

Néanmoins, cette résistance est réversible. En effet, les mutants sont généralement plus fragiles et moins pathogènes que les souches sauvages. Les experts parlent de « coût biologique » associé à l'acquisition de la résistance avec une perte de « fitness ». Ainsi, en l'absence d'antibiotiques ces populations de bactéries mutantes se reproduisent moins vite et disparaissent, avec une cinétique toutefois assez lente. Par exemple, pour l'*Escherichia coli* résistante à la Streptomycine évoquée ci-dessus, la mutation ribosomiale ralentit la synthèse des protéines, diminuant le taux de croissance de 15 à 20 % par génération (**PERROT, 1998 ; GIGUERE et al., 2007 ; COLLECTIF, 2008**).

Cette résistance représente 10 à 20 % de la résistance clinique rencontrée. Son apparition est indépendante de la présence ou non d'antibiotique. Néanmoins, elle est favorisée par un usage inadéquat des antibiotiques (**FERRON, 1994 ; COLLECTIF 2008**).

### VII.4.2. La transmission horizontale :

Les bactéries ont aussi la possibilité d'effectuer un transfert de résistance horizontal, y compris entre des espèces éloignées phylogéniquement.

Cette transmission peut donc se faire des bactéries pathogènes vers des bactéries commensales ou inversement. Ce type de transfert de résistance concerne souvent plusieurs familles d'antibiotiques simultanément (**DAVISON et al, 2000 ; COLLECTIF, 2008**). Pour illustrer nos propos, considérons l'exemple suivant : au Japon, en 1955, un malade atteint d'une dysenterie bacillaire à *Shigella flexneri* était traité avec des Tétracyclines. La bactérie isolée au début du traitement était sensible à tous les antibiotiques. A la fin du traitement, les médecins ont isolé chez ce patient une *Shigella* résistante à quatre familles d'antibiotiques différentes (Streptomycine, Tétracyclines, Chloramphénicol et Sulfamides). Sur ce malade, une *Escherichia coli* présentant les mêmes caractéristiques de résistance que la *Shigella* a aussi été trouvée (**MARTEL, 1996**).

Dans cette transmission, le transfert des gènes porteurs de résistance est rendu plus efficace après leur intégration sur des petits éléments mobiles : les plasmides. Ce sont des petites molécules d'ADN circulaires indépendantes du chromosome bactérien et autonomes.

Elles sont présentes dans le cytoplasme bactérien de manière facultative (**FERRON, 1994 ; AFSSA, 2006 ; COLLECTIF, 2008 ; SCOTT, 2009**).

Ce moyen de transmission des gènes de résistance est le plus inquiétant car il a un fort pouvoir de dissémination (**ANDREMONT, 2000**). Les plasmides peuvent être incorporés dans des éléments génétiques mobiles : les transposons et les intégrons. Les transposons sont des petites séquences d'ADN et peuvent se transposer, c'est-à-dire se déplacer d'un endroit à l'autre sur le brin d'ADN. Les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes sous forme de cassettes. Ces dernières sont des éléments mobiles capables d'être intégrés ou excisés par un mécanisme de recombinaison spécifique (**AFSSA, 2006 ; FERRON, 1994 ; COLLECTIF, 2008 ; SCOTT, 2009**).

Ensuite, ces éléments sont transférés d'une bactérie à l'autre selon trois voies. La transformation permet le passage d'ADN nu du donneur au receveur.

Dans la transduction, le transfert est assuré par un virus bactériophage qui utilise son équipement moléculaire spécialisé pour insérer de l'ADN bactérien dans les bactéries receveuses.

La conjugaison est la méthode de transmission la plus fréquente. Ce transfert nécessite un contact physique entre deux bactéries. Un pont cytoplasmique se met alors en place et les

bactéries peuvent échanger leur plasmide porteur de résistance (**FERRON, 1994 ; COLLECTIF, 2008**).

Comme pour la transmission verticale, un transfert horizontal peut entraîner des difficultés de croissance chez les bactéries modifiées. De plus, certains plasmides codent en même temps l'antibiorésistance et la pathogénicité des bactéries. Ainsi, outre la sélection des bactéries résistantes à l'usage d'antibiotique, des souches plus virulentes peuvent aussi être favorisées (**RICHARD *et al*, 1982 ; SMITH ET LEWIN, 1993**).

Une réversibilité est possible car les bactéries peuvent perdre spontanément leurs plasmides. De plus, le nombre de copies d'un plasmide pouvant exister dans chaque cellule bactérienne est soumis à une régulation bactérie-dépendante. Ce mécanisme permet un contrôle de la dissémination des résistances (**SMITH ET LEWIN, 1993**).

Cette voie de transmission est responsable de 80 à 90 % des résistances rencontrées chez les bactéries isolées en clinique (**FERRON, 1994**).

#### **VII.4.3. Transmission Animal-Homme :**

Les cas de transmission des résistances des animaux vers les hommes existent mais ils sont encore rares (**ANDREMONT, 2000 ; MADEC, 2012**).

Le premier mode de transmission, le plus fréquent, se fait via les denrées alimentaires. Prenons l'exemple le plus courant : à l'abattoir, des bactéries pathogènes issues du tube digestif des animaux viennent contaminer la viande. Cette transmission via l'alimentation est notamment responsable de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). De nombreuses publications portent sur la contamination des viandes par *Campylobacter* et *Salmonella* et leur rôle dans les TIAC. Ces études démontrent que ces bactéries ingérées par les hommes via l'alimentation peuvent transmettre leurs résistances via l'échange de plasmides (**TEUBER, 2001 ; MADEC, 2012**).

Pour illustrer nos propos, considérons l'exemple de la diffusion de la résistance de *Salmonella newport* au travers d'un cas clinique se déroulant dans les années 80 aux Etats-Unis (**MARTEL *et al*, 1982**). Plusieurs cas de salmonellose à *Salmonella newport* sont signalés. Certains patients nécessitent une hospitalisation et l'un d'eux décède. Les autorités déclenchent une étude épidémiologique approfondie qui met en évidence plusieurs points communs troublants.

La majorité de ces malades étaient concomitamment atteints d'une pathologie respiratoire banale (type pharyngite, bronchite) pour laquelle ils étaient traités avec de l'Amoxicilline (prise de l'antibiotique dans les 24 h ou 48 h avant le début de la salmonellose).

Tous les malades avaient consommé des hamburgers provenant de deux supermarchés. Ces supermarchés étaient notamment approvisionnés par un élevage où *Salmonella newport* avait été isolée sur les bovins et les membres de la famille de l'éleveur. D'ailleurs, cet élevage avait livré un lot d'animaux peu de temps avant la maladie. La viande des bovins avait servi à la fabrication de 18 tonnes d'hamburgers livrées dans les deux supermarchés.

Les salmonelles incriminées dans cet élevage et celles des malades étaient résistantes à l'Amoxicilline et la Tétracycline. Ces résistances étaient dues à la présence d'un même plasmide.

Les bovins de l'élevage recevaient de la Chlorotétracycline comme additif depuis 1982. Cet additif aurait sélectionné la souche résistante. Cette enquête met en évidence du transfert de salmonelles antibiorésistantes de l'animal à l'homme via les denrées alimentaires (**MARTEL *et al.*, 1982**).

Les contacts rapprochés entre animaux et hommes peuvent aussi être source de transmission de bactéries et donc de leurs résistances. Cette transmission doit être prise en compte mais elle représente un très faible flux de bactéries résistantes (**MADEC, 2012**).

Ce mode de transmission a été notamment démontré en 2004 dans une étude sur un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline (SARM). Le SARM mis en cause est le SARM CC398. Il est initialement isolé chez les animaux. Dans l'étude de 2004, ce clone a été identifié chez des éleveurs de porcs néerlandais. Depuis, le nombre de publications rapportant des cas d'infections humaines, parfois très sévères, n'a cessé de croître. Les souches appartenant à ce clone représentent aujourd'hui plus de 20 % des cas de SARM en pathologie humaine aux Pays-Bas et près de 30 % au Danemark. Ces chiffres témoignent de la capacité de ce clone à diffuser rapidement et largement dans la population humaine. De plus, la fréquence de portage est supérieure dans les populations professionnellement exposées : elle est 760 fois plus élevée chez les producteurs de porcs hollandais que dans la population hollandaise.

Néanmoins, la prévalence de ce clone est très différente selon le pays sans qu'une explication n'ait été trouvée. Par exemple, en France seulement 3 % des élevages de porcs sont positifs contre plus de 40 % pour l'Allemagne et l'Espagne (**HAENNI *et al.*, 2012**).

Les bactéries humaines et animales partageant les mêmes mécanismes de résistances, il est aussi possible d'imaginer une transmission des résistances de l'homme vers l'animal.

L'exemple décrit dans les publications est celui de mammites bovines résistantes à de nombreux antibiotiques. L'isolement de la souche a mis en évidence un SARM d'origine humaine dont l'éleveur était porteur (MADEC, 2012 ; HAENNI *et al.*, 2012).

En conclusion, la diffusion de bactéries résistantes aux antibiotiques de l'animal à l'homme est possible et de nombreux arguments attestent de sa réalité. Les bactéries qui inquiètent le plus les experts dans le cadre de la transmission de résistances animal-homme sont les bactéries zoonotiques (type *Campylobacter*, *Salmonella*) et les bactéries de la flore commensale (TOUTAIN, 2007 ; KESTEMAN, 2009). Néanmoins, cette voie de transmission des résistances ne représente qu'une très faible part de l'antibiorésistance humaine. En effet, le nombre de cas dans la littérature de résistances bactériennes humaines d'origine animale est bien inférieur à celui dû à la surconsommation ou à la mauvaise utilisation des antibiotiques en médecine humaine (TOUTAIN, 2007 ; KESTEMAN, 2009).

#### VII.4.4. L'évolution des résistances :

Le développement des résistances est progressif. En dehors du transfert génétique direct qui peut donner rapidement un haut niveau de résistance, le développement de la résistance passe par un remodellement des bactéries qui s'effectue de manière étalée dans le temps (NEELY ET HOLDER, 1999).

Une bactérie résistante à un antibiotique devient souvent résistante à plusieurs molécules. Deux phénomènes contribuent à la multi-résistance aux antibiotiques : la résistance croisée et la co-résistance. Les auteurs définissent la résistance croisée comme un phénomène par lequel une bactérie qui a développé une résistance à l'un des antibiotiques d'une classe devient aussi résistante aux autres membres de la même classe. Cela même si elle n'a jamais été exposée à ces molécules. C'est cette résistance croisée qui permet aux  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) présentes chez les bactéries à Gram négatif d'avoir une résistance si étendue ( $\beta$ - lactamines et Céphalosporines) à tel point qu'elles deviennent un véritable enjeu en santé humaine (NEELY ET HOLDER, 1999).

La co-résistance est liée au fait que les gènes de résistance à différentes classes d'antibiotiques sont souvent portés par le même plasmide. Par exemple, pour *Escherichia coli*, un seul plasmide régit la sensibilité aux Céphalosporines, Pénicillines, Chloramphénicol,

Tétracycline et Fluoroquinolones. Ainsi, l'acquisition d'une résistance à l'une de ces molécules, entraîne une résistance aux autres familles (**NEELY ET HOLDER, 1999 ; GIGUERE *et al.*, 2007**).

Cette multi-résistance plasmidique complique la thérapeutique. En effet, l'utilisation d'un antibiotique auquel la bactérie résiste va se traduire par une co-sélection de toutes les résistances portées par le même plasmide. Ce phénomène va pouvoir entraîner l'apparition de souches multi-résistantes (telles les BLSE évoquées ci-dessus). De plus, la diffusion des résistances peut se faire même en l'absence d'antibiotiques dans le milieu (**GUILLOT *et al.*, 1983 ; AFSSA, 2006**).

Comme nous l'avons déjà évoqué, le phénomène de résistance est réversible. Néanmoins, une fois la résistance apparue, il est difficile de s'en débarrasser car le pouvoir de diffusion est important. En effet, les gènes de résistance sont conservés et évoluent dans la population bactérienne leur permettant une adaptation rapide à un nouvel hôte. De plus, les mutations de ces gènes peuvent les conduire à devenir encore plus résistant (**NEELY ET HOLDER, 1999 ; PERRIN, 2012**).

Illustrons cette évolution perpétuelle des résistances : dans les années 60, les  $\beta$ -lactamases ne conféraient une résistance qu'à l'Ampicilline. Puis, une série de substitutions enzymatiques leur a permis de résister aux Céphalosporines. Pour contrer cette résistance des  $\beta$ -lactamases, les scientifiques ont ajouté un antibiotique inhibiteur de ces enzymes, l'acide clavulanique. Les bactéries ont alors développé une résistance à l'inhibiteur. De nos jours, il existe plus de 5 mutants différents de  $\beta$ -lactamases. Cela atteste la forte capacité d'évolution du mécanisme de résistance bactérienne (**NEELY ET HOLDER, 1999**).

## **VIII. les mécanismes de la résistance bactérienne :**

### **VIII.1. Mécanismes génétiques de la résistance :**

Une bactérie peut acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique. (**LOZNIEWSKI *et al.*, 2010**).

#### **VIII.1.1. Résistance chromosomique :**

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, dû au hasard et indépendant, Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques. Elle n'est pas provoquée par la présence de l'antibiotique, ce dernier révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes.

Elle est transmissible ; et permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles).

Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique. (LOZNIEWSKI *et al.*, 2010).

### **VIII.1.2. Résistance extra-chromosomique :**

Deux faits expliquent l'importance de la résistance plasmidique :

- ✓ la résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie.
- ✓ de nombreux plasmides de résistance sont conjugatifs ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal ; ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes. Les plasmides de résistance sont susceptibles d'évoluer par acquisition ou pertes successives de déterminants de résistance portés par des éléments génétiques transposables. Les éléments génétiques transposables permettent la dissémination de gènes entre des bactéries phylogéniquement éloignées. Comme pour la résistance chromosomique, les gènes de la résistance extra-chromosomique ne sont pas induits par l'utilisation des antibiotiques qui se contentent de sélectionner les bactéries résistantes. (LOZNIEWSKI *et al.*, 2010).

## **VIII.2. Mécanismes biochimiques de la résistance :**

### **VIII.2.1. Modification de la cible :**

Des modifications même minimales affectant la cible d'un antibiotique peuvent modifier et diminuer l'affinité des deux (cible-antibiotique) et entraîner une résistance. La résistance aux

$\beta$ -lactamines par altération des PLP a été décrite, mais ne semble pas être un mécanisme prédominant pour les entérobactéries ou d'autres espèces de bacilles Gram négatif comme *P.*

*aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii*. Ainsi, une résistance aux  $\beta$ -lactamines touchant essentiellement l'imipénème et le mércillinam a pu être décrite chez une souche de *Proteus mirabilis* productrice d'une PLP2 altérée (CAVALLO *et al.*, 2004).

La modification d'une des sous-unités de l'ADN gyrase (mutation des gènes *gyrA* et *gyrB*) provoque l'acquisition d'une résistance aux quinolones et aux fluoroquinolones. (DE LASTOUR ET FANTIN, 2010).

### VIII.2.2. Modification de la perméabilité :

Les changements de la membrane externe des bactéries à Gram négatif peuvent gêner la pénétration de l'antibiotique en l'empêchant d'atteindre sa cible. Ce type de résistance est généralement attribué à la perte ou à la modification des porines. Celui-ci est très répandu chez *Pseudomonas aeruginosa* (MAITI *et al.*, 2006).

La sensibilité aux  $\beta$ -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistance acquises aux  $\beta$ -lactamines, soit par une modification structurale d'une des porines essentielles, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente (Cavallo *et al.*, 2004)

La résistance acquise est d'autant plus forte vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines que la molécule est plus volumineuse, plus hydrophobe et chargée négativement (CAVALLO *et al.*, 2004).

### VIII.2.3. Action des pompes d'efflux :

Les pompes d'efflux sont des transporteurs actifs. Il existe 5 familles de pompes d'efflux classées selon deux critères : d'une part la source d'énergie nécessaire à leur fonctionnement (gradient électrochimique ou hydrolyse de l'ATP), d'autre part leur structure second-tertiaire.

Chez les bactéries à Gram négatif, les systèmes d'efflux sont souvent des complexes protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe. Les pompes les plus fréquemment rencontrées sont de type RND (Resistance-Nodulation cell Division) comme AcrB chez *E. coli*, MexB chez *Pseudomonas aeruginosa* et EmrE chez *E. coli*. Les protéines TetA, TetB, TetC, TetD et TetE sont très largement distribuées chez les *Enterobacteriaceae* et les *Pseudomonadaceae* (CATTOIR, 2004).

## IX. Exemple de la résistance des staphylocoques :

*S. aureus* a la capacité unique d'acquérir rapidement une résistance aux antibiotiques à pratiquement n'importe quelle molécule antimicrobienne qui a été développée. La HGT acquiert souvent de la résistance à partir d'autres espèces ou genres, bien que les mutations chromosomiques contribuent également à la résistance à certains antibiotiques. HGT permet l'acquisition de grappes de gènes préconstitués qui concourent à un trait de résistance (par exemple, le complexe *mec* ou le complexe *vanA* pour la résistance à la méthicilline ou à la vancomycine, respectivement), tandis que les mutations peuvent fournir une résistance à des antibiotiques nouveaux ou synthétiques qui n'ont pas d'analogues naturels et pour lesquels les déterminants de la résistance ne sont pas disponibles dans la nature (par exemple, pour le linézolide). LA-MRSA est généralement résistant à la tétracycline, l'antibiotique le plus couramment utilisé dans l'industrie agricole (**PANTOSTI 2012**).

Les lignées HA-MRSA ont tendance à être résistantes à une large gamme d'agents antibiotiques, y compris les clones émergents les plus récents sont résistants au spectre plus étroit des antibiotiques. ST22 (EMRSA-15) est généralement résistant aux fluoroquinolones et aux macrolides mais est sensible à la gentamycine (**JOHNSON et al. 2005 ; ELLINGTON et al. 2010**).

Aujourd'hui, il existe un certain nombre d'antibiotiques nouvellement développés qui présentent une bonne activité anti-SARM, tels que les lipoglycopeptides (dérivés de la vancomycine ou de la téicoplanine) tels que la telavancine et la dalbavancine, et de nouvelles céphalosporines antistaphylococciques telles que le ceftobiprole et la ceftaroline (**MORATA et al.2015**). Ces deux dernières molécules, comme tous les antibiotiques bêta-lactamines, sont des analogues de substrat des PBP apparaissant dans leur bloc, altèrent la synthèse de la paroi cellulaire et la mort cellulaire.

Cependant, contrairement aux autres bêta-lactamines, le ceftobiprole et la ceftaroline ont une affinité élevée pour le PBP2a, qui intervient dans la résistance à la méthicilline chez *S.aureus* (**DAVIES et al.2007 ; MOISAN et al.2010**).

---

## **Chapitre II. Les différentes méthodes de diagnostic de l'antibiorésistance des souches bactériennes**

### **I. METHODES PHENOTYPIQUES :**

#### **I.1 L'antibiogramme :**

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, et supposée être à l'origine d'un processus infectieux. Il s'agit d'une aide au choix du traitement d'une infection qui ne doit être réalisé qu'à bon escient, c'est-à-dire lorsqu'il existe une forte probabilité que la bactérie isolée soit impliquée dans le processus infectieux. Sa réalisation pour une bactérie non pathogène engage la responsabilité du biologiste car elle peut inciter le clinicien à un traitement inutile, voire dangereux pour le patient, et s'il est relativement aisé d'identifier les situations où l'antibiogramme est utile, voire obligatoire, il est parfois beaucoup plus délicat d'identifier celles où il est inutile. Enfin, le traitement d'une infection par un antibiotique décrété actif par un antibiogramme ne garantit pas le succès thérapeutique, alors qu'utiliser un antibiotique auquel la bactérie est résistante est synonyme d'échec (JEHL , CHABAUD , 2015).

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et à l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles (SEYDINA , 2016).

##### **I.1.1 Bactériostase et bactéricidie :**

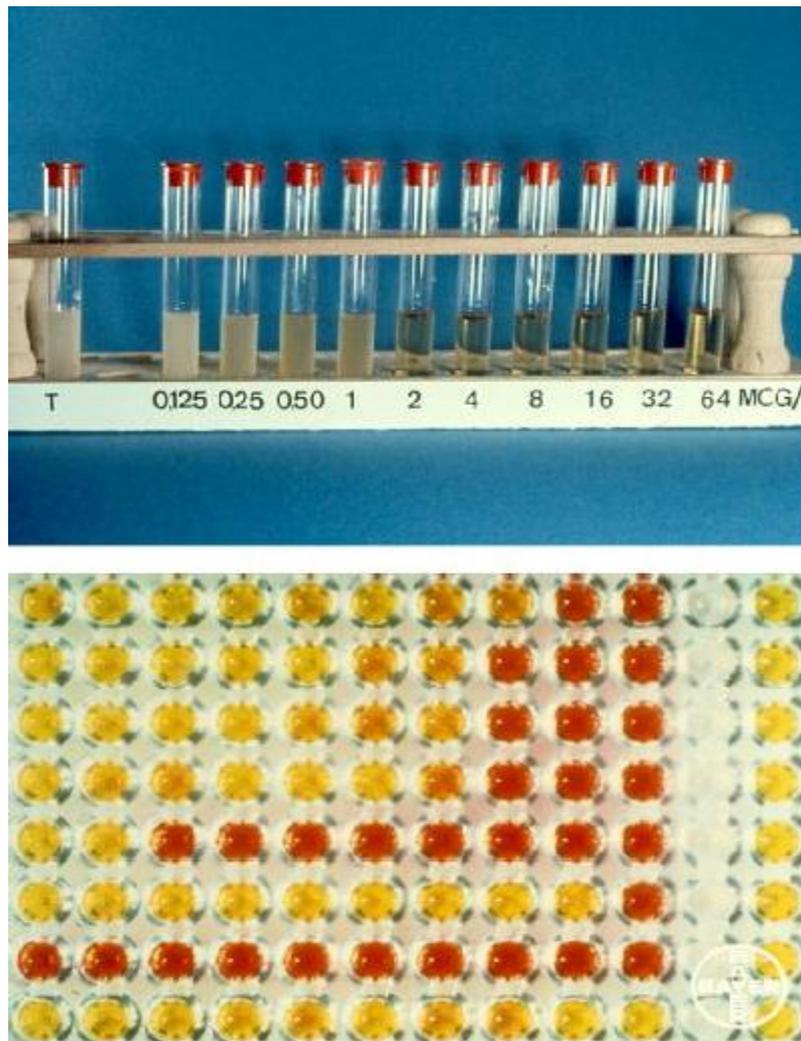
###### **A. Bactériostase et Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :**

Il existe de bonnes corrélations biologico-cliniques de l'emploi de la CMI, qui, après plusieurs dizaines d'années d'expérience s'avère être un bon prédicateur de l'efficacité de la thérapeutique antibiotique : Quand elle excède une certaine valeur l'échec thérapeutique est habituel : quand elle est inférieure à une valeur seuil, le succès est pratiquement assuré. Entre les deux valeurs précédentes, la prédiction est périlleuse (JEHL, CHABAUD, 2015).

Sa détermination fait appel aux méthodes de dilutions successives en milieu liquide ou solide.

- **En milieu liquide :**

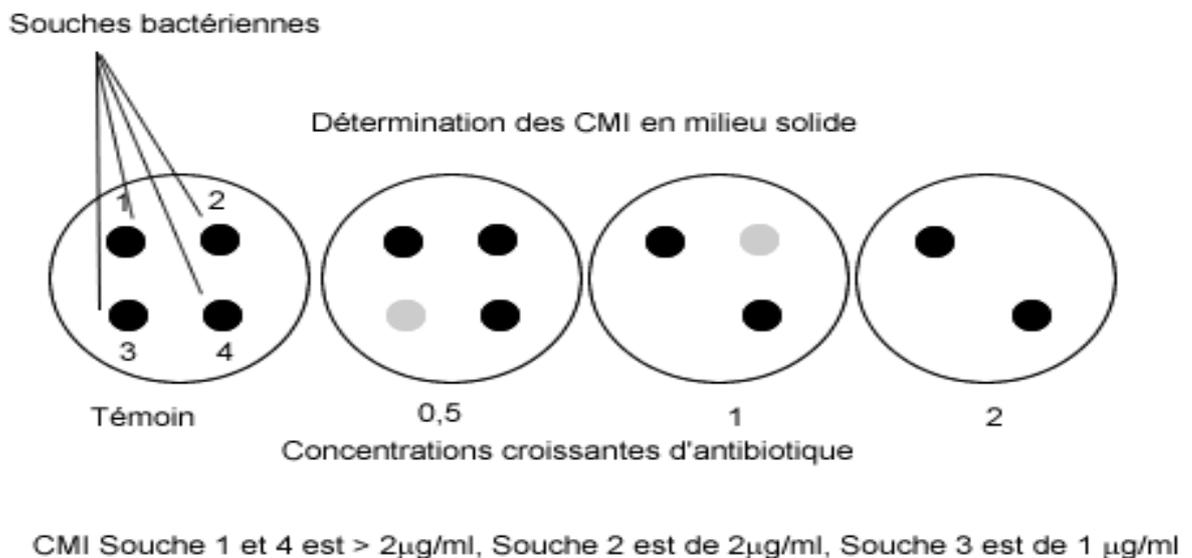
L'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes contenant l'antibiotique, après incubation la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique et où aucune croissance n'est visible. Cette méthode peut être réalisée en microplaque, donc automatisable (JEHL , CHABAUD , 2015).



**Figure 01:** Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide : (En haut) : macro-méthode en tubes (En bas) : micro-méthode en plaque de micro titration (jaune : croissance +, rouge : absence de croissance) (JEHL et al. ,2015).

- **En milieu solide :**

Des dilutions de l'antibiotique à tester sont incorporées dans un milieu gélosé coulé en boîtes de pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches dont on veut mesurer la CMI. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par la concentration d'antibiotique présente dans la première boîte dont la culture est stérile pour la souche donnée (JEHL, CHABAUD, 2015).



**Figure 02 :** Détermination de la CMI par dilution en milieu solide

(Web-source n° 1)

- **E-test = l'epsilomètre :**

Une technique rapide et simple qui permet de déterminer la CMI, grâce à des bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu d'ATB à tester. La bandelette est appliquée sur la surface d'un milieu gélosé (celui recommandé pour les antibiogrammes par diffusion) préalablementensemencé avec inoculum de la souche à étudier. Après 18 heures d'incubation, une ellipse d'inhibition symétrique centrée le long de la bandelette se forme.

La CMI correspond alors à la concentration d'ATB lisible au point où l'ellipse croise la bandelette (BURNICHON, TEXIER, 2003).

## **B. Bactéricidie et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) :**

La CMB est définie par la plus petite concentration d'antibiotique ne laissant subsister que 0,01% (1/104) ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique. Elle est toujours supérieure à la CMI.

Selon leur activité, les antibiotiques sont classés en bactériostatiques ou bactéricides : **(QUENTIN-NOURY, 2016)**.

✓ Antibiotiques bactériostatiques : CMB éloignée des CMI : le rapport CMB/CMI étant  $> 32$ . Exemple d'antibiotiques bactériostatiques : macrolides, tétracyclines, rifamycines, sulfamides.

✓ Antibiotiques bactéricides : CMB proches des CMI : CMB/CMI  $< 32$ . Les aminosides, les  $\beta$ -lactamines, les quinolones et les glycopeptides sont des antibiotiques bactéricides.

### **I.1.2 L'antibiogramme standard :**

L'antibiogramme est un test particulier en biologie clinique car il s'adresse à des êtres vivants infectieux. Il constitue l'outil de mesure de la résistance bactérienne. Sa pratique et son interprétation font appel à de nombreuses connaissances cliniques, pharmaceutiques, bactériologiques, biochimiques et génétiques.

L'antibiogramme est un test de prédiction, totalement artificiel, complexe, à interprétation obligatoire, à impact variable et dont le résultat intéresse plusieurs destinataires.

L'interprétation se fait aujourd'hui avec des systèmes experts qui suivent les recommandations de comités d'antibiogramme. Le choix des antibiotiques testés a beaucoup évolué en fonction des connaissances. L'impact médical est de plusieurs ordres : impact immédiat (traitement du malade concerné et alerte à la résistance), impact différé (traitements empiriques), collectif (surveillance de la résistance) et impact didactique **(MARCEL, 2005)**.

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic en raison de leurs avantages techniques et économiques.

Cette méthode porte le nom de technique de Kirby et Bauer. Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme (à 360°) selon les lois de Fick. La relation diamètre d'inhibition et concentration d'antibiotique sont mathématiquement corrélées, si bien qu'il existe une droite dégressive entre les logarithmes de base 2 des concentrations et les diamètres des zones d'inhibition (en mm) (**KULAH et al., 2009**).

À la limite des zones d'inhibition, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI. Les méthodes de diffusion ne permettent pas de chiffrer directement ces valeurs. Toutefois, si les droites de concordance (ou de régression) entre diamètres d'inhibition et log<sub>2</sub> CMI (établies par des laboratoires spécialisés travaillant dans des conditions standardisées) sont disponibles, elles permettront de déterminer la CMI de l'antibiotique considéré vis-à-vis de la souche testée (**JEHL, CHABAUD, 2015**).

#### **A. Conditions techniques :**

Suite aux recommandations du Comité d'Experts de Standardisation biologique de l'OMS (1979), la Société Française de Microbiologie a créé un Comité de l'Antibiogramme (CA-SFM) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques ; et proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Ainsi, les valeurs critiques définies pour les concentrations et les diamètres des zones d'inhibition, ainsi que les recommandations spécifiques à certaines espèces ou à certains groupes d'antibiotiques sont publiées dans un communiqué annuel par le CA-SFM (**JEHL et COLL , 2014**).

La réalisation de l'antibiogramme se fait par étapes :

- La préparation de l'inoculum bactérien.
- Ajustement de la turbidité (densité) de l'inoculum.
- Ensemencement et séchage des boîtes.
- Disposition des disques ATB.
- Incubation.

- Lecture et interprétation des antibiogrammes.

**Tableau 01 : Milieux requis pour antibiogramme de diffusion sur gélose (EUCAST, 2013).**

<b>Tableau 1</b>		<b>Milieux de détermination la sensibilité des bactéries aux antibiotiques</b>
<b>Organisme</b>	<b>Milieu</b>	
Entérobactéries	Gélose de Mueller-Hinton	
<i>Pseudomonas</i> spp.	Gélose de Mueller-Hinton	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gélose de Mueller-Hinton	
<i>Acinetobacter</i> spp.	Gélose de Mueller-Hinton	
<i>Staphylococcus</i> spp.	Gélose de Mueller-Hinton	
<i>Enterococcus</i> spp.	Gélose de Mueller-Hinton	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Gélose MH-F <sup>1</sup>	
Streptocoques des groupes A, B, C, G	Gélose MH-F <sup>1</sup>	
Streptocoques du groupe viridans	Gélose MH-F <sup>1</sup>	
<i>Haemophilus</i> spp.	Gélose MH-F <sup>1</sup>	
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Gélose MH-F <sup>1</sup>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Gélose MH-F <sup>1</sup>	
<i>Pasteurella multocida</i>	Gélose MH-F <sup>1</sup>	
<i>Campylobacter jejuni</i> et <i>C. coli</i>	Gélose MH-F <sup>1</sup> (voir Annexe A)	
Autres bactéries à croissance lente	Selon	

<sup>1</sup> MH + 5% sang de cheval défibriné mécaniquement + 20 mg/L β-NAD

**Tableau 02** : Critères de catégorisation de la sensibilité de *Staphylococcus spp* selon les valeurs Critiques des CMI et des diamètres de zones d'inhibition (EUCAST, 2017).

<i>Staphylococcus spp.</i>					
Fluoroquinolones <sup>1</sup>	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Ciprofloxacin <sup>2</sup> , <i>S. aureus</i>	1	1	5	21 <sup>A</sup>	21 <sup>A</sup>
Ciprofloxacin <sup>2</sup> , Coagulase-negative staphylococci	1	1	5	24 <sup>A</sup>	24 <sup>A</sup>
Levofloxacin, <i>S. aureus</i>	1	1	5	22 <sup>A</sup>	22 <sup>A</sup>
Levofloxacin, Coagulase-negative staphylococci	1	1	5	24 <sup>A</sup>	24 <sup>A</sup>
Moxifloxacin, <i>S. aureus</i>	0.25	0.25	5	25 <sup>A</sup>	25 <sup>A</sup>
Moxifloxacin, Coagulase-negative staphylococci	0.25	0.25	5	28 <sup>A</sup>	28 <sup>A</sup>
Nalidixic acid (screen)	NA	NA		NA	NA
Norfloxacin (screen)	NA	NA	10	17 <sup>B</sup>	Note <sup>B</sup>
Ofloxacin <sup>3</sup> , <i>S. aureus</i>	1	1	5	20 <sup>A</sup>	20 <sup>A</sup>
Ofloxacin <sup>3</sup> , Coagulase-negative staphylococci	1	1	5	24 <sup>A</sup>	24 <sup>A</sup>
Aminoglycosides <sup>1</sup>					
	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Amikacin <sup>2</sup> , <i>S. aureus</i>	8	16	30	18	16
Amikacin <sup>2</sup> , Coagulase-negative staphylococci	8	16	30	22	19
Gentamicin, <i>S. aureus</i>	1	1	10	18	18
Gentamicin, Coagulase-negative staphylococci	1	1	10	22	22
Netilmicin, <i>S. aureus</i>	1	1	10	18	18
Netilmicin, Coagulase-negative staphylococci	1	1	10	22	22
Tobramycin, <i>S. aureus</i>	1	1	10	18	18
Tobramycin, Coagulase-negative staphylococci	1	1	10	22	22

Aux regards des concentrations et des diamètres critiques sont considérées comme :

- **sensibles (S)**, les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un **diamètre supérieur ou égal au diamètre critique D**.

- **résistantes (R)**, les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute (C), correspondant à un **diamètre strictement inférieur au diamètre critique D**.

- **de sensibilité intermédiaire (I)**, les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et le diamètre correspondant sont compris **entre les deux concentrations critiques** et les deux diamètres critiques.

À chaque antibiotique est associée une liste d'espèces bactériennes qui constitue le "spectre d'activité" de la molécule. Le spectre naturel, établi dans les premières études avant tout emploi en thérapeutique, reste stable par définition puisqu'il ne prend pas en compte la proportion de bactéries ayant acquis une résistance à l'antibiotique après son utilisation. Cette proportion augmente au cours du temps parce que l'emploi de l'antibiotique exerce la pression de sélection nécessaire à l'émergence de mutants ou de souches porteuses de facteurs extra-chromosomiques de résistance. Cette notion doit être connue du clinicien car elle explique des situations d'apparence paradoxale. Par exemple, le spectre naturel de la pénicilline G comprend *Staphylococcus aureus* alors que 90% des souches sont actuellement résistantes par production de pénicillinase.

Pour faciliter le choix d'un traitement antibiotique, les espèces bactériennes ont été réparties en 3 classes :

- Espèces habituellement sensibles ;
  - Espèces modérément sensibles ;
  - Espèces résistantes.
- **Les espèces habituellement sensibles** : il s'agit d'espèces répondant à la répartition suivante : 90% ou plus des souches sont caractérisées par des CMI < c. Moins de 10 % des souches sont résistantes ou de sensibilité diminuée. Ex : pénicilline G et streptocoque A.
  - **Les espèces modérément sensibles** : il s'agit d'espèces dont la sensibilité naturelle n'a pas été modifiée par la résistance mais qui sont habituellement classées résistantes par l'antibiogramme : 90% et plus des souches se situent dans la catégorie I. Le classement ne dépend pas d'un mécanisme de résistance acquis (dont la fréquence peut évoluer), mais d'un caractère propre à l'espèce. Ex : macrolides et *Haemophilus influenzae*.
  - **Les espèces résistantes** : il s'agit d'espèces pour lesquelles plus de 50% des souches sont résistantes. Cette résistance peut être naturelle ou acquise. L'antibiogramme ne fait que confirmer la résistance s'il s'agit d'une résistance naturelle et participe ainsi à l'identification de l'espèce bactérienne. Il permet de suivre son

évolution s'il s'agit d'un mécanisme acquis. Ex : pénicilline G et *S. aureus* / aminosides et streptocoques (SEKHSOKH et al, 2008).

### **B. Lecture interprétative :**

L'interprétation phénotypique est devenue possible puis incontournable grâce aux progrès considérables de la connaissance des mécanismes biochimiques de la résistance des bactéries et des déterminismes génétiques impliqués (ELHANI, 2012) (EUCAST ,2017).

À titre d'exemple, la découverte de très nombreuses enzymes d'inactivation, mécanisme principal de la résistance aux antibiotiques. La résolution de leur structure et leur purification a permis d'en établir avec précision leur « spectre de substrat ». Il s'agit du panel d'antibiotiques que ces enzymes sont capables d'hydrolyser in vitro, plus ou moins fortement, selon la sensibilité de la molécule à l'enzyme. Dès lors, leur détection chez une bactérie pathogène se fera grâce à l'utilisation dans l'antibiogramme de la molécule la plus sensible du panel (marqueur de résistance : exemple de l'utilisation de la kanamycine pour tester la sensibilité de *Staphylococcus* sp à l'amikacine ou bien le nalidixate chez *Haemophilus* sp pour dépister la résistance aux fluoroquinolones). Leur mode de production, constitutive ou inductible, a permis de mettre au point des tests de facilitation de détection par le placement judicieux des disques d'antibiotiques sur la gélose (inhibiteurs de bêta-lactamases et céphalosporines de 3e et 4e génération(C3G ou C4G), érythromycine-clindamycine,...) (COURVALIN, 2006) (LECLERCQR, 2013).

L'interprétation phénotypique ou lecture interprétative de l'antibiogramme se fait habituellement en trois étapes (JEHL, 2012) :

1. Pour chaque famille d'antibiotiques, on observe le résultat brut in vitro obtenu pour un certain nombre de molécules judicieusement choisies, dont les marqueurs (il n'est bien sûr pas possible de tester toutes les bêtalactamines par exemple). On obtient ainsi un phénotype de résistance, « observé ».
2. De ce phénotype de résistance, on déduit un mécanisme biochimique de résistance (attention aux associations de mécanismes dont sont capables les bactéries et qui compliquent parfois singulièrement cette étape) ainsi que son déterminisme génétique.

3. Une fois le mécanisme élucidé, on en déduit toutes les résistances croisées pour établir le panel de l'ensemble des molécules concernées par le mécanisme de résistance incriminé.

On mesure là toute l'importance de la lecture interprétative. Elle permet également d'envisager les résistances associées qui peuvent être plus difficiles à détecter (ex : méticillino-résistance et résistance aux fluoroquinolones pour le staphylocoque). Cette interprétation phénotypique suppose, bien sûr, de bien connaître les résistances naturelles (JEHL, TWIZEYIMANA, 2015).

Souvent réalisée par le biologiste lui-même pour les antibiogrammes par diffusion, elle est, dans de nombreux automates de détermination de la sensibilité, le résultat d'un système dit « expert » Ceux-ci mesurent en général des CMI par micro-dilution en milieu liquide et les comparent à la concentration critique de l'antibiotique en question (COURVALIN, 2006).

Ce contrôle de validation vise à :

- Vérifier la cohérence germe/antibiogramme
- Détecter les phénotypes de résistance impossibles
- Détecter l'absence d'une résistance associée
- A reconnaître des phénotypes anormaux pouvant correspondre à de nouvelles modalités de résistance.
- A lancer l'alerte de présence de bactéries multirésistantes nosocomiales.

### **C. Compte rendu ou rapport d'analyse :**

En complément du tableau de lecture interprétative, le microbiologiste doit joindre un commentaire qui précise au clinicien les points suivants :

⇒ Les résultats obtenus confirment l'identification biochimique, antigénique,..., de la bactérie considérée.

⇒ L'absence de résistance acquise pour la souche isolée dans le cadre des seuls antibiotiques testés (nécessité de se référer au profil de résistance naturelle).

⇒ En cas de résistance acquise, préciser la ou les classe(s) d'antibiotique(s) concerné(s) et si possible la nature du mécanisme de résistance acquis par la souche isolée du patient.

⇒ Proposer le cas échéant : une détermination précise de CMI pour un (des) antibiotique(s) testé(s) ; une recherche complémentaire de caractérisation du mécanisme de résistance acquis.

⇒ Avertir le clinicien sur le caractère multi résistant de la souche afin de prendre les mesures d'hygiène qui s'imposent.

#### **D. Avenir de l'antibiogramme :**

L'antibiogramme par diffusion reste incontournable dans la découverte de nouveaux mécanismes de résistance et dans la visualisation des interactions entre antibiotiques indispensables à l'interprétation phénotypique et est suffisant dans l'étude de la sensibilité des phénotypes sauvages. La mesure des CMI dans certaines situations critiques représente un complément décisif d'information à celles obtenues par l'antibiogramme réalisé par diffusion en milieu gélosé. Il importe cependant de connaître les limites et les incertitudes pesant sur chacune de ces deux approches, notamment, chaque fois qu'on est face à des bactéries exigeantes : *Neisseria*, *Haemophilus*, ... (MARCEL, 2005).

Les CMI permettent d'affiner un choix thérapeutique en choisissant des molécules à plus faible CMI et qui sont tous interprétés « s ». Elles permettent également d'inclure les notions de sélection de résistance dans ce choix si on fait un choix contraire qui risque d'échouer. Elles autorisent en plus un suivi thérapeutique indispensable aux ajustements posologiques (JEHL, TWIZEYIMANA, 2015).

L'extension de la résistance bactérienne entretient un besoin permanent d'antibiogramme et son évolution. La réponse faite au clinicien pourrait évoluer vers une réponse plus globale et plus interprétée avec identification de la résistance qui permet de résumer l'ensemble des résultats en une combinaison de phénotypes facilitant les échanges d'information dans le but d'améliorer les corrélations in vivo in vitro sans oublier le souci d'efficacité thérapeutique et d'efficience économique (MARCEL , 2005).

## **II. METHODES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE :**

### **II.1 Introduction :**

En se basant sur les méthodes conventionnelles de culture bactérienne, les renseignements concernant la bactérie responsable et sa sensibilité aux antibiotiques, peuvent mettre plusieurs jours avant d'être disponibles. Dans la majorité des cas, ces tests de sensibilité phénotypiques sont suffisants et leurs performances progressent. À présent, des systèmes automatisés identifient la souche et fournissent un antibiogramme en quelques heures. Dans un proche avenir, des méthodes génétiques d'identification se basant sur l'analyse des séquences d'ADN pourront déterminer l'agent infectieux et ses résistances en moins d'une heure. Ces techniques dites de biologie moléculaire progressent et vont conduire au développement et à l'application de nouvelles stratégies perfectionnées pour l'analyse de la résistance bactérienne aux antibiotiques. En l'état actuel des connaissances, les deux méthodes d'information sur les résistances bactériennes, phénotypiques et génotypiques, sont complémentaires.

La détection des déterminants génétiques devrait permettre de contourner la nécessité d'isolement bactérien et d'éviter la dépendance vis-à-vis des conditions de culture. Par ailleurs, le risque lié à la culture de bactéries hautement virulentes s'en trouvera alors réduit. L'avantage est aussi d'obtenir plus facilement des résultats génotypiques sur des micro-organismes qui sont non cultivables, difficilement cultivables ou à croissance lente (Ex : *Mycobacterium tuberculosis*).

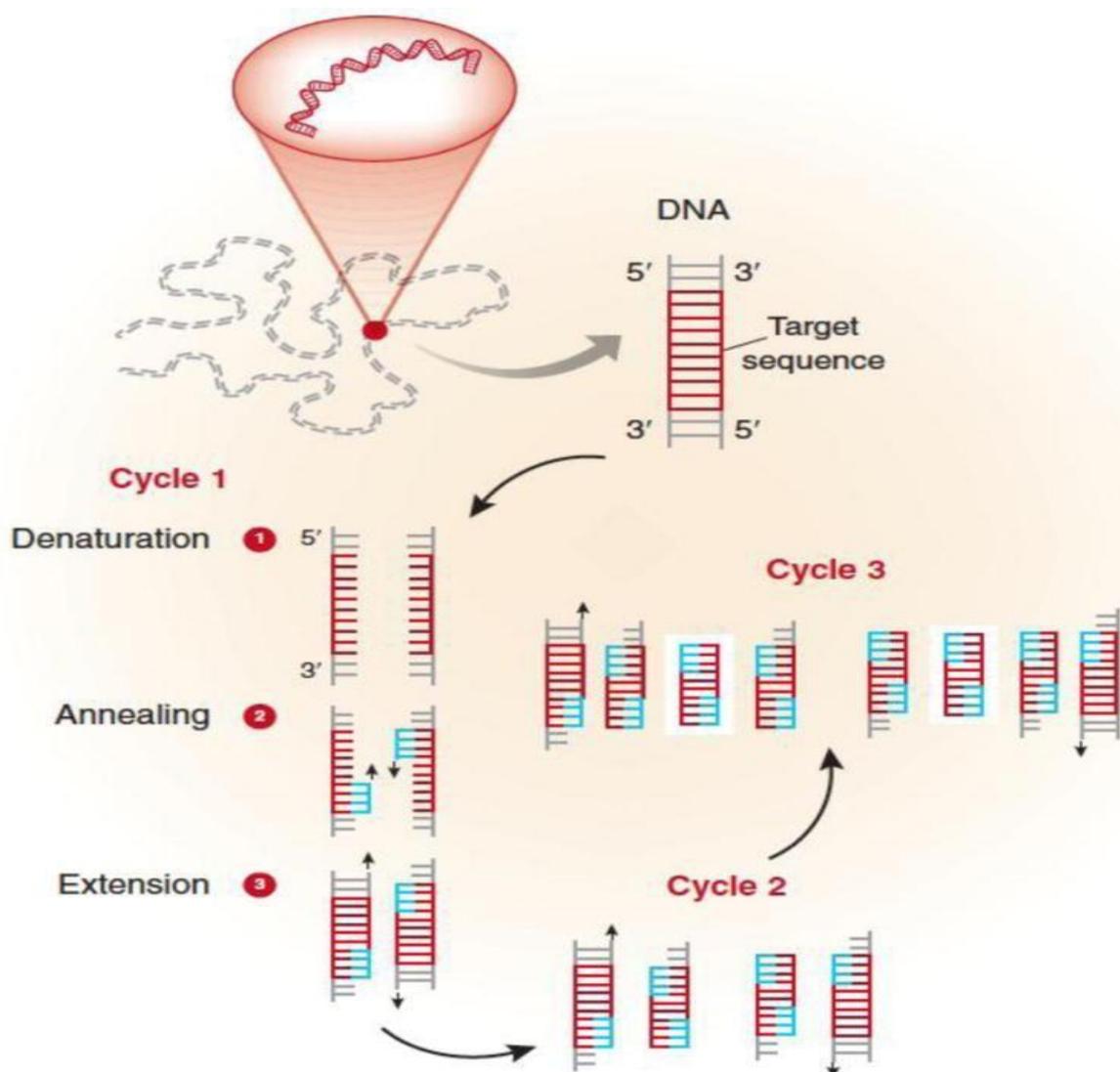
### **II.2 Amplification génique par polymérase chain réaction (PCR) :**

La PCR fut inventée par K. Mullis en 1983 et brevetée en 1985. Son principe repose sur l'amplification génique en utilisant de l'ADN polymérase. Il s'agit d'une répllication in vitro de séquences spécifiques d'ADN (MULLIS, 1990).

Cette méthode permet de générer à des dizaines de milliards d'exemplaires un fragment d'ADN particulier (la séquence d'intérêt ou ADN cible) à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel). La puissance de la PCR repose sur le fait que l'on peut donc amplifier des séquences nucléotidiques à partir de quantités infinitésimales d'extrait d'ADN.

La PCR est donc une technique de purification ou de clonage. A la fin de la réaction terminée, la quantité extrêmement faible d'ADN matriciel contenue dans l'échantillon n'aura pas varié. En revanche, la quantité de la ou des séquences amplifiées (l'ADN d'intérêt) sera très grande (WEIER et al , 1988).

La PCR a connu un tournant décisif avec la découverte de l'ADN polymérase thermostable chez une bactérie : *Thermophilus aquaticus*, elle a permis d'envisager des thermocycleurs ou sont programmables les différentes étapes de toute amplification génique sans perdre l'activité de l'enzyme (EOM et al, 1996).



**Figure 03 :** Différentes étapes et cycles de la technique PCR (INVEST., 2013)

Dans la majorité des laboratoires, la technique PCR reste la plus utilisée. La plupart des tests de sensibilité génotypiques ont été développés sur des combinaisons bactérie-antibiotique pour lesquelles les bases génétiques de la résistance se limitent à une seule ou quelques anomalies génétiques bien caractérisées.

### **II.2.1 Exemple : Détection génotypique des résistances chez *Staphylococcus aureus* :**

Un exemple d'application de la technique PCR est la détection du gène *mecA* pour les staphylocoques. Une détection rapide et fiable de la résistance à la méthicilline des staphylocoques dorés à partir des tests de sensibilité sur isolat obtenu par culture n'est pas sans poser des problèmes.

L'expression de la méthicillino résistance peut être hétérogène et dépendante des conditions de réalisation de la culture. Les techniques phénotypiques peuvent alors surestimer ou sous-estimer la fréquence ou le niveau de résistance. Or, toutes les souches de staphylocoques dorés résistants à la méthicilline produisent une protéine liant la pénicilline (PLP2a) dont le gène chromosomique est *mec* (GEHA et al, 1994).

Ce gène n'est pas présent dans les souches sensibles à la méthicilline. Par conséquent, la détection génotypique du gène *mecA* est devenue le test référence pour la détection et la confirmation de la résistance à la méthicilline (BERGERON et al, 1998) (LOUIE et al, 2000).

Plusieurs études ont montré une excellente corrélation entre la détection par PCR du gène *mecA* et les résultats obtenus par test de sensibilité en micro dilution. La méthode PCR permet aussi de mieux différencier entre *Staphylococcus aureus* de haute résistance et de résistance intermédiaire (LOUIE et al, 2000).

La PCR peut détecter des séquences de gène *mecA* à partir de prélèvements biologiques de pratique courante et directement à partir des flacons d'hémocultures (TENOVER et al, 1998) (BIGNARDI et al, 1996). Cependant, cette détection nécessite une interprétation appropriée car elle peut correspondre à un staphylocoque coagulase négatif, de plus que la présence de variantes de gène *mec* peut faussement négativer la réaction. Ces faux négatifs peuvent être le fait de mutations du gène *mecA* ou l'existence de gènes proches, mais différents, conférant la méthicillino-résistance (STEGGER et al, 2012).

Ce rapport sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) codant pour un gène « *mecA* » divergent était hautement significatif. Ce gène homologue, désigné par *mecC*, pose des problèmes diagnostiques avec la possibilité d'être diagnostiqué à tort comme *S. aureus* sensible à la méthicilline, avec des conséquences potentielles importantes pour les patients individuels et pour la surveillance du SARM (PATERSON et al, 2014). Inversement, il existe des souches porteuses du gène *mecA* mais phénotypiquement sensibles sur antibiogramme (souches OS-MRSA). La décision dans ces cas est en faveur des tests génétiques (HOSOSAKA et al, 2007) (ANDRADE-FIGUEIREDO et al, 2016).

Actuellement, les recommandations en matière de détection moléculaire de résistances importantes chez les Staphylocoques sont établies par l'EUCAST 2017, qui note que la détection génotypique des gènes *mecA* et *mecC* par PCR doit être entreprise (PICHON et al, 2012) (EUCAST, 2017).

### II.3 Hybridation sur puces :

Dans cette étude, nous évaluons pour la première fois le test *Sepsis Flow Chip (SFC)*, qui est un nouveau test diagnostique pour la détection rapide simultanée de la grande majorité des pathogènes sanguins, y compris les bactéries Gram-positives et Gram-négatives et les champignons, dans le même dosage, et pour la détection des gènes de résistance aux antibiotiques les plus courants.

Le test SFC est basé sur une amplification PCR multiplex utilisant des amorces biotinylées suivie d'une hybridation inverse automatique dans des membranes contenant des sondes spécifiques pour détecter les pathogènes les plus importants associés aux infections sanguines et les déterminants de résistance génétique les plus importants dans ces microorganismes. Les signaux positifs sont visualisés via une réaction immuno-enzymatique colorimétrique dans une membrane à puce par la plateforme d'hybridation HS24. La plate-forme d'hybridation HS24 possède une caméra intégrée qui capture l'image de la puce puis est analysée dans la plate-forme par le logiciel *hybrisoft* qui identifie le motif de points qui apparaît sur la membrane. Chaque motif de points est associé à un micro-organisme et les déterminants de la résistance génétique et le logiciel *hybrisoft* fournit à l'utilisateur un résultat. Le test SFC détecte les principaux déterminants de la résistance génétique impliqués dans la résistance à la méthicilline et à la vancomycine chez les pathogènes à Gram positif et les déterminants liés aux mécanismes de

résistance aux  $\beta$ -lactamines tels que les BLSE et la production de carbapénémases chez les bactéries Gram négatif (GALIANA et al, 2017).

Le test est réalisé directement à partir d'une hémoculture positive en utilisant un volume minimum (10  $\mu$  l). Cette nouvelle méthode semble très prometteuse en combinant le nombre élevé de pathogènes distincts et de déterminants de la résistance génétique identifiés dans un seul essai. Des recherches supplémentaires devraient être menées pour évaluer l'utilité de ce test en association avec des groupes cliniques multidisciplinaires (intendance), afin que les résultats soient appliqués de manière appropriée à la gestion des processus infectieux des patients (GALIANA et al, 2017).

#### **II.4 Séquençage partiel ou total des gènes :**

L'avènement des méthodes de séquençage d'ADN de nouvelle génération a déclenché une nouvelle ère dans la caractérisation moléculaire des écosystèmes environnementaux. Le principal avantage de ces méthodes est qu'elles contournent la PCR et donc, a priori, le besoin de sélectionner des cibles génétiques, telles que des ARGs (Antibiotic Resistance Genes) spécifiques et des éléments génétiques mobiles. Les génomes mélangés dans un échantillon donné (métagénomes) peuvent être séquencés en une seule étape (par exemple, en donnant 10 à 1000 Gb de séquences d'ADN dans une seule voie au séquenceur HiSeq 2500 Illumina™). Les gènes de résistance aux antibiotiques ou autres cibles d'intérêt (Plasmides, transposons, facteurs de virulence...) peuvent ensuite être détectés et quantifiés en cherchant dans des bases de données en ligne à l'aide d'outils publics tels que MGRAST (*Metagenomics Rapid Annotation using Subsystem Technology*) (MEYERF et al, 2008), la base de données intégrée sur le génome microbien (IMG) (MARKOWITZ et al, 2012) ou la base de données complète sur la résistance aux antibiotiques (CARD) (McARTHUR et al, 2013) (LUBY et al, 2016).

#### **II.5 La confrontation génotypique et phénotypique : une adaptation nécessaire à l'interprétation des résultats :**

Les techniques de biologie moléculaire ont démontré leur utilité pour confirmer des résistances bactériennes sur des germes isolés en laboratoire et pour détecter des résistances sur divers prélèvements en contexte clinique (FRANKLIN et al, 1999) Ainsi que dans l'environnement (LUBY et al. 2016) ou chez l'animal (SCHMIDT et al 2014)

Le premier avantage des tests de sensibilité par analyse génétique est de pouvoir être réalisé directement sur les prélèvements biologiques, en évitant l'isolement préalable du germe en culture (**CHROMA et al, 2010**).

Cette stratégie opérationnelle est particulièrement importante si on considère le pronostic vital des infections sévères telles que les méningites, les bactériémies ou toute infection nécessitant des traitements antibiotiques prolongés comme les endocardites ou les ostéites ; dans d'autres cas, lorsque les bactéries ont une croissance lente, les génotypes peuvent permettre une identification dans des délais plus courts que les déterminations de phénotype ; et pour certains microbes non cultivables ou difficilement cultivables, seuls les génotypes peuvent être discriminants.

Cependant, dans certaines circonstances, les tests génotypiques sont moins utiles que les tests de sensibilité phénotypique conventionnels. Ils peuvent manquer de sensibilité lorsque plusieurs germes sont présents dans le prélèvement et l'on ne peut chercher que « les cibles » qu'on connaît et dont on dispose de réactifs correspondant. Toute nouveauté chez les bactéries restera mystérieuse le temps qu'elle pose problème, qu'on la cherche et qu'on l'identifie. Ce n'est qu'après tout ce travail de recherche fondamentale que des réactifs adaptés peuvent être élaborés. Différentes analyses sont nécessaires pour chaque antibiotique testé car les divers antibiotiques peuvent être associés à une multitude de gènes cibles ou à un large panel de mutations. En outre, certains antibiotiques ne disposent pas de tests génétiques de résistance correspondants.

---

## Chapitre III. Caractères généraux des staphylocoques

### I. Définition des staphylocoques :

Les staphylocoques sont des Cocci de 0,1 à 1 µm de diamètre. Ils se présentent isolés, en diplocoques, ou en amas réalisant l'aspect caractéristique d'une grappe de raisin. Ce sont des germes à Gram-positif. Sauf très rares exceptions, ils sont dépourvus de capsule ; ils ne forment pas de spores. Ils se développent facilement, en aérobiose ou en anaérobiose, sur la plupart des milieux usuels. Des milieux sélectifs, hypersalés ou contenant du tellurite de potassium, facilitent leur isolement à partir des prélèvements plurimicrobiens (**DEBUYSER, 1996**).

Les staphylocoques ont été répartis en trente-deux espèces et quatre sous-espèces qui ont été individualisées grâce à l'analyse du génome (hybridation ADN-ADN, analyse du profil de migration électrophorétique des fragments de restriction de l'ADN chromosomique portant les gènes qui codent pour l'ARN ribosomique), des constituants de la paroi (acide teichoïques, peptidoglycane, protéine A), des caractères métaboliques (acidification des sucres, production d'enzymes et de protéines diverses) et de la résistance à certains antibiotiques (**STEPAN et al., 2004**).

La présence d'une coagulase a notamment permis de séparer le genre *Staphylococcus* en deux groupes : les staphylocoques à coagulase positive (SCP) et les staphylocoques à coagulase négative (SCN). En raison de la capacité de la coagulase à générer des caillots dans le plasma, les SCP présentent généralement un pouvoir pathogène plus élevé, mais certaines études montrent que l'implication des SCN dans les infections augmente (**GARCIA, 2004 et DIEKEMA, 2001**).

Parmi les *Staphylococcus*, les espèces les plus fréquemment isolées sont *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus aureus*. Cette dernière, pourvue d'une activité catalase et capable de sécréter de nombreuses toxines, est la plus pathogène du genre (**ROSENSTEIN, 2012**).

## II. Position taxinomique et classification :

*Staphylococcus* et *Micrococcus* ont été pour longtemps deux genres bactériens au sein de la même famille, celle des Micrococaceae. Par la suite les deux genres ont été séparés vu l'hétérogénéité du *Micrococcus* dans la branche des Actinomycètes tandis que le genre *Staphylococcus* appartient à l'ordre des Bacillales et la classe des Bacilli.

Trente-trois espèces ont été identifiées du genre *Staphylococcus* par l'hybridation ADN/ADN, mais le critère de base de la classification des espèces de ce genre est la présence ou l'absence de la coagulase dont trois espèces sont à coagulase positive : *S. aureus*, *S. intermedius* et *S. hyicus* (BRISABOIS et al. 1997). *Staphylococcus aureus* est classé dans le rang taxinomique illustré dans le tableau suivant :

**Tableau 03 : Classification du *Staphylococcus aureus* (YVES et MICHEL 2009)**

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Phylum</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Staphylococaceae
<b>Genre</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

## III. Généralités sur le "*Staphylococcus aureus*" :

*Staphylococcus aureus* est l'espèce le plus pathogène de genre *staphylococcus* et la première cause d'infection bactérienne à travers le monde (CRONE, 2004).

*Staphylococcus aureus* occupe encore aujourd'hui, de part sa virulence et sa résistance aux antibiotiques usuels, une grande importance en pathologie humaine. Cette bactérie à coloration de Gram positive, appartenant à la famille des *Micrococaceae*, est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. Les fosses nasales antérieures constituent, avec les zones humides de la peau (aisselles, poignets, périnée), le site réservoir essentiel de *S. aureus*.

Dans la population générale, la prévalence du portage nasal permanent est comprise entre 20 et 25 % tandis que la colonisation transitoire par cette bactérie affecte au moins 60 % de la population restante (PEACOCK, 2001).

### III.1. Historique :

Les premières descriptions des staphylocoques (bactéries en forme de coques) isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (FASQUELLE, 1974 ; KARTHIK, 2007).

Plus tard ; en 1883, Ogston crée le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (*kokkos*) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (*staphylos*). Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* (BRECHE, 1988 ; SPICER, 2003 ; STEPHEN ET HAWKEY, 2006).

En 1884, en Allemagne Rosenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en obtenant des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide. Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies (blanches ou Dorées) (AVRIL et al., 1992 ; KARTHIK, 2007).

En 1885, Zopf a placé les staphylocoques et les microcoques dans le genre *Micrococcus*, séparés par la suite par Flugge, Evans, Bradford et Niven (1955) qui classent les cocci anaérobies facultatifs et aérobies dans le genre *Staphylococcus* et *Micrococcus*, respectivement. Cette classification est basée sur leur action vis-à-vis de la gélatine et le test d'oxydation –fermentation du glucose. Une nette distinction basée sur la composition de l'ADN entre les deux genres a été proposée par Silvestri et Hillen (1965). Le pourcentage en bases G+C de l'ADN des microcoques est de 63-73%, comparé à celui des staphylocoques 30-39%, indiquant qu'il n'existe pas de relation entre les deux genres (STEPHEN ET HAWKEY, 2006)

### III.2. Habitat :

Il s'agit de germes ubiquitaires, les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (QUINN et al., 2011 ; NAGASE et al., 2002). Chez l'homme, les staphylocoques en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore résidente cutanée de nombreux individus qui sont des «porteurs asymptomatiques».

Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière de colonisation, empêchant l'implantation de bactéries de la flore transitoire (**WYLIE et al., 2005 ; HIRSH et al., 2004**).

Cependant, l'habitat préférentiel de *S. aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. Il existe 3 statuts de portage nasal de *S. aureus* : Environ 20% de la population est porteuse de manière permanente (porteurs persistants), environ 60% sont porteurs de manière intermittente, avec des souches qui varient au cours du temps, et 20% ne sont pratiquement jamais porteurs (**FLANDROIS, 1997 ; EVEILLARD, 2007**). La distinction entre porteurs permanents et intermittents est importante. En effet, les porteurs permanents ont une densité bactérienne plus élevée et un risque plus important d'infection. De plus, les techniques de typage moléculaire ont montré que les porteurs persistants sont souvent colonisés avec la même souche alors que les porteurs intermittents sont colonisés, à différents moments, avec des souches génétiquement différentes (**VANDENBERGH et al., 1999**).

Les mécanismes impliqués dans le portage nasal sont encore mal compris. Ils font intervenir des facteurs liés à l'hôte, des facteurs bactériens et des facteurs environnementaux (**KLUYTMANS et al., 1997; NOUWEN et al., 2001**).

Les souches de *S. aureus* sont présentes également sur les membranes muqueuses du tractus respiratoire ainsi que le tractus urogénital et comme flore transitoire dans le tractus digestif (**QUINN et al., 2011**). 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 (**BRECHE et al., 1988**).

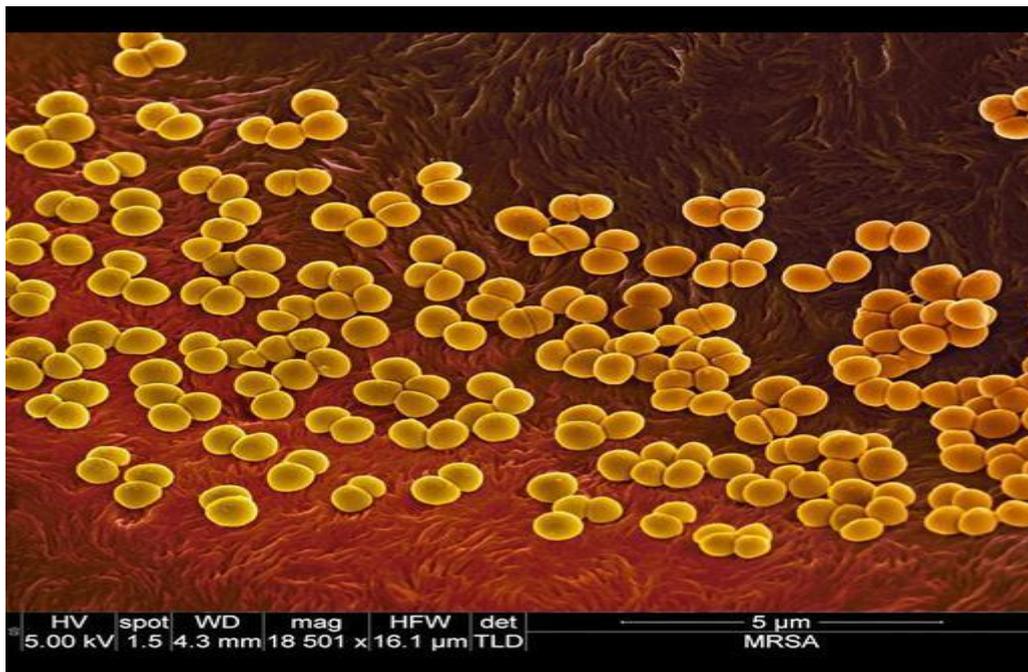
Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières (l'air), l'eau et dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) (**SHIMELD et RODGERS, 1999**).

### **III.3. Caractères bactériologiques :**

#### **III.3.1. Caractère morphologiques :**

*S. aureus* est de forme sphérique (coque) et se regroupe généralement en amas, souvent qualifiés de grappes de raisin (**Figure1**).

D'un point de vue macroscopique, cette bactérie se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies, justifiant le nom vernaculaire de « Staphylocoque doré ». Ces Cocci mesurent de 0,5 à 1,5µm de diamètre, sont immobiles, non sporulés et positifs la coloration de Gram. Comme chez la majorité des bactéries Gram positives, l'enveloppe de *S. aureus* est composée d'une seule membrane plasmique recouverte d'une paroi épaisse riche en peptidoglycane et en acides teichoïques. La plupart des isolats infectieux possèdent également une capsule polysaccharidique externe contenant divers facteurs de virulence et permettant le sérotypage des souches (TILLE, 2014).



**Figure 04** : Micrographie électronique à balayage colorisée de *S. aureus* résistant à la métiline sur la surface d'un pansement de plaie. Grossissement x 18,501. (Web-source n° 2)

### III.3.2. Caractères cultureux :

Les staphylocoques se multiplient très bien en 24h sur la plupart des milieux usuels : température optimale 37°C (culture entre 12 et 46 °C) ; pH optimal 7,2 – 7,4.

- Sur gélose nutritive : on obtient des colonies arrondies, bombées, luisantes, opaques, à contours nets, pigmentées après 24 à 36h, pouvant alors présenter :
  - une coloration ocre-jaune ; c'est le cas de la majorité des souches de *S. aureus* ;

- une teinte blanche, porcelainée : il peut s'agir alors de *S. aureus*, de *S. epidermitis* ou de *S. saprophyticus*
- En bouillon nutritif : on observe en 24h, un trouble uniforme abondant, puis un dépôt et un voile pelliculaire en surface
- Sur milieu Chapman : Les *S. aureus* fermentent le mannitol (virage de l'indicateur de couleur).
- Sur milieu Baird Parker au tellurite : présence de colonies noires avec halo clair.

*S. aureus* est capable de croître sur une large gamme de milieux de culture, sélectifs ou non sélectifs. Sur une gélose au sang, les souches « typiques » de *S. aureus* donnent des colonies lisses, convexes avec des diamètres de 1~ 3 mm, de couleur jaune dorée due aux caroténoïdes, et sont souvent hémolytiques (**FERENEY, 2007**), Présence d'hémolyse bêta.

L'aptitude de la bactérie à coaguler le plasma de lapin est le principal test caractérisant l'espèce *S. aureus*, mais de nouvelles espèces de staphylocoques à coagulase positive ont été récemment isolées : *S. schleiferi sub sp. coagulans*, *S. delphini*, *S. lutrae*, *S. intermedius* et *S. hyicus*.

Il est à noter que d'une part, la coagulase n'est pas toujours présente chez ces deux dernières espèces et d'autre part, elles sont beaucoup plus rarement présentes dans les aliments que *S. aureus* (**BRISABOIS et al, 1997 ; LEYRAL et VIERLING, 2007 ; DE BUYSER, 2008**).

### III.3.3. Caractères biochimiques :

La recherche des activités biochimiques des staphylocoques est précieuse :

- ✚ Pour identifier le genre *Staphylococcus*.
- ✚ Pour distinguer un staphylocoque pathogène d'un non pathogène.
- ✚ Pour préciser l'origine humaine ou animale d'un staphylocoque.

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 (**KLOOS et al, 1990**).

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 (**COUTURE, 1990**).

*S. aureus* possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques (**FERRON, 1984**). 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* (FAUCHERE, 2002;FASQUELLE,1974).

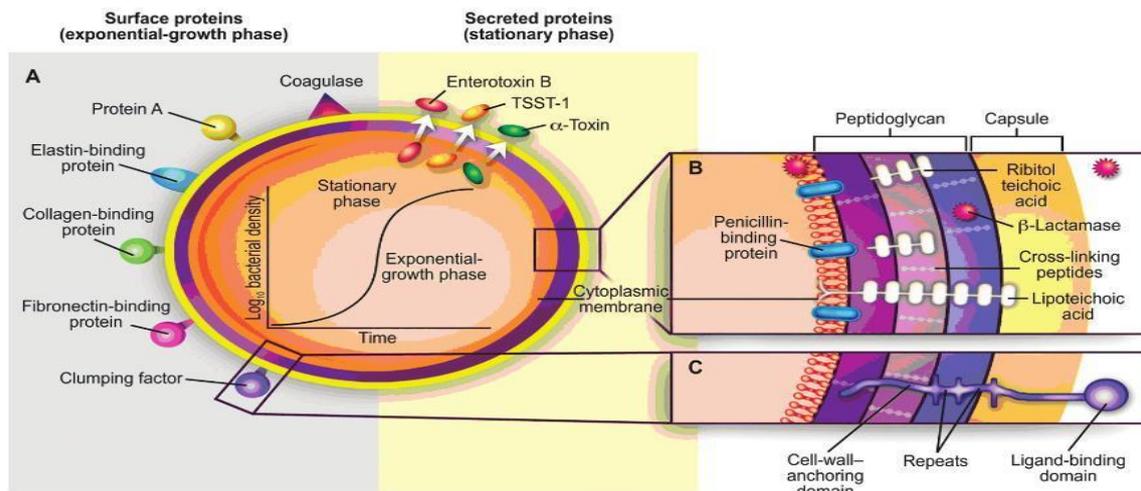
Cependant, la production de pigments (caractères culturels), d'hémolyse et la dégradation du mannitol n'ont pas toujours lieu ; ce sont des indices auxquels on ne peut se fier pour identifier le germe de façon certaine. Il faut donc procéder à son identification par l'étude de différentes propriétés biologiques et biochimiques (FAUCHERE, 2002). Ce qui caractérise mieux l'espèce *S. aureus*, c'est la production d'une staphylocoagulase (Tableau) (FAUCHERE, 2002). Cependant, certaines souches de *S. aureus* peuvent ne pas produire de coagulase libre en raison d'une mutation. Ainsi, une ADNase thermostable permet de déterminer si le germe isolé est un *S. aureus* (COUTURE, 1990).

#### III.3.4. Caractères utiles pour l'identification du genre de *Staphylococcus* :

- ✓ Catalase : Elle est toujours fortement positive.
- ✓ Arginine-dehydrolase (ADH) : Cette recherche, réalisée en anaérobiose, sur bouillon de Moeller+Arginine, donne un résultat positif en moins de 96h pour les souches appartenant au genre *Staphylococcus*.
- ✓ Fermentation de nombreux hydrates de carbone : Glucose, saccharose, glycérol, etc. sont fermentés. La xylose n'est jamais attaquée (PILET, 1979).

#### IV. Pouvoir pathogène de *S. aureus* :

La pathogénie des *S. aureus* est un phénomène complexe, faisant intervenir une multitude de facteurs de virulence (Figure 2). C'est l'action combinée de l'ensemble des facteurs qui explique le fort pouvoir pathogène de cette bactérie et la multitude des maladies humaines qu'elle provoque (HIRON, 2007).



**Figure 05** : Facteurs de virulence de *S. aureus* (GORDON et al, 2008).

#### IV.1. Facteurs de virulence :

Les infections à *S. aureus* sont dans la majorité des cas causées par les souches commensales du patient suite à l'expression d'un ensemble de facteurs qui lui procure son pouvoir pathogène et sa virulence (PLATA et al, 2009).

Les infections suppuratives superficielles dues à ce germe sont causées par les facteurs d'adhésion et des protéines de surface afin de s'adhérer aux cellules et aux tissus de l'hôte causant ainsi des impétigos et infections de plaies. L'infection peut aller à un stade plus grave grâce aux enzymes dont le rôle est la dégradation des tissus pour atteindre la circulation sanguine, elles peuvent être plus profonde et même graves (septicémie, endocardites) en cas d'absence ou non efficacité du traitement. De plus, *S. aureus* synthétise des toxines responsables du syndrome du choc toxique, des entérotoxines causant des toxi-infections alimentaires et d'autres facteurs dans le but d'échapper aux systèmes immunitaire de l'hôte (GRACE and FETSCH, 2018).

##### IV.1.1. Génétique des *S. aureus* :

###### IV.1.1.1. Génome :

Le génome de *S. aureus* a été séquencé pour 6 souches de *S. aureus* (BABA et al., 2002; HOLDEN et al., 2004; KURODA et al., 2001). Il s'agit d'un chromosome circulaire qui comprend  $2,82 \times 10^6$  à  $2,9 \times 10^6$  pb. Le contenu en GC est de 33%, 84% du génome est codant et entre 2592 et 2748 gènes ont été identifiés. *S. aureus* contient en général un plasmide de 20 000 à 25 000 pb contenant une trentaine de gènes (KURODA et al., 2001).

Le génome de *S. aureus* se caractérise par sa complexité et sa plasticité. La comparaison des génomes séquencés et l'analyse par la technique des micropuces à ADN d'un échantillon représentatif des différentes lignées de *S. aureus* montrent qu'environ 75% du génome est hautement conservé (**HOLDEN et al., 2004; LINDSAY , 2004**).

La majorité des gènes de ces régions conservées sont impliqués dans la réplication de l'ADN, la synthèse protéique et les fonctions métaboliques. Un quart du génome est caractérisé par une variabilité génétique importante et les gènes de ces régions sont dévolus à des fonctions non essentielles à la croissance et à la survie. Ces régions variables sont composées d'éléments génétiques mobiles acquis par transferts horizontaux à partir d'autres souches de *S. aureus* et d'autres espèces bactériennes plus ou moins éloignées (**FITZGERALD et al., 2001**).

Ces éléments génétiques mobiles comprennent des génomes prophages, des transposons, des séquences d'insertion, des plasmides, des cassettes chromosomiques, des îlots de pathogénicité, des îlots génomiques (**LINDSAY ET HOLDEN, 2004**). La plupart de ces éléments génétiques mobiles transportent des gènes de virulence ou des gènes de résistances aux antibiotiques.

#### **IV.1.1.2. Support génétique de la virulence :**

Il existe un très grand nombre de gènes liés à la virulence : au moins 40 gènes codant pour des toxines, 20 codant pour des facteurs d'adhésion et 44 régulant la transcription de produits associés à la virulence. Les gènes codant pour les toxines sont regroupés dans des îlots de pathogénicité qui sont des éléments génétiques mobiles (**KURODA et al., 2001**). Près de 75% des souches cliniques de *S. aureus* ont des gènes codant pour des toxines (**BECKER et al., 2003**).

La synthèse des facteurs de virulence est biphasique. A la phase initiale de la croissance bactérienne, ce sont surtout les gènes codant pour des adhésines qui sont activés. Secondairement, les gènes des toxines prennent le relais. La synthèse de l'ensemble de facteurs de virulence est coordonnée par des systèmes de régulation de la virulence appelé *agr* (*accessory gene regulator*) (**BRONNER et al., 2004; DUFOUR et al., 2002**).

Le système *agr* met en jeu un mécanisme de déclenchement par un seuil « *quorum sensing* » : il code pour un peptide (peptide auto-inducteur) qui est sécrété dans l'espace extracellulaire et son accumulation agit comme un signal sur la densité cellulaire conduisant à l'activation du système *agr* (**YARWOOD, SCHLIEVERT, 2003**). Le système *agr* possède un polymorphisme génétique avec quatre groupes alléliques identifiés ( **JI et al., 1997 ;JARRAUD et al., 2000**).

Ce polymorphisme pourrait expliquer la diversité des infections entraînées par *S. aureus*. Par exemple, le système *agr* type IV est retrouvé dans les souches productrices d'exfoliatines alors que les souches produisant *TSST-1* ont un système *agr* de type III (JARRAUD et al., 2002).

#### **IV.1.2. Composants de la surface :**

##### **IV.1.2.1. Exopolysaccharides capsulaires :**

L'interaction de *S. aureus* avec son hôte dépend fortement de ses propriétés de surface. La majorité des isolats de *S. aureus* expriment un polysaccharide de surface. Cela a été appelé une microcapsule, car elle peut être visualisée que par microscopie électronique à la différence des capsules vraies de certaines bactéries qui sont facilement visualisés en microscopie optique (TODAR, 2009).

La capsule polysaccharidique est exprimée durant la phase de croissance postexponentielle (O'RIORDAN et LEE, 2004). Une classification de ces polysaccharides en 11 sérotypes capsulaires a été proposée dont les types 5 et 8 représentent 75 % des infections humaines. La plupart des isolats de *S. aureus* résistants à la méthicilline sont de type 5 (LOWY, 1998). Les souches de *S. aureus* isolées d'infections expriment des niveaux élevés du polysaccharide, mais perdent rapidement la capacité lorsqu'elles sont cultivées en laboratoire (TIMOTHY, 2008).

La fonction de la capsule dans la virulence n'est pas entièrement claire, bien qu'elle faciliter l'adhérence de la bactérie aux cellules endothéliales (PÖHLMANN-DIETZE et al., 2000), la capsule est capable d'interférer avec la phagocytose des *S. aureus* (THAKKER et al., 1998) et pourrait masquer les antigènes de la paroi cellulaire (RISLEY et al., 2007), et confère à la bactérie une forme de résistance vis-à-vis des antibiotiques (DEVERRIERE, 2007).

##### **IV.1.2.2. Acides teichoïques (polysaccharides A) :**

Que la plupart des autres bactéries à gram positif, *S. aureus* produit des polymères de la paroi cellulaire hautement chargés. Ils sont représentés par les acides teichoïques, qui sont soit connecté à une liaison covalente peptidoglycane, ce qu'on appelle acides teichoïques mur (WTAs), ou fixée au moyen d'un glycolipide de la membrane cytoplasmique, c'est-à-dire, acides lipoteichoïques (XIA et al., 2010).

Le WTA lié à la paroi cellulaire est l'un des facteurs les plus importants contribuant à la colonisation par *S. aureus* de la colonisation abiotique et nasale (WEIDENMAIER et al., 2004).

En plus de la médiation des interactions avec les récepteurs et les biomatériaux, les fonctions connues et proposées des acides teichoïques de *S. aureus* incluent la protection contre les dommages cellulaires causés par les peptides antimicrobiens (CAMP), les antibiotiques cationiques (glycopeptides), les antimicrobiens acides gras, lysozymes et autres facteurs, contrôlant les mécanismes protéiques dans l'enveloppe cellulaire des agents pathogènes, et servant de récepteur au phage (PESCHEL, 2002 ;XIA et al., 2010).

#### **IV.1.2.3. Peptidoglycane :**

Chez *S. aureus*, la production de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infections locales (abcès, infections articulaires) provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines (IL-1, IL-6, IL-8 et TNF alpha) qui, en grande quantité, provoquent des lésions tissulaires et une hyperthermie (AVRIL et al, 2003 ; GARRITY et al., 2007).

#### **IV.1.3. Facteurs d'adhésion et d'invasion :**

*S. aureus* peut exprimer à sa surface un panel de protéines favorisant l'attachement à certaines molécules de l'hôte telles que la fibronectine, la laminine et le collagène qui forment la matrice extracellulaire des surfaces épithéliales et endothéliales (CLARKE, FOSTER, 2004).

##### **IV.1.3.1. Protéines A :**

La protéine A des staphylocoques est une protéine ancrée à la paroi de la bactérie qui a initialement été décrite chez *Staphylococcus aureus*. Cette protéine de 42 KDa contient 5 domaines extracellulaires (A à E) très homologues qui ont la capacité de fixer certains types d'anticorps. Chacun de ces domaines est, en effet, capable de fixer le fragment constant Fcγ des immunoglobulines de classe G (ou IgG) ainsi que la région VH3 du site de fixation de l'antigène (fragment Fab) des immunoglobulines de classe M (IgM) (GRAILLE, STURA , 2000).

La protéine A est aussi capable de se lier au facteur de von Willebrand(VW), une protéine essentielle de l'hémostase, ainsi qu'aux plaquettes sanguines. La fixation sur ces dernières favoriserait la colonisation des endothéliums par *Staphylococcus aureus* et aurait un rôle important dans la pathogénie des endocardites dues à *Staphylococcus aureus* chez l'homme (O'SEAGHDHA, VAN SCHOOTEN , 2006).

##### **IV.1.3.2. Protéines de liaison au collagène ou *Collagen adhésin (Cna) :***

La protéine de liaison au collagène permet à *S. aureus* d'adhérer aux tissus contenant beaucoup de collagène.

Cette protéine a été montrée comme étant un facteur de virulence dans les arthrites (XU , 2004), les ostéomyélites (ELASRI , 2002) staphylococciques, ainsi que dans la persistance de l'infection endocarditique bien que son rôle soit limité dans l'étape initiale de cette infection (HIENZ , 1996).

#### IV.1.3.3. Protéines de liaison au fibrinogène ou *Clumping factor* (ClfA et ClfB) :

Les clumping factors A et B sont tous les deux capables de lier le fibrinogène mais par des sites de fixation différents. En effet, il existe une très grande disparité entre les deux protéines avec seulement 27 % d'homologie dans la séquence peptidique. La liaison du ClfA au fibrinogène est régulée par la concentration calcique du milieu, sachant qu'une trop forte concentration inhibe la fixation. Il est alors supposé que, lors d'une septicémie à *S. aureus*, la bactérie circulante ira préférentiellement s'adhérer aux micro-thrombi riches en plaquettes et aux biomatériaux, à la surface desquels la concentration en calcium est faible (CLARKE, 2006). Ce serait donc un facteur déterminant pour l'établissement des endocardites (MOREILLON, 1995), des infections sur matériels étrangers et des plaies (FOSTER, 1998).

De plus, il a été montré que les deux *clumping factors*, mais notamment ClfA, étaient pro-aggrégants plaquettaires en favorisant l'activation des plaquettes. Enfin, ClfA a clairement été identifié comme un facteur de virulence dans les arthrites staphylococciques (PALMQVIST , 2005) et un inhibiteur de la phagocytose (PALMQVIST , 2004). Quant à ClfB, il est reconnu pour améliorer l'adhésion de *S. aureus* aux cellules épithéliales desquamantes de la muqueuse nasale, favorisant donc la colonisation nasale (O'BRIEN, 2002).

#### IV.1.3.4. Protéines de liaison au fibronectine A et B ou fibronectin-binding proteins (Fnbp A et Fnbp B) :

Fnbp A est capable de lier la fibronectine, mais aussi le fibrinogène et l'élastine (autre composant de la matrice extracellulaire), alors que Fnbp B ne peut lier que la fibronectine et l'élastine. Il a été montré que les Fnbp contribuaient à l'adhérence de *S. aureus* aux thrombi et aux biomatériaux, favorisant ainsi l'initiation des infections sur matériel étranger (FOSTER, 1998). De plus, le rôle de Fnbp A a été démontré dans la phase initiale de la physiopathologie de l'endocardite infectieuse à *S. aureus* (VELOSO ,2013).

#### IV.1.4. Les substances élaborées par le *S. aureus* :

Toutes les souches de *S. aureus* produisent des substances 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 (**BHATIA ET ZAHOOR, 2007**).

De même, le caractère extracellulaire de ces substances n'est pas toujours respecté, certaines d'entre elles restent fixées à la membrane cytoplasmique (**LE MINOR et VERON 1990**).

#### **IV.1.4.1. Enzymes :**

##### **A. La coagulase libre :**

La coagulase ou staphylocoagulase codée par le gène COA est une protéine de 40 kDa. Elle est retrouvée libre ou associée à la membrane (**KAIDA et al. 1989**).

Cette enzyme a été rattachée à la classe des SERAMs car elle ne possède pas de motif LPXTG (**BODEN & FLOCK, 1989**).

Le domaine N-terminal de la coagulase s'associe à la prothrombine pour former la staphylothrombine responsable de la polymérisation du fibrinogène en fibrine, provoquant la coagulation du sérum (**BODEN & FLOCK, 1989 ; PANIZZI et al. 2006**).

Son implication dans l'infection n'est cependant pas totalement claire, elle ne semble pas jouer un rôle crucial dans les pneumonies expérimentales ou dans les endocardites (**MOREILLON et al., 1995 ; SAWAI et al., 1997**).

Une seconde coagulase a été décrite, le facteur de Von Willebrand codé par le gène vwb (**BJERKETORP et al., 2002**).

Elle possède les mêmes propriétés de liaison au fibrinogène que la staphylocoagulase (**BJERKETORP et al., 2002 ; FRIEDRICH et al., 2003 ; KROH et al., 2009**).

##### **B. La staphylokinase ou fibrinolysine :**

La fibrinolysine est une protéine thermolabile et antigénique. Elle est capable de métaboliser le plasminogène en plasmine et ainsi induire la fibrinolyse (**MÖLKÄNEN, 2002**).

En conditions physiologiques, ce mécanisme est associé à celui de la coagulation pour éviter l'apparition de thromboses. Dans le cas d'une infection à *S. aureus*, la fibrinolysine perturbe cet équilibre en favorisant la fibrinolyse et entraîne des saignements. Parallèlement, la fibrinolysine possède la capacité de se lier aux défensines et de former un complexe avec celles-ci inhibant leur activité bactéricide (**JIN , FOSTER , 2004**).

### C. Fatty acid modifying enzyme (FAME) :

Une enzyme modifiant les acides gras (*fatty acid modifying enzyme*) est exprimée par 80% des souches de *S. aureus*. Elle semble constituer un facteur de virulence important dans les abcès par modification des lipides antibactériens de l'hôte (KATAYAMA , 2000).

### D. Catalase :

La catalase convertit le peroxyde d'hydrogène produit par les neutrophiles en molécules d'eau et d'oxygène. Elle empêche ainsi la formation de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie et améliore ainsi sa survie dans le phagocyte (MANDEL . 1975).

En réalité, il semblerait que la catalase soit nécessaire à la prolifération intracellulaire plutôt qu'à la survie à proprement parler. En effet, Martinez et collaborateurs ont montré que la survie intracellulaire de *S. aureus* dans des macrophages murins ou des cellules épithéliales bovines était similaire entre la souche mutante pour la catalase et la souche sauvage. En revanche, l'absence de catalase est associée à une inhibition de la prolifération intracellulaire dans les cellules épithéliales bovines (MARTINEZ –PULGARIN ,2009).

### E. Hyaluronidase :

La hyaluronidase est une enzyme extracellulaire thermolabile qui digère l'acide hyaluronique. Cette dépolymérisation de l'acide hyaluronique, substance fondamentale de la matrice du tissu conjonctif de l'hôte, contribue au processus infectieux en favorisant la dissémination via la dégradation des tissus .Au sein du genre *Staphylococcus*, seule *S. aureus* possède cette enzyme (FARREL, 1995).

### F. Protéase :

Les protéases retrouvées chez *S. aureus* regroupent les métalloprotéases, les thiols protéases et les sérines protéases. Parmi ces dernières, les mieux décrites sont les protéases glutamate dépendantes dont la protéase V8, ou glutamyl-endopeptidase qui clive les polypeptides préférentiellement après un glutamate mais aussi, plus rarement, après un aspartate. Initialement identifiée chez la souche *S. aureus* V8, il est maintenant établi qu'elle est exprimée par 67% des souches virulentes (ARVIDSON , 1973 ET DRAPEAU,1978).

Lors de l'infection, elle peut cliver certaines protéines de l'hôte comme les chaînes lourdes des Immunoglobulines, indépendamment de leur classe (PROKESOVA, 1992) ou l'inhibiteur de

protéase  $\alpha 1$ , induisant une augmentation de l'activité protéolytique de l'hôte (**POTEMPA , 1986**). Elle assure également la protection de *S. aureus* en clivant certains peptides antimicrobiens cationiques tels que la cathélicidine LL- 17 produite par les kératinocytes et les neutrophiles (**SIEPRAWASKA-LUPA , 2004**).

Parallèlement, la protéase V8 agit également sur les protéines bactériennes elles-mêmes, notamment par clivage de la coagulase liée, entraînant une diminution de l'adhérence aux cellules hôtes et donc une meilleure dissémination (**McGaven, 1997**). En terme de pathogénicité, il a été montré qu'un mutant *S. aureus* n'exprimant plus la protéase V8 présentait une virulence atténuée dans trois modèles murins d'infection différents (**COULTER et al 2004**).

#### **G. Désoxyribonucléase thermostable :**

C'est une enzyme thermostable responsable de l'hydrolyse de l'ADN de cellule de l'hôte (**Kumar et al., 2009**). 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, alors que celle des autres espèces bactériennes est thermolabile. Ces nucléases interviennent dans la formation des lésions (**GUIRAUD et al, 2004**).

#### **H. $\beta$ -lactamases :**

Elles inactivent les  $\beta$ -lactamines et jouent un rôle important dans la résistance des souches staphylocoques à ces antibiotiques (**MOTAMEDI et al.2010**).

#### **I. Lipases :**

Les principales lipases sont la glycéroester hydrolase (gène *geh*) et une estérase (gène *lip*) qui hydrolysent respectivement les chaînes longues et les chaînes courtes des triacylglycérols (**FISCHETTI et al 2006**).

Les lipases ont démontré un chimiotactisme envers les granulocytes et permettent une diminution de la phagocytose (**ROLLOF et al., 1988**). L'association des lipases et d'une enzyme appelée FAME pour *Fatty Acid Modifying Enzyme*, capable d'estérifier les acides gras en cholestérol, permet de favoriser l'entrée de la bactérie au niveau cutanée.

En effet, les acides gras retrouvés dans les abcès ont montré des propriétés toxiques pour *S. aureus*. Leur estérification abolit cet effet et permet à la bactérie de coloniser plus aisément les lésions cutanées (**CHAMBERLAIN & BRUEGGEMANN, 1997 ; LU et al., 2012**).

## **J. Phosphatases :**

Les phosphatases alcaline et acide (PH optimaux 10.8 et 5.2) sont localisées sur la membrane cytoplasmique ou l'acide teichoïques. Leur rôle physiologique n'est pas connu. Seule la phosphatase acide est partiellement libérée dans le milieu (AVRIL et al, 1992)

### **IV.1.4.2. Toxines :**

Les toxines sont des protéines, sécrétées par les bactéries, qui vont agir à distance du site infectieux et provoquer des syndromes variés. De nombreuses toxines peuvent être produites par les staphylocoques.

#### **A. Hémolysines ou staphylolysines :**

Les *S. aureus* peuvent également sécréter des hémolysines. Les *Staphylococcus* peuvent produire au moins quatre différentes hémolysines, soit l'alpha, la bêta, la gamma et la delta. Pour ce qui est des *S. aureus*, la plupart des souches vont sécréter les hémolysines (toxines) alpha, bêta et delta (Cohen, J. O. 1972).

Elles vont former des pores au niveau de la membrane des globules rouges et autres types cellulaires et ainsi rendre disponibles plusieurs nutriments pour la bactérie (SNEATH, 1986). L'alpha toxine est une exoprotéine qui peut être présente chez les *S. aureus*. Elle peut détruire les neutrophiles ou diminuer leur capacité à attaquer la bactérie (SALYERS et al . 2002).

Cette toxine est une protéine sécrétée ayant des propriétés hémolytiques, cytotoxiques, dermonécrotiques et létales pour les plaquettes sanguines, les monocytes et les cellules épithéliales. Elle est responsable de la zone claire de l'hémolyse bêta lorsque la bactérie est cultivée sur gélose sang (COHEN, 1972). L'alpha toxine forme des pores dans la membrane cellulaire des cellules humaines et favorise la dissémination des bactéries à distance. En causant ainsi des dommages à la cellule, elle déclenche la production de cytokines et contribue ainsi au choc toxique lors de l'infection (SALYERS, et al 2002). Elle est considérée comme l'un des agents bactériens toxiques le plus largement rencontrée par l'organisme humain. Les gènes codant pour cette toxine sont quant à eux situés sur le chromosome bactérien (COHEN, 1972).

#### **B. La leucocidine de Panton Valentine (PVL) :**

La leucocidine *PVL* est une toxine synergohyménotrope composée de deux sous-unités protéiques : *LukF-PV*, 34 kDa et *LukS-PV*, 32 kDa.

Ces deux composés sont capables de s'assembler en oligomères et de se fixer spécifiquement sur la membrane des cellules phagocytaires de l'humain et du lapin mais pas sur celles des rongeurs ou des macaques (**WOODIN.1960 ; SPAAN.2013**).

La toxine appartient à la famille des bêta-PFTs (*beta-barrel pore-forming toxins*) comme les autres enzymes cytolytiques des staphylocoques, l' $\alpha$ -hémolysine par exemple. Ces molécules s'assemblent dans le milieu extérieur pour former de grands ensembles protéiques capables de s'enchâsser dans la bicouche phospholipidique des membranes après liaison avec un récepteur spécifique. Ces multimères forment des pores capables de laisser passer les ions calcium à travers les membranes des cellules. Ce mécanisme semble être la base de la cytotoxicité de la PVL (**MILES.2002**).

Le complexe viendrait se fixer à la paroi des polynucléaires, des macrophages et des monocytes suggérant un récepteur d'origine myéloïde (**GAUDUCHON .2001**).

La toxicité cellulaire de la PVL s'exprime de deux façons. A faible concentration, elle a essentiellement une activité pro-apoptotique sur les polynucléaires. L'apoptose est déclenchée par la voie mitochondriale par ouverture de pores directement sur les mitochondries. Pour des concentrations plus élevées, il semblerait que l'effet dominant de la PVL soit la nécrose (**GENESTIER.2005**).

### **C. Les toxines pyrogènes :**

Il existe deux toxines pyrogènes, mitogènes, aspécifiques et antigéniques réparties en deux sérotypes A et B. Ces toxines sont impliquées dans les fièvres scarlatiniformes staphylococciques (**AVRIL et al, 2000**).

### **D. Les superantigènes :**

En situation normale, les lymphocytes T4 (LT4) reconnaissent les antigènes présentés à la surface d'une cellule présentatrice d'antigène par le CMH de classe II. La formation d'un complexe tri-moléculaire (complexe TCR desnLT4 + antigène étranger + CMH II) induit par conséquent l'activation ciblée de ces lymphocytes T4. Un superantigène est une protéine bactérienne capable d'établir une interaction entre la molécule de CMH de classe II (domaine HLA-DR) du macrophage et la chaîne V-bêta du récepteur cellulaire des lymphocytes T (TCR), mais au niveau de sites externes à celui de l'antigène et avec une affinité importante (**SCHLIEVERT .2007**).

*S. aureus* produisent trois types de superantigènes :

- **Toxine du syndrome du choc toxique :**

La toxine *TSST-1* a été reconnue comme la cause majeure du syndrome de choc toxique staphylococcique TSS, caractérisée par une fièvre, une hypotension, desquamation. La TSST-1 est une protéines extracellulaire a unique chaine appertenant à une grande famille d'exotoxine pyrogenes produite par plusieurs souches de *S. aureus* (NAGASE et al., 2002).

TSST-1 est la seule des PTSAGs à pouvoir traverser les membranes muqueuses (HAMAD et al., 1997). L'activation des cellules T par les PTSAGs est généralement considérée comme une cause de choc mortel chez les patients avec un syndrome du choc toxique, chez qui ces toxines agissent en tant que super-antigènes (MIETHKE et al., 1993).

- **Toxines exfoliatines :**

Certaines souches de *S. aureus* (environ 5%) secrètent une toxine à tropisme cutané: la toxine épidermolytique ou exfoliatine. On distingue 2 sérotypes A et B: le gène codant le sérotype A est chromosomique (90 % des exfoliatines) et celui codant le sérotype B est plasmidique (4 à 5 % des exfoliatines). Les 2 sérotypes peuvent être produits par une même souche (AVRIL et al., 1992).

Toxines épidermolytiques possédant une activité mitogène sur les lymphocytes T ; responsable de staphylococcies cutanées bulleuses que l'on observe parfois au cours des septicémies à staphylocoque et au cours de l'impetigo (ALOMAR, 2007).

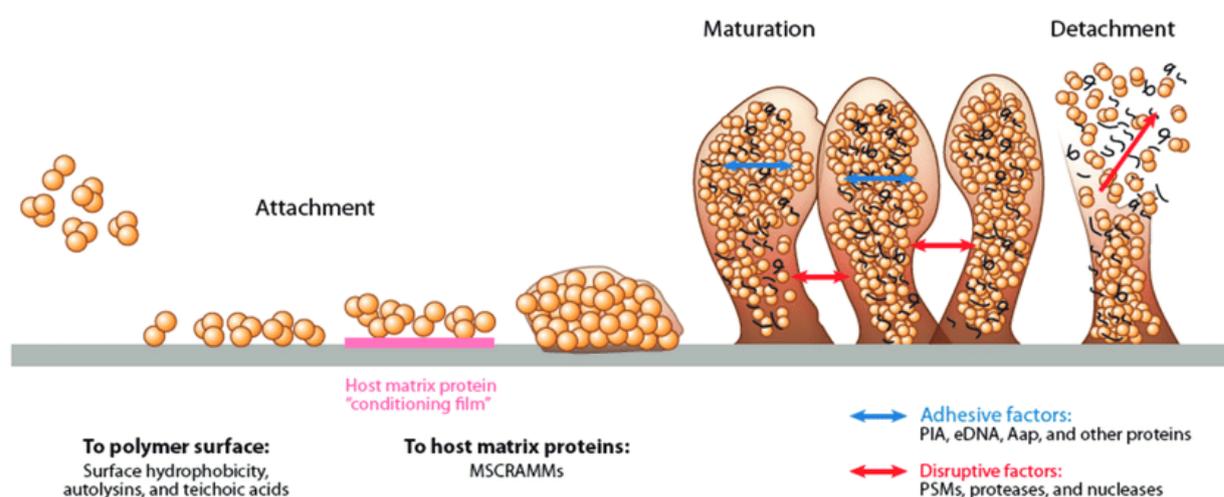
- **Entérotoxines :**

Les entérotoxines staphylococciques sont de potentiels agents d'intoxication alimentaire staphylococcique suite à la consommation d'aliments contaminés (elles sont émétisantes, avec ou sans diarrhée). Elles sont thermostable, résistants aux enzymes protéolytiques et assez stables sur une large gamme de pH (BENDAHOU et al., 2009 ; DI GIANNATAL et al., 2011).

Les propriétés biologiques des entérotoxines peut rester inchangé après pasteurisation (ASAO et al., 2003 ; HOLECKOVA et al., 2004). Selon Anderson et al. (1996), l'entérotoxine A (SEA), par exemple, réserve certaines de ses activités biologiques après 28 min à 121°C. La production d'entérotoxines staphylococcique peut commencer à partir d'une faible concentration bactérienne (10<sup>3</sup>/g) après une incubation de 2h à 37°C. chez l'humain, les symptômes se manifestent après ingestion d'une petite quantité de toxine (0.5ng/ml) (BALABAN et al., 2000 ; LE LOIR et al., 2003 ; DI GIANNATAL et al., 2011).

## V. Formation de biofilm :

Les staphylocoques sont reconnus comme étant la principale cause des infections associées à la formation de biofilm. La présence fréquente de la bactérie sur la peau lui offre une porte d'entrée efficace lors de l'implantation de matériel médical à demeure comme les cathéters ou les prothèses. Le biofilm formé alors sur ces surfaces garantit la protection de la bactérie contre le système immunitaire et les antibiotiques et offre à la bactérie la possibilité de se disséminer dans l'organisme. La biosynthèse du biofilm est définie par 3 étapes-clés : l'attachement primaire, la maturation et le détachement pour former de nouveaux foyers infectieux (O'TOOLE et al., 2000) (Figure 3). Un grand nombre de facteurs exprimés par *S. aureus* sont essentiels à chaque étape pour permettre l'élaboration de cette structure complexe.



**Figure 06 : Étapes de formation du biofilm (d'après Otto et al., 2012).**

La première étape de formation du biofilm est l'étape d'attachement aux polymères de surface ou à la matrice extracellulaire de l'hôte qui fait intervenir plusieurs facteurs de la surface (hydrophobicité) mais également de la bactérie (autolysines, acides teichoïques, MSCRAMMs). L'agrégation des bactéries conduit à la maturation du biofilm. Cette maturation, médiée par des forces adhésives (PIA, ADNe et autres protéines) et des forces disruptives (PSM, Protéases, Nucléases) permet la formation de canaux, apportant les nutriments aux cellules des couches inférieures. Lorsque le biofilm mature est formé, des amas bactériens se détachent pour former des foyers infectieux secondaires.

### V.1. Rôle du Biofilm in vivo :

Le biofilm est un acteur de la persistance de *S. aureus*. L'organisation multi-cellulaire permet aux bactéries de résister aux environnements délétères et de coloniser de nouvelles niches (HALL et al, 2005). De nombreuses bactéries sont responsables d'infections via la formation de biofilm.

Les biofilms à *S. aureus* sont impliqués dans de multiples infections : ostéomyélites, infections sur implants médicaux, endocardites, infections oculaires ou encore parodonties (ARCHER et al., 2011).

La grande difficulté est l'élimination de ces bactéries de part leur résistance aux antibiotiques. Les bactéries des couches inférieures représentent une population en dormance, peu actives métaboliquement et qui sont pas en contact direct avec le milieu environnant. Ces facteurs limitent la diffusion des antibiotiques et contribuent à la résistance (HALL et al, 2009).

De la même manière, les défenses de l'hôte sont inefficaces contre les bactéries organisées de cette façon. Les leucocytes sont capables de pénétrer dans le biofilm grâce aux canaux mais les bactéries agglomérées dans la matrice polysaccharidique ne sont pas reconnues et la phagocytose ne peut avoir lieu (LEID et al., 2002).

Aujourd'hui, la lutte contre ces structures reste donc difficile. Les antibiothérapies ont montrées leur limite. L'usage des antibiotiques est ainsi très souvent conjugué à une intervention chirurgicale (débridement, drainage, voire le retrait de l'implant).

## VI. Résistances aux antibiotiques :

La résistance bactérienne aux antibiotiques ou antibiorésistance est un phénomène de portée universelle, il n'a cessé d'augmenter de manière progressive au cours de ces dernières années. Ce problème de santé publique touche à la fois la santé animale et la santé humaine (FAYE, 2005).

La diffusion d'un grand nombre de bactéries pathogènes résistantes à plusieurs antimicrobiens a été reconnue par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme un problème sérieux en raison de la fréquence avec laquelle de nouveaux phénotypes de résistance apparaissent parmi les agents pathogènes et même chez les microorganismes commensaux (OIE, 2008).

L'histoire des résistances bactériennes commence avec l'utilisation des sulfamides dans les années 30. Les streptocoques résistants émergèrent et compliquèrent le traitement. Plus tard, dans la première année d'utilisation de la pénicilline, la résistance de certaines souches bactériennes apparait, détruisant la molécule par une pénicillinase.

D'abord découverte chez *Escherichia coli* (SANDERS, 1999), une enzyme ayant les mêmes propriétés était retrouvée peu après dans d'autres espèces, notamment chez les staphylocoques coagulase positifs.

L'augmentation des staphylocoques résistants à la pénicilline s'accrut dramatiquement en quatre ans : 14 % en 1944 et 59 % en 1948. Au moment où les autres antibiotiques (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol) apparaissent à la fin des années 40, la fréquence des staphylocoques résistants approchait de 70- 80 % (LEVY, 1984 ; LECLERCQ, 1999).

### VI.1. Origine de l'antibiorésistance :

On cite classiquement deux origines : résistance naturelle ou intrinsèque correspondant à la capacité de résister à la présence d'un antibiotique pour toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien. Habituellement le support de cette résistance est chromosomique.

On oppose à la résistance naturelle, propriété d'espèce ou de genre, la résistance acquise qui est une propriété de souche. Cette dernière correspond à la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce (SCHWARZ ET CHASLUS-DANCLA, 2001). Elle peut s'acquérir soit par mutation chromosomique qui est un phénomène spontané et rare et n'explique pas toutes les résistances rencontrées en clinique, soit par acquisition de matériel génétique exogène (PRESCOTT, 2000). La résistance acquise par transfert de matériel génétique représente 80 à 90 % des résistances acquises rencontrées chez les bactéries isolées en clinique.

Une place à part est conférée à la résistance par les biofilms. Dans des environnements alimentaires particuliers, le *S. aureus* peut développer des mécanismes particuliers de résistance aux antibiotiques comme la formation d'un biofilm en tant que réponse adaptative de protection des colonies. Ce type de résistance s'observe également lors des circonstances qui mettent en jeu des processus physiques pour la conservation alimentaire comme les traitements acides et les processus d'irradiation (Faye, 2005).

### VI.2. Mécanismes de l'antibiorésistance :

Sur le plan biochimique, 4 grands mécanismes d'action sont mis en jeu lors de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques (SCHWARZ ET CHASLUS-DANCLA, 2001) :

- ✓ Stratégie dite « offensive » par inactivation enzymatique de l'antibiotique.
- ✓ Stratégie dite « d'évitement » par modification de la molécule cible de l'antibiotique.
- ✓ Stratégie dite « de contournement » par shunt des voies métaboliques classiques.

- ✓ Stratégie dite « d'expulsion » par diminution de la perméabilité de l'antibiotique et par accélération du mécanisme d'efflux.

#### **VI.2.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines :**

*S. aureus* résiste à la pénicilline en hydrolysant le cycle  $\beta$ -lactame par production d'une pénicillinase plasmidique codée par le gène *blaZ*. En 1961, l'apparition de la résistance à la methiciline par acquisition du gène *mecA* porté par la *SCCmec* qui code pour une PLP2a ayant une faible affinité vis-à-vis des B-lactamines (**DUMITRESCU et al. 2010**).

#### **VI.2.2. Résistance aux tétracyclines :**

Deux types de mécanismes résistance ont été décrit, efflux actif des tétracyclines codé par le gène *tetK* ou bien protection de la cible codée par les gènes *tetO* ou *tetM* (**GRACE AND FETSCH 2018**).

#### **VI.2.3. Résistance à la mupirocine :**

La résistance du *S. aureus* à cet antibiotique est due à une mutation au niveau du gène *ileS* ou à l'acquisition du gène *mupA* ces deux mécanismes codent pour une isoleucyl-ARNt synthétase d'affinité réduite à la mupirocine (**CHATURVEDI et al. 2014**).

#### **VI.2.4. Résistance aux aminosides :**

*S. aureus* résiste à ces antibiotiques par production d'enzymes modificatrices d'aminoside. On retrouve 3 classes selon la réaction catalysée :

- ✓ Production d'une acetyltransférase responsable de l'acétylation du groupement NH<sub>2</sub>
- ✓ Production d'une phosphotransférase réalisant la phosphorylation du groupement-OH
- ✓ Production d'une nucleotidyltransférase responsable d'une nucléotidylation du groupement-OH (**Crossley et al. 1979**).

#### **VI.2.5. Résistance aux fluroquinolones :**

La résistance du *S. aureus* à cette famille d'antibiotique est basée principalement sur les mutations, soit au niveau du gène chromosomique *grlA* ou *grlB* de la topoisomérase IV ou bien par altération de la sous unité *gyrA* et *gyrB* de la gyrase. L'efflux est aussi responsable de la résistance des souches de *S.aureus* notamment la via pompe Nor A (**GRACE AND FETSCH 2018**).

**VI.2.6. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) :**

*S. aureus* résiste à ces antibiotiques par modification de la cible ribosomale. Les gènes *ermA*, *B*, *C*, *F*, *T*, *Y*, 33 codent pour une ARN méthylase qui inhibe la liaison des MLS par la modification des sites cible dans l'ARN23S (OTSUKA, 2007).

**VI.2.7. Résistance aux sulfamides et la triméthoprimé :**

*S. aureus* résiste à ces antibiotiques par divers mécanismes incluant une hyperproduction de la dihydroptéroate synthétase ou la dihydrofolate réductase ou des mutations au niveau du gène *dfr* (WERCKENTHIN et al. 2001).

**VI.2.8. Résistance aux glycopeptides :**

Les glycopeptides (vancomycine) inhibent la synthèse du peptidoglycane en se liant au dimère D-alanyl-D-alanine. La résistance du *S. aureus* à la vancomycine est rarement rencontrée en élevage. On retrouve deux mécanismes de résistance soit les molécules d'antibiotiques sont piégées par hyperproduction du D-alanyl-D-alanine dans la paroi, elle est due à une anomalie au niveau de la synthèse du peptidoglycane, elle est connue chez les souches Glycopeptide-Intermediate *S.aureus* (GISA) ou bien Vancomycine-Intermediate *S.aureus* VISA. Ou bien par l'acquisition du gène *vanA* qui code pour une molécule D-Lactate au lieu du D-Ala, ces souches sont nommées VRSA (vancomycine resistance *S.aureus*) (GRACE AND FETSCH 2018).

### ▽ Objectif :

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer la sensibilité de quelques souches de *S. aureus* isolées depuis des poissons frais vis-à-vis certains antibiotiques utilisés en médecine et de nous renseigner sur l'éventuel risque encouru par l'être humain en tant que consommateur de cette denrée alimentaire d'origine animale. Aussi, d'envisager des moyens pour limiter ou lutter contre l'antibiorésistance à *Staphylococcus aureus* responsables de plusieurs affections.

## I .MATERIELS ET METHODES :

Nous tenons à porter aux lecteurs que notre présente étude n'est qu'une suite à un projet de d'étude qui portait sur une étude bactériologique des souches de *S. aureus* isolées des poissons commercialisés dans la région de Tipaza et Alger (Les pêcheries de Bouharoune et Alger centre).

### I.1. Durée de l'étude :

Notre étude expérimentale a été réalisée durant la période allant du 10 septembre 2020 jusqu' au 08 Octobre de la même année.

### I.2. Lieu de l'étude :

Les analyses microbiologiques ont eu lieu au niveau du laboratoire d'HIDAOA à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.



**Photo 01** : Le laboratoire d'HIDAOA à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.  
(Photo personnelle, 2020)

### **I.3. Matériel de laboratoire :**

Nous avons utilisé pour l'antibiogramme :

- Boîtes de pétrie.
- Gélose Muller Hinton.
- Ecouvillons.
- Disques d'antibiotiques.
- Densitomètre (Equivalence de Mc Farland 0.5)
- L'eau physiologique.
- Incubateur.
- Pippete pasteur.
- Vortex.

#### **I.3.1. Les milieux de culture : (Annexe 1)**

Les milieux de culture utilisés sont :

- Gélose Chapman.
- Gélose Nutritive.
- Gélose Muller Hinton.

#### **I.3.2. L'échantillonnage :**

Durant notre travail, nous avons fait un choix de souches. Notre échantillonnage était de 37 souches de *Staphylococcus aureus* isolées depuis des poissons commercialisés dans certaines pêcheries appartenant aux deux wilayas : Tipaza et Alger.

##### **I.3.2.1. Nature des échantillons :**

Le présent travail repose sur l'analyse de 37 échantillons.

##### **I.3.2.2. Sites de prélèvement (ou description de la région d'étude) :**

Notre étude a été effectuée aléatoirement au niveau des pêcheries et ce, pour 37 échantillons répartis comme suit :

**Tableau 04** : La répartition de la récolte des échantillons par site de prélèvement.

Ports	Nombre d'échantillons
Bouharoune	21
La pêcheirie (Alger centre)	16

#### I.4. Préparation de l'échantillon :

Avant de commencer notre étude sur la résistance des souches de *staphylocoques aureus* isolées; nous avons commencé par deux étapes consécutives et primordiales : La revivification et la purification des souches déjà isolées.

##### I.4.1 : La revivification des souches :

Une étape qui consiste en un repiquage de souches. Plus exactement, ça correspond à un prélèvement de quelques colonies d'une culture de bactéries poussées sur gélose nutritive inclinée ; afin de les transférer sur un milieu solide où elle continuera sa croissance.

La revivification est nécessaire pour obtenir un nombre de bactérie correcte pour les analyses. Il se fait par la culture de bactéries dans un milieu nutritif à 37°C pendant 24 heures. Cela permet de :

- Isoler les bactéries.
- Identifier une bactérie en cas d'une souche pure.
- Réaliser un antibiogramme à partir d'une colonie pure afin de déterminer la sensibilité de la bactérie et de trouver un traitement adapté à une infection.
- Avoir un nombre important de bactéries à partir d'une colonie pure pour d'éventuelle utilisation.

La revivification nécessite des conditions de travail rigoureuses tel que la stérilisation du matériel et l'hygiène du manipulateur pour éviter toute contamination de la souche en question ainsi que de l'environnement y compris le manipulateur.

Afin de revivifier nos souches de *S. aureus*, nous avons fait recours à des techniques d'ensemencement et de repiquage sur un milieu de Chapman déjà préparé et à partir des souches déjà cultivées et bien conservées.

Deux ou trois colonies ont été prises à partir de ces souches à l'aide d'une pipette pasteur et ensuite ensemencé sur le milieu de Chapman avec des stries en zigzag tout en respectant les conditions d'hygiène.

#### **I.4.2 : Purification des souches :**

Afin d'avoir des résultats correctes et précis sur la réalisation de l'antibiogramme des *S. aureus* ; nous avons purifié la souche cultivée sur le milieu de Chapman par repiquage sur gélose nutritive pour éviter toute sorte de contamination ou la non-homogénéité de la souche.

Alors on prend les colonies cultivées sur le milieu de Chapman et on les ensemence avec une pipette pasteur sur gélose nutritive. Après incubation à 37C° pendant 24 heures, nous obtiendrons des souches de *S. aureus* pure.

#### **I.5. L'antibiogramme :**

L'antibiogramme est une technique de diagnostic de laboratoire qui vise à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis de plusieurs antibiotiques.

Après ensemencement de la culture bactérienne, nous allons déposer des différents antibiotiques et après 24H observé les conséquences sur le développement et la survie de cette dernière.

##### **I.5.1. Antibiotiques testés :**

La sensibilité des différentes souches a été déterminée essentiellement vis-à-vis de douze antibiotiques : la pénicilline (P10), l'oxacilline (OX1), la gentamicine (CN10), la néomycine (N30), le chloramphénicol (C30), ofloxacine (OFX), vancomycine (VA), cefoxitine (FOX), ampicilline (AMP10), doxycycline (DO), piperacillin (PIP75), céfalotine (CEP30).

Ces 12 antibiotiques ont également été choisis de manière à représenter six familles importantes, ayant des mécanismes d'action et cibles différentes, à savoir, les Bêtalactamines, les aminosides, les cyclines, les quinolones, les Phenicoles et les glycopeptides (**Annexe2**).

### **I.5.2. Technique :**

La suspension bactérienne doit être homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0,5 Mc Farlan. L'ajustement s'opère en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau physiologique stérile.

Le milieu Mueller-Hinton (MH) (**Annexe1**) est coulé en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm, son ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée sèche de Mueller-Hinton, de haut en bas, en stries serrées.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

### **I.5.3. Application des disques d'antibiotiques :**

Six disques d'antibiotiques sont déposés par boîte, ils sont espacés de 24 mm, centre à centre.

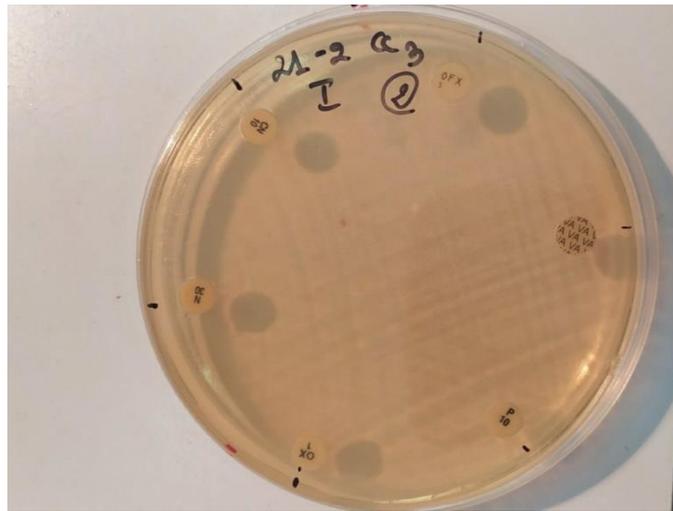
Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince stérile. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

Les boîtes sont immédiatement incubées pendant 18 heures en atmosphère ordinaire à 37°C.

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant sur la table de lecture, ensuite la bactérie est classée dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante (**Annexe3**).

Une souche de contrôle est *Staphylococcus aureus* traitée dans les mêmes conditions que la souche à tester. Ce contrôle valide le résultat du test.



**Photo 02 :** Technique d'antibiogramme (Photo personnelle 2020).

#### I.5.4. Lecture des résultats :

La lecture des résultats se fait à l'aide d'une règle pour mesurer le diamètre des zones d'inhibition autour du disque.



**Photo 03 :** Résultat de l'antibiogramme (zones d'inhibition) (Photo personnelle 2020).

➤ **Interprétation des résultats :**

Il existe ensuite trois interprétations différentes :

✓ La bactérie est **sensible l'antibiotique** : il suffit d'une faible concentration de l'antibiotique en question pour tuer les bactéries et la dose nécessaire est administrable chez l'homme.

✓ La bactérie est **résistante l'antibiotique** : la dose nécessaire pour tuer les bactéries est beaucoup trop élevée pour être supportée chez l'homme sans effets secondaires majeurs. Un tel antibiotique ne peut donc être utilisé pour traiter l'infection.

✓ La bactérie est **intermédiaire l'antibiotique** : la dose nécessaire pour tuer les bactéries est tantôt administrable chez l'homme, tantôt dangereuse. Il faut donc considérer que la bactérie est résistante in vivo, c'est-à-dire dans l'organisme.

**Tableau 05** : L'interprétation des résultats pour chaque antibiotique selon l'Addendum 2014 (Réseau Algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques).

Antibiotique	Diamètre d'inhibition (mm)		
	Sensible	Intermédiaire	Résistante
Pénicilline (P10)	>37	26-37	<26
Oxacilline (OX1)	>24	18-24	<18
Gentamicine (CN10)	>27	19-27	<19
Néomycine (N30)	>28	24-28	<24
Chloramphénicol (C30)	>26	19-26	<19
Ofloxacine (OFX),	>28	24-28	<24
Vancomycine (VA)	>21	17-21	<17
Céfoxitine (FOX)	>30	24-30	<24
Ampicilline (AMP10)	>35	27-35	<27
Doxycycline (DO)	>29	23-29	<23
Piperacillin (PIP75)	>33	25-33	<25
Céfalotine (CEP30)	>37	29-37	<29

L'antibiogramme permet de choisir le meilleur traitement antibiotique individualisé contre la souche bactérienne responsable de l'infection.

➤ **Le traitement des résultats :**

L'ensemble des données collectées ont été saisies dans un tableau Excel version 2016

## II. RESULTATS :

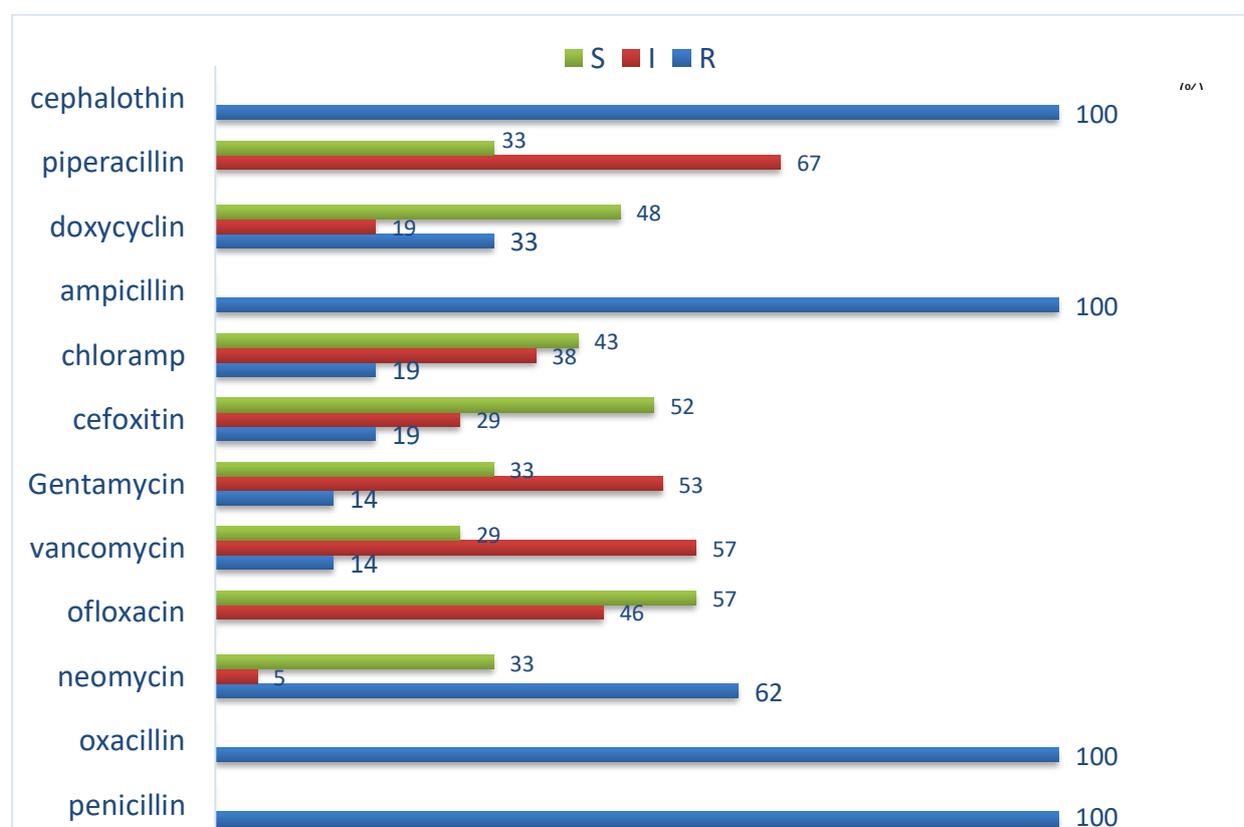
Dans cette partie d'étude, nous développons le taux de résistance bactérienne des souches de *S. aureus* isolées depuis des poissons et ce, vis à vis les antibiotiques suivants : : la pénicilline (P10), l'oxacilline (OX1), la gentamicine (CN10), la néomycine (N30), le chloramphénicol (C30), ofloxacine (OFX), vancomycine (VA), cefoxitine (FOX), ampicilline (AMP10), doxycycline (DO), piperacillin (PIP75), céfalotine (CEP30) par région, savoir la région de Bouharoune et la région d'Alger centre (la pêche) .

Au fur et à mesure nous procédons la discussion des résultats.

### II.1. Sensibilité de quelques souches de *S. aureus* isolées des poissons aux antibiotiques par région :

#### II.1.1. Sensibilité des souches de *S. aureus* isolées de la région de Bouharoune :

Les résultats de l'antibiogramme des souches de *S. aureus* isolées des poissons commercialisés à la région de Bouharoune sont illustrés dans la figure 7 :



**Figure 07 :** Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées des poissons commercialisés dans la région de Bouharoune (Tipaza)

D'après la figure ci-dessus nous pouvons constater que toutes (100%) les souches de *S. aureus* isolées et testées ont été résistantes à la pénicilline, l'oxacilline, l'ampicilline et la céfalotine. Ceci confirme l'importante résistance des souches de *S. aureus* aux Bêta-lactamines (**Hachemi A. et al. 2019**). La deuxième importante résistance testée était la néomycine avec un taux de 62% ce qui peut nous renseigner sur une résistance élevée aux aminosides. Il s'agit ici de deux familles d'antibiotiques contre lesquelles, nos souches ont été très résistantes.

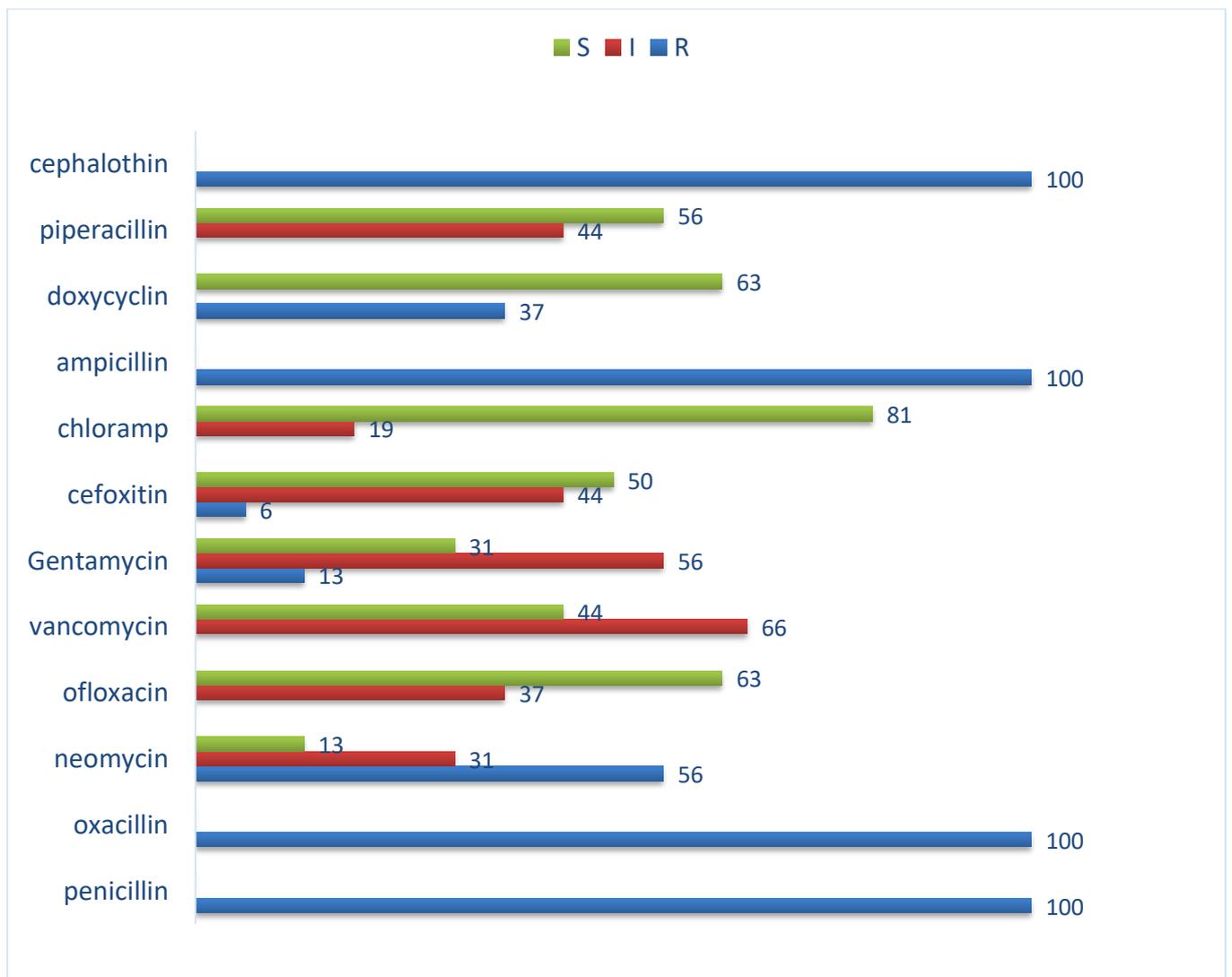
La résistance au chloramphénicol par contre, a été testée et le résultat confirme l'utilisation du chloramphénicol comme antibiotique. Certes, d'une façon non contrôlée et ce, malgré son interdiction. Le taux enregistré était de 19% ; avec 38% de souches de résistance intermédiaire.

Le taux de sensibilité à l'ofloxacine dans notre étude était de 57%, suivi par la cefoxitine 52% et la doxycycline 48%. Alors que ces mêmes souches sont intermédiairement sensibles à la vancomycine, gentamycine et la piperacillin, avec 57%, 53%, et 67% respectivement.

### **II.1.2. Sensibilité des souches de *S. aureus* isolées des poissons commercialisés dans la région d'Alger centre (la pêche) :**

Les résultats de l'antibiogramme des souches de *S. aureus* isolées des poissons commercialisés dans la région d'Alger centre (la pêche) sont illustrés dans la figure 8 :

Les résultats de la région d'Alger centre obtenus lors de notre étude enregistrent encore une fois une résistance absolue (100%) des souches de *S. aureus* à la pénicilline, l'oxacilline, l'ampicilline et la céfalotine, et une résistance à (56%) à la néomycine. Ce qui confirme la résistance des souches de *S. aureus* isolées des ports aux Bêta-lactamines. La sensibilité par contre a été élevée contre le chloramphénicol (83%) ce qui est logique, cette fois-ci à cause de sa non- utilisation ou du moins, confirme le contrôle et la veille des services vétérinaires par rapport à son utilisation, contrairement au port de Bouharoune. Un antibiotique avec une utilisation prohibée vue sa toxicité élevée pour le foie et les reins et sa particularité oncogénique.



**Figure 08** : Histogramme de sensibilité/ résistance aux antibiotiques des souches de *S.aureus* isolées des poissons Commercialisés à la région d'Alger centre (la pêcherie).

Toujours par rapport à nos souches testées, nous avons aussi relevé des taux de sensibilité non négligeables pour l'ofloxacine (37%) et la doxycycline (63%). Par contre nous avons enregistré des taux de sensibilité de (56%) et (50%) contre la piperacillin et la cefoxitine respectivement. En ce qui concerne la résistance intermédiaire nous avons trouvé des taux de 66% pour la vancomycine et 56% pour et la gentamycine.

Au cours de notre étude expérimentale, nous avons pu isoler 31 profils différents d'antibiorésistance ; qui sont les suivants et qui représentaient toutes un profil de multi-résistance :

**Tableau 06** : les profils de résistance rencontrés dans notre étude (souches d'Alger centre)

Lieu	Résistance (Familles d'ATB)	Profils de résistance
PORT D'ALGER	Multi-résistante (5)	P-OX-N-Of-VA-G-CN-C-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-OF-CN-A-CEP
	Multi-résistante (5)	P-OX-N-Of-G-CEF-CN-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (5)	P-OX-N-VA-G-CN-C-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-Of-VA-A-PIP-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-Of-VA-CEF-A-CEP
	Multi-résistance (3)	P-OX-N-G-A--PIP-CEP
	Multi-résistance (3)	P-OX-N-G-CEF-A-D-PIP-CEP
	Multi-résistance (3)	P-OX-N-VA-G-A-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-Of-VA-G-A-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-Of-VA-G-CEF-A-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-VA-G-CEF-A-DO-PIP-CEP
	Deux-résistance (2)	P-OX-VA-A-CEP
	Deux-résistance (2)	P-OX-N-A-CEP
Deux-résistance (2)	P-OX-N-G-CEF-A-DO-PIP-CEP	

Quinze (15) profils ont été trouvés dans les échantillons commercialisés dans la région d'Alger avec un taux de 49%.

Lieu	Résistance (Familles d'ATB)	Profils de résistance
PORT DE TIPAZA	Multi-résistante (6)	P-OX-N-O-VA-G-CEF-CN-A-DO-CEP
	Multi-résistante (5)	P-OX-N-Of-VA-G-CEF-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (5)	P-OX-N-VA-G-CEF-CH-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (5)	P-OX-N-Of-VA-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (5)	P-OX-N-Of-VA-G-CEF-CH-A-PIP-CEP
	Multi-résistante (5)	P-OX-N-VA-G-CEF-CH-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (5)	P-OX-N-VA-G-CH-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-G-CN-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-Of-VA-A-CEP
	Multi-résistance (3)	P-OX-N-O-A-CEP
	Multi-résistance (3)	P-OX-N-VA-G-A-CEP
	Multi-résistance (3)	P-OX-VA-CH-A-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-VA-G-A-DO-PIP-CEP
	Multi-résistante (4)	P-OX-N-VA-G-CEF-A-CEP
	Deux-résistance (2)	P-OX-N-G-A-CEP
Deux-résistance (2)	P-OX-N-G-A-PIP-CEP	

**Tableau 07** : les profils de résistance rencontrés dans notre étude (souches de Bouharoune)

Seize (16) profils de résistance ont été isolés depuis les échantillons de Tipaza (51%).

L'étude a révélé 31 souches multirésistantes (84%) contre 00 souches avec une seule résistance (00%) ; et 5 souches avec deux résistance (16%).

Des études similaires ont étudié l'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées depuis du poisson et ont également souligné la résistance aux bêta-lactamines. Nous citons ici l'étude menée en Iran, de **(Noushin A. et al.; 2015)** qui ont trouvé une résistance de (79.1%) à la pénicilline G et à l'ampicilline. Des résultats qui malgré le taux moins important au notre mais reste très significatif en matière de résistance aux Bêta-lactamines. La même étude a enregistré un taux de sensibilité élevée à l'oxacilline (77,2%) et une sensibilité élevée à la gentamycine (aminosides) par un taux de (95.2%).

Une autre étude en Chine, menée par **(Dongli R., et al., 2017)** a trouvé une résistance très élevée à l'ampicilline et la pénicilline G avec un taux de (88.2%) et une sensibilité plus élevée à la cefoxitine (91,6%) avec une sensibilité élevée à la gentamycine (95%). La sensibilité au chloramphénicol a été très élevée dans les deux études mentionnés ci-dessus ce qui confirme sa non-utilisation dans le contexte Iranien, et Chinois.

### III. DISCUSSION

Au cours de notre travail expérimental et sur la base de nos résultats observés lors de notre étude expérimentale qui a ciblé des souches de *S. aureus* isolées depuis des produits de pêche (Poissons), nous nous retrouvons face à des souches résistantes à la plupart des Bêta-lactamines tels que la pénicilline, l'oxacilline, l'ampicilline et la céfalotine ce qui peut être expliqué par leur utilisation importante voire massive les rendant inefficace contre le *S. aureus*.

Une utilisation thérapeutique non seulement en médecine animale mais également en médecine humaine ; vu que les souches isolées lors de notre étude, peuvent avoir comme origine, trois sources différentes ; une contamination du milieu (L'eau polluée et le matériels) mais également une contamination humaine (Main d'œuvre et vendeurs) ; en plus de la contamination du poisson lui-même.

A souligner qu'en Algérie les bêta-lactamines y compris la Pénicilline G sont largement utilisés dans le traitement sans aucun test de la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de ces antimicrobiens **(Belmamoun, 2016)**.

Des hypothèses peuvent être avancées afin d'expliquer nos résultats en ce qui concerne les taux de résistance des souches de *S. aureus* :

- En premier lieu, la contamination du milieu : La source la plus incriminée est la contamination de l'environnement par les sources agricoles qui sont augmentés par temps de pluie en raison des ruissellements au niveau des sièges des exploitations et dans les champs sur lesquels les effluents sont épandus (**BLAUSTEIN et al 2016**) en association avec la formation du biofilm résistant.
- En deuxième lieu, nous pouvons penser à la pollution des eaux de mer par la source d'origine urbaine, et les sources environnementales. Et ce par le rejet des eaux extrêmement polluées de oued El Harrach dans la mer en ce qui concerne le port d'Alger, qui augmente la fréquence de contamination de cette denrée alimentaire ; il dépasse de 30 fois les normes acceptées et 400 fois les normes de l'OMS (organisation mondiale de la santé). En effet, il traverse sur ses 9 derniers kilomètres, jusqu'à son embouchure, un important tissu urbain et industriel.
- En troisième lieu, nous pouvons émettre l'idée que cela peut aussi être expliquée par les conditions météorologiques (Pluviométrie, Température et Humidité...), aussi, par les paramètres biochimiques, tels que le pH.

En ce qui concerne la deuxième source possible de souches multirésistantes, qui est la contamination humaine ; nous pouvons évoquer l'existence d'un problème réel d'hygiène dans les opérations que subit notre denrée alimentaire dès la sortie du poisson de l'eau jusqu'à l'arrivée aux consommateurs ce qui fera d'elle une possible source de contamination bactérienne, sans omettre la possible contamination du poisson dans son milieu naturel ; nous pouvons citer :

- Le manque d'hygiène corporel et vestimentaire du personnel et les matériaux traditionnels utilisés pendant la pêche présentent un principal facteur de contamination du poisson.
- La contamination après la pêche est inévitable non seulement si les conditions d'hygiène étaient inadéquates, mais aussi lors de la commercialisation du poisson qui doit respecter les normes mondiale (arrêté de Décembre 1992) : la température du poisson frais doit être à la température de la glace fondante (entre +0°C et +2°C) en mettant en contact le poisson avec de la glace broyée dans une caisse pour empêcher le développement bactérien.

L'ensemble de toutes ces lacunes ainsi que l'utilisation anarchique et les prescriptions inappropriées des antibiotiques aussi bien en médecine humaine qu'animale et surtout le non-respect des règles du bon usage des antibiotiques par ignorance et non sensibilisation des patients ne fait qu'augmenter le problème de l'antibiorésistance des bactéries commensales et même

environnementale. Egalement, elles entraînent des risques pour la santé publique si des actions correctives ne sont pas mises en œuvre et nous confirme la complexité de l'origine des souches isolées et explique aussi les taux de résistances très élevés pour les antibiotiques testés.

Au finale, nous tenons à souligner le danger possible d'une transmission de souches antibiorésistantes depuis l'homme et l'animal terrestre (Animaux et leurs déchets, les pêcheurs, les vendeurs etc.) à l'environnement marin ; surtout face aux traitements anarchiques par les antibiotiques (Ex : le non-respect des délais d'attente) et abusifs (Amélioration des performances zootechniques des animaux au détriment de la santé publique) et qui par la suite, sont à l'origine des échecs thérapeutiques et d'augmentation du pourcentage de létalité par les affections d'origine bactériennes.

## Conclusion

L'utilisation des antibiotiques en clinique depuis les années 1940, constitue une étape importante dans l'histoire de la médecine. Leur usage en médecine humaine et vétérinaire dans un but thérapeutique a constitué pendant longtemps une arme efficace contre de nombreux germes pathogènes. Cependant, l'usage généralisé, voire abusif de certains antibiotiques, en traitement curatif, préventif ou en supplément dans l'alimentation animale a conduit au développement de populations de germes antibiorésistantes.

Dans notre étude nous avons fixé l'objectif d'évaluer la sensibilité à certains antibiotiques des souches de *S. aureus* que nous avons isolés à partir du poisson commercialisé dans la région de Bouharoune et la pêcheurie ; les molécules testés étaient : la pénicilline, l'oxacilline, la gentamicine, la néomycine, le chloramphénicol, ofloxacine, vancomycine, ceftioxime, ampicilline, doxycycline, piperacillin, céfotaxime.

D'une manière globale nous avons eu des résultats très alarmants concernant la résistance aux antibiotiques et ce, pour les deux régions étudiées à savoir Alger et Tipaza. Notre étude expérimentale a pu révéler une résistance absolue pour quatre (04) molécules d'antibiotiques: la pénicilline, l'oxacilline, ampicilline, céfotaxime. Par contre l'ofloxacine et la doxycycline présentent les plus grands taux de sensibilité avec 63% pour les deux antibiotiques pour Alger et 57% et 48% pour Tipaza.

Des résultats qui mettent en avant l'anarchie dans les pratiques de soins, de prescriptions et d'usage des antibiotiques au niveau des services de santé humaine et en pratiques vétérinaires en Algérie et qui reflètent l'utilisation anarchique et abusive de ces antibiotiques et du risque d'échecs thérapeutiques qui en découlent.

Concernant le chloramphénicol, le résultat de résistance même faible, mais témoigne tout de même son utilisation illégale malgré sa toxicité élevée.

Ces résultats nous montrent que le *S. aureus* est une souche encore une fois, multi-résistante ; même si nous avons évoqué ici une toute autre denrée alimentaire sensée avoir le minimum de résistance bactérienne ;

Un réel danger avec impact certain sur la santé publique, surtout en absence de nouvelles molécules d'antibiotiques découvertes ces derniers temps et avec l'émergence et de la diffusion de l'antibiorésistance du *S. aureus* augmentant le pourcentage des échecs thérapeutiques et du nombre de létalité due à cet agent pathogène.

La résistance des isolats aux antibiotiques pourrait être transmise à l'homme par la consommation de produits alimentaires contenant ces bactéries multirésistantes. Ainsi, il est devenu nécessaire d'établir un contrôle actif contre les résistances aux antibiotiques dans les aliments afin de détecter toute augmentation et /ou émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques qui peuvent être transférées à d'autres bactéries (même commensales et environnementales).

Aussi, nous pouvons dire que la conservation d'un arsenal antibiotique efficace du moins pour les futures générations ; nécessite que toute utilisation d'un antibiotique soit raisonnée. Cette démarche repose sur un quadruple analyse : clinique, bactériologique, pharmacologique et toxicologique. En effet, pour que l'antibiothérapie soit efficace, il faut que les bactéries en cause soient sensibles à les molécules choisies, que l'antibiotique parvienne rapidement au site infectieux, et qu'il y persiste suffisamment longtemps à une concentration active. Cela revient à appliquer la règle de « frapper vite, fort et longtemps ».

Il s'agit ici de résultats qui nous incitent à approfondir la recherche et surtout de revenir sur l'origine des souches isolées et d'élargir l'éventail des antibiotiques testés.

Au finale, nous tenons à souligner le danger possible d'une transmission de souches antibiorésistantes depuis l'homme et l'animal terrestre à l'environnement marin ; surtout face aux traitements anarchiques par les antibiotiques et abusifs et qui par la suite, sont à l'origine des échecs thérapeutiques et d'augmentation du pourcentage de létalité par les affections d'origine bactériennes.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### A

**AFSSA.**, 2006. USAGES VETERINAIRES DES ANTIBIOTIQUES. RESISTANCE BACTERIENNE ET CONSEQUENCES POUR LA SANTE HUMAINE, MAISONS-ALFORT.

**ALOMAR JOMAA.2007.** ETUDE DES PROPRIETES PHYSIOLOGIQUES DE LACTOCOCCUS LACTIS ET LACTOCOCCUS GARVIEAE POUR LA MAITRISE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN TECHNOLOGIE FROMAGERE. THESE DE DOCTORAT EN PROCEDES BIOTECHNOLOGIQUES ET ALIMENTAIRES. INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE –NANCY, FRANCE.

**Andrade-Figueiredo M, Leal-Balbino TC.** CLONAL DIVERSITY AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS: HIGH PREVALENCE OF OXACILLIN-SUSCEPTIBLE MECA-POSITIVE STAPHYLOCOCCUS AUREUS (OS-MRSA) ASSOCIATED WITH CLINICAL ISOLATES IN BRAZIL. BMC MICROBIOL. 2016.

**ANDREMONT A.,** 2000. IMPACT DES ANTIBIOTIQUES SUR L'ÉCOLOGIE DE LA RESISTANCE BACTERIENNE, ROLE DU TUBE DIGESTIF.

**Anonyme:** EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0. Juillet 2017.

**ANSM** (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé)

**ANTIBIOTIQUE.EU** ,2014. LE MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES.

ANTIBIOTIQUES/(OFFSET)/1.

**ARVIDSON S.** THE FORMATION OF A CALCIUM-DEPENDENT EXTRACELLULAR PROTEOLYTIC ENZYME FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS. ACTA PATHOL MICROBIOL SCAND [B] MICROBIOL IMMUNOL. 1973.

**ASAO T., KUMEDA Y., KAWAI T., SHIBATA T., ODA H., HARUKI K., NAKAZAWA H., KOZAKI S.** 2003. AN EXTENSIVE OUTBREAK OF SFP DUE TO LOW-FAT MILK IN JAPAN: ESTIMATION OF ENTEROTOXIN A IN THE INCRIMINATED MILK AND POWDERED SKIM MILK. J. EPIDEMIOL. INFECT.

**AVRIL J.L., DABARNET H., DENIS F., ONTEIL H.** 1992. BACTERIOLOGIE CLINIQUE. 2EME EDITION.

**AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F. AND MONTEIL H.** (2003). BACTERIOLOGIE CLINIQUE. 3EME EDITION. ELLIPSES, PARIS.

### B

**BABA T., TAKEUCHI F., KURODA M.** 2002. GENOME AND VIRULENCE DETERMINANTS OF HIGH VIRULENCE COMMUNITY-ACQUIRED MRSA. LANCET.

**BALABAN N., RASOOLY A.** 2000. STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXINS. INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY.

**BECKER K., FRIEDRICH A.W., LUBRITZ G.** 2003. PREVALENCE OF GENES ENCODING PYROGENIC TOXIN SUPERANTIGENS AND EXFOLIATIVE TOXINS AMONG STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM BLOOD AND NASAL SPECIMENS. J CLINICAL MICROBIOLOGY.

**BENDAHOU A., ABID M., BOUTELDOUN N., CATELEJINE D., LEBBADI M.** 2009. ENTEROTOXIGENIC COAGULASE POSITIVE STAPHYLOCOCCUS IN MILK AND MILK PRODUCTS, LBEN AND JBEN, IN NORTHERN MOROCCO. J. INFECT. DEVELOPING COUNTRIES 3.

**Bergeron MG, Ouellette M.** PREVENTING ANTIBIOTIC RESISTANCE THROUGH RAPID GENOTYPIC IDENTIFICATION OF BACTERIA AND OF THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN THE CLINICAL MICROBIOLOGY LABORATORY. J CLIN MICROBIOL 1998.

**BHATIA A, ZAHOOR S.** 2007. STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENTEROTOXINS. JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH.

**Bignardi GE, Woodford N, Chapman A, Johnson AP, Speller DC.** DETECTION OF THE MEC-A GENE AND PHENOTYPIC DETECTION OF RESISTANCE IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATES WITH BORDERLINE OR LOW-LEVEL METHICILLIN RESISTANCE. J ANTIMICROB. CHEMOTHER 1996.

**BJERKETORP, J., M. NILSSON, A. LJUNGH, J.I. FLOCK, K. JACOBSSON AND L. FRYKBERG.** 2002. A NOVEL VON WILLEBRAND FACTOR BINDING PROTEIN EXPRESSED BY STAPHYLOCOCCUS AUREUS. MICROBIOLOGY 148: 2037-2044.

**BLAUSTEIN, R. A., R. L. HILL, S. A. MICALLEF, D. R. SHELTON, AND Y. A. PACHEPSKY.** 2016. RAINFALL INTENSITY EFFECTS ON REMOVAL OF FECAL INDICATOR BACTERIA FROM SOLID DAIRY MANURE APPLIED OVER GRASSCOVERED SOIL. SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT. 539:583-591.

**BODEN, M.K. AND J.I. FLOCK.** 1989. FIBRINOGEN-BINDING PROTEIN/CLUMPING FACTOR FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS. INFECT. IMMUN. 57: 2358-2363

**BOSGIRAUD C.** (2003). MICROBIOLOGIE GENERALE ET SANTE.

**BOURIN, M., LIEVRE, M., ALLAIN, H.,** 1993. « MEDICAMENTS ANTIBIOTIQUES. TRAITE DE CHIMIE THERAPEUTIQUE » VOL2. COURS DE PHARMACOLOGIE 3EME EDITION.

**BOUSQUET M., TOUTAIN P.,** 2012. IMPACT DU SCHEMA POSOLOGIQUE SUR LA RESISTANCE. BULLETIN DES GTV.

**BRECHE P., GAILLARD J., SIMONET M.** 1988. COLLECTION DE LA BIOLOGIE A LA CLINIQUE.

**BRISABOIS A., LAFARGE V., BROUILLARD A., DE BUYSER M. L., COLLETTE C., GARIN-BASTUJI B, THOREL M.F,** 1997: PATHOGENIC ORGANISMS IN MILK AND MILK PRODUCTS : THE SITUATION IN FRANCE AND IN EUROPE.

**BRISABOIS, A., V. LAFARGE, A. BROUILLAUD, M. L. DE BUYSER, C. COLLETTE, B. GARIN-BASTUJI, AND M. F. THOREL.** “LES GERMES PATHOGENES DANS LE LAIT ET LES PRODUITS LAITIERS: SITUATION EN FRANCE ET EN EUROPE.” SCI TECH OFF INT EPI,(1997).

**BRONNER S., MONTEIL H., PREVOST G.** 2004. REGULATION OF VIRULENCE DETERMINANTS IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS: COMPLEXITY AND APPLICATIONS. FEMS MICROBIOL.

## C

**CALLOP.J, S.LIMAT** 2008, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE, 2008, 3EME EDITIONS, EDITION MASSON

**CATTOIR V.** 2004. POMPE D'EFFLUX ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ LES BACTERIES.

**CAVALLO J D, FABRE R, JEHL F, RAPP C ET GARRABE E.** (2004). BETA-LACTAMINES. EMC-MALADIES INFECTIEUSES.

**CHAMBERLAIN, N.R. AND S.A. BRUEGGEMANN.** 1997. CHARACTERISATION AND EXPRESSION OF FATTY ACID MODIFYING ENZYME PRODUCED BY STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS. J. MED. MICROBIOL.

**CHATELLET M-C.,** (2007). MODALITES D'UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES EN ELEVAGE BOVIN. TH.MÉD. VÉT. MAISONS-ALFORT.

**CHATURVEDI, PARUL, AMIT KUMAR SINGH, AMIT KUMAR SINGH, SNEHANSHU SHUKLA, AND LOVELEENA AGARWAL.** “PREVALENCE OF MUPIROCIIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATES AMONG PATIENTS ADMITTED TO A TERTIARY CARE HOSPITAL.” NORTH AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES, (AUGUST 2014).

**CHENG, A.G., M. MCADOW, H.K. KIM, T. BAE, D.M. MISSIAKAS AND O. SCHNEEWIND.** 2010. CONTRIBUTION OF COAGULASES TOWARDS STAPHYLOCOCCUS AUREUS DISEASE AND PROTECTIVE IMMUNITY.

**CHEYMOL. G ET DUTEIL. J.** (1999). «PHARMACOLOGIE INTEGREE». PARIS: DE BOECK UNIVERSITE S.A,

**Chroma M, Kolar M.** Genetic Methods For Detection Of Antibiotic Resistance: Focus On Extended-Spectrum B-Lactamases. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2010 Dec; 154(4):289–296

**CLARKE SR, FOSTER SJ.** SURFACE ADHESINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS. ADV MICROB PHYSIOL. 2006.

**COHEN, J. O.** 1972. THE STAPHYLOCOCCI. JOHN WILEY & SONS, INC., ATLANTA, GEORGIA.

**COLLECTIF**, 2008. RESISTANCE DES MICRO-ORGANISMES AUX AGENTS ANTIBACTERIENS. IN LE MANUEL VETERINAIRE MERCK. 3EME ED, PARIS

**CORNE P.** 2004. STAPHYLOCOCCUS AUREUS DANS UN SERVICE DE REANIMATION : ETUDE GENETIQUE, PHENOTYPIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE. THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES DE LA SANTE. UNIVERSITE DE MONTPELLIER I, FRANCE.

**COULTER SN, SCHWAN WR, NG EY, LANGHORNE MH, RITCHIE HD, WESTBROCK-WADMAN S, ET AL.** STAPHYLOCOCCUS AUREUS GENETIC LOCI IMPACTING GROWTH AND SURVIVAL IN MULTIPLE INFECTION ENVIRONMENTS. MOL MICROBIOL. 1998.

**Courvalin P, Leclercq R, Bingen E.** AntibioGramme. Paris. Édition ESKA, 2006.

**COUTURE B.** (1990). BACTERIOLOGIE MEDICALE «ETUDE ET METHODES D'IDENTIFICATION DES BACTERIES AEROBIES ET FACULTATIVES D'INTERET MEDICAL». VIGOT, PARIS.

**CROSSLEY, KENT, DAVID LOESCH, BARBARA LANDESMAN, KAREN MEAD, MYRA CHERN, AND RICHARD STRATE.** "AN OUTBREAK OF INFECTIONS CAUSED BY STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTANT TO METHICILLIN AND AMINOGLYCOSIDES. I. CLINICAL STUDIES." THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, (MARCH 1, 1979).

## **D**

**DAVIES TA, PAGE MG, SHANG W, ANDREW T, KANIA M, BUSH K** (2007) BINDING OF CEFTOBIPROLE AND COMPARATORS TO THE PENICILLIN-BINDING PROTEINS OF ESCHERICHIA COLI, PSEUDOMONAS AERUGINOSA, STAPHYLOCOCCUS AUREUS, AND STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE. ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER .

**DE BUYSER**, 2008: STAPHYLOCOCCUS AUREUS. IN :FEDERIGHI M. BACTERIOLOGIE ALIMENTAIRECOMPENDIUM D'HYGIENE DES ALIMENTS( 2EME ED), PARIS,

**DE LASTOURS V ET FANTIN B.** (2010). RESISTANCE TO FLUOROQUINOLONES IN 2010.

**DEVERRIERE B.** 2007. REPRODUCTION EXPERIMENTALE DE MAMMITES A STAPHYLOCOCCUS AUREUS CHEZ LA BREBIS : COMPARAISON DE LIGNEES GENIQUES DIVERGENTES POUR LES COMPTAGES CELLULAIRES. THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES VETERINAIRES. L'UNIVERSITE PAULSABATIER DE TOULOUSE, FRANCE.

**DI GIANNATALE E., VINCENZA P., ALFREDA T., CRISTINA M., GIACOMO M.** 2011. CHARACTERISATION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS ISOLATED FROM FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION. VETERINARIA ITALIANA.

**DIBNER, J. J., AND J. D. RICHARDS.** 2005: ANTIBIOTIC GROWTH PROMOTERS IN AGRICULTURE:

**DICTIONNAIRE MEDICALE**, 2012

**DIEKEMA DJ, PFALLER MA, SCHMITZ FJ, SMAYEVSKY J, BELL J, JONES RN, ET AL.** SURVEY OF INFECTIONS DUE TO STAPHYLOCOCCUS SPECIES: FREQUENCY OF OCCURRENCE AND

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF ISOLATES COLLECTED IN THE UNITED STATES, CANADA, LATIN AMERICA, EUROPE, AND THE WESTERN PACIFIC REGION FOR THE SENTRY ANTIMICROBIAL SURVEILLANCE PROGRAM, 1997–1999. CLIN INFECT DIS. 2001.

**Dongli Rong, Qingping Wu, Mingfang Xu, Jumei Zhang et Shubo Yu** 2017  
Prevalence ,virulence genes , antimicrobial susceptibility, and genetic diversity of staphylococcus aureus from retail aquatic products in china.

**DRAPEAU GR.** ROLE OF METALLOPROTEASE IN ACTIVATION OF THE PRECURSOR OF STAPHYLOCOCCAL PROTEASE. J BACTERIOL. 1978.

**DUFOUR P., GILLET Y., BES M., LINA G., VANDENESCH F., FLORET D., ETIENNE J., RICHEL H.,** 2002. COMMUNITY-ACQUIRED METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS INFECTIONS IN FRANCE: EMERGENCE OF A SINGLE CLONE THAT PRODUCES PANTON–VALENTINE LEUKOCIDIN. CLINICAL INFECTIOUS DISEASE.

**DUMITRESCU, OANA, OLIVIER DAUWALDER, SANDRINE BOISSET, MARIE-ÉLISABETH REVERDY, ANNE TRISTAN, AND FRANÇOIS VANDENESCH.** “RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ STAPHYLOCOCCUS AUREUS - LES POINTS-CLES EN 2010.” MÉDECINE/SCIENCES, (NOVEMBER 1, 2010).

## E

**ELASRI MO, THOMAS JR, SKINNER RA, BLEVINS JS, BEENKEN KE, NELSON CL, ET AL.** STAPHYLOCOCCUS AUREUS COLLAGEN ADHESIN CONTRIBUTES TO THE PATHOGENESIS OF OSTEOMYELITIS. BONE. JANV2002.

**Elhani D.** Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. *Ann Biol Clin* 2012.

**ELLINGTON MJ, HOPE R, LIVERMORE DM, KEARNS AM, HENDERSON K, COOKSON BD, PEARSON A, JOHNSON AP** (2010) DECLINE OF EMRSA-16 AMONGST METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS CAUSING BACTERAEMIAS IN THE UK BETWEEN 2001 AND 2007. J ANTIMICROB CHEMOTHER .

**Eom SH, Wang J, Steitz TA.,** « *Structure of Taq polymerase with DNA at the polymerase active site* », *Nature*, vol. 382, n° 6588, 18 juillet 1996.

**EVEILLARD M.** 2007. POLITIQUE DE DEPISTAGE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTANT A LA METICILLINE A L'ADMISSION : ADAPTATION A LA DIVERSIFICATION DES FACTEURS DE RISQUE DE PORTAGE, CONSEQUENCES DE CETTE POLITIQUE POUR LES INDICATEURS DE SURVEILLANCE ET LA TRANSMISSION. THESE DE DOCTORAT EN BIOLOGIE CELLULAIRE. UNIVERSITE D'ENGER, FRANCE.

## F

**FARRELL A, TAYLOR D, HOLLAND K.** CLONING, NUCLEOTIDE SEQUENCE DETERMINATION AND EXPRESSION OF THE HYALURONATE LYASE GENE. FEMS MICROBIOL LETT. 1995.

**FASQUELLE R.** 1974. ELEMENTS DE BACTERIOLOGIE MEDICALE .9EME EDITION. FLAMMARION, PARIS.

**FAUCHERE J.L. AND AVRIL J.L.** (2002). BACTERIOLOGIE GENERALE ET MEDICALE. ELLIPSES, PARIS.

**FAYE K. 2005.** LE POINT SUR L'USAGE VETERINAIRE DES ANTIBIOTIQUES: IMPACT SUR L'ANTIBIORESISTANCE DES BACTERIES EN SANTE ANIMALE ET HUMAINE. MASSON, PARIS.

**FERENEY, 2007:** PRECIS DE BACTERIOLOGIE CLINIQUE, 2EME EDITION.

**FERRON A.** (1984). BACTERIOLOGIE MEDICALE A L'USAGE DES ETUDIANTS EN MEDICINE. 12EME EDITION. CROUAN ET ROQUES, PARIS.

**FERRON A.** 1994.LA RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES. IN BACTERIOLOGIE MEDICALE. 15EME ED., PARIS.

**FISCHETTI, F. AND F. TEDESCO.** 2006. CROSS-TALK BETWEEN THE COMPLEMENT SYSTEM AND ENDOTHELIAL CELLS IN PHYSIOLOGIC CONDITIONS AND IN VASCULAR DISEASES. AUTOIMMUNITY.

**FISCHETTI, F. AND F. TEDESCO.** 2006. CROSS-TALK BETWEEN THE COMPLEMENT SYSTEM AND ENDOTHELIAL CELLS IN PHYSIOLOGIC CONDITIONS AND IN VASCULAR DISEASES. AUTOIMMUNITY .

**FITZGERALD J.R., MONDAY S.R., FOSTER T.J., BOHACH G.A., HARTIGAN P.J.,MEANEY W.J., SMITH C.J.** 2001. CHARACTERIZATION OF PUTATIVE PATHOGENICITY ISLAND FROMBOVINE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENCODING MULTIPLE SUPERANTIGENS. JOURNAL OF BACTERIOLOGY.

**FLANDROIS J.P.** 1997. BACTERIOLOGIE MEDICALE. PRESSE UNIVERSITAIRE DE LYON.

**FOSTER TJ, HÖÖK M.** SURFACE PROTEIN ADHESINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS. TRENDS MICROBIOL. DEC 1998.

**FOSTER TJ, HÖÖK M.** SURFACE PROTEIN ADHESINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS. TRENDS MICROBIOL. DEC 1998.

**Franklin R. Cockerill III** .Genetic Methods for Assessing Antimicrobial ResistanceAntimicrobial Agents And Chemotherapy, 1999, Vol. 43, No. 2.

**FRASER JD, PROFT T.** THE BACTERIAL SUPERANTIGEN AND SUPERANTIGEN-LIKE PROTEINS. IMMUNOL REV 2008.

**FRIEDRICH, R., P. PANIZZI, P. FUENTES-PRIOR, K. RICHTER, I. VERHAMME, P.J. ANDERSON, S. KAWABATA, R. HUBER, W. BODE AND P.E. BOCK.** 2003. STAPHYLOCOAGULASE IS A PROTOTYPE FOR THE MECHANISM OF COFACTOR-INDUCED ZYMOGEN ACTIVATION NATURE.

## G

**Galiana A, Coy J, Gimeno A, Guzman NM, Rosales F, Merino E, et al.** (2017) Evaluation of the Sepsis Flow Chip assay for the diagnosis of blood infections.

**GARCIA P.** COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI: CLINICAL, MICROBIOLOGICAL AND MOLECULAR FEATURES TO PREDICT TRUE BACTERAEMIA. *J MED MICROBIOL.* 2004.

**GARRITY G.M., LILBURN T.G., COLE J.R., HARRISON S.H., EUZÉBY J. AND TINDALL B.J.** 2007. TAXONOMIC OUTLINE OF THE BACTERIA AND ARCHAEA, RELEASE 7." PART 9- THE BACTERIA: PHYLUM" FIRMICUTES": CLASS "BACILLI.

**GAUDUCHON V, WERNER S, PRÉVOST G, MONTEIL H, COLIN DA.** FLOW CYTOMETRIC DETERMINATION OF PANTONVALENTINE LEUCOCIDIN S COMPONENT BINDING. *INFECT IMMUN* 2001.

**Geha DJ, Uhl JR, Gustafarro CA, Persing DH.** Multiplex PCR for identification of methicillin-resistant staphylococci in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 1994.

**GENESTIER A-L, MICHALLET M-C, PREVOST G, ET AL.** STAPHYLOCOCCUS AUREUS PANTON-VALENTINE LEUCOCIDIN DIRECTLY TARGETS MITOCHONDRIA AND INDUCES BAXINDEPENDENT APOPTOSIS OF HUMAN NEUTROPHILS. *J CLIN INVEST* 2005.

**GIGUERE S., PRESCOTT JF. BAGGOT JD., ET AL.** (2007). ANTIMICROBIAL THERAPY IN VETERINARY MEDICINE, 4TH ED, BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS, WILEY-BLACKWELL, USA

**GOGNY ET PUYT,** 2001 : CLASSIFICATION DES PRINCIPES ACTIFS. L'ARSENAL THERAPEUTIQUE VETERINAIRE EDITIONS LE POINT VETERINAIRE 2001.

**GORDON, R.J. AND F.D. LOWY,** PATHOGENESIS OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS INFECTION. *CLINICAL INFECTIOUS DISEASES,* 2008. 46(SUPPLEMENT 5).

**GRACE, DELIA, AND ALEXANDRA FETSCH.** "STAPHYLOCOCCUS AUREUS—A FOODBORNE PATHOGEN: EPIDEMIOLOGY, DETECTION, CHARACTERIZATION, PREVENTION, AND CONTROL: AN OVERVIEW." IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS. ELSEVIER, (2018).

**GRAILLE M., STURA E.A., CORPER A.L., SUTTON B.J., TAUSSIG M.J., CHARBONNIER J.B. ET SILVERMAN G.J.** (2000): CRYSTAL STRUCTURE OF A STAPHYLOCOCCUS AUREUS PROTEIN A DOMAIN COMPLEXED WITH THE FAB FRAGMENT OF A HUMAN IGM ANTIBODY: STRUCTURAL BASIS FOR RECOGNITION OF B-CELL RECEPTORS AND SUPERANTIGEN ACTIVITY. *PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA.*

**GUERIN-FAUBLEE V.,** (2010). LES MECANISMES DE RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES. IN: JOURNEES NATIONALES GTV, LILLE,

**GUILLOT J., LAFONT J., CHASLUS E.,** 1983. ANTIBIOTHERAPIE EN MEDICINE VETERINAIRE.

**GUIRAUD J.P., ROSEC J.P.,** 2004. PRATIQUE DES NORMES EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE. EDITION AFNOR, PARIS.

## **H**

**HACHEMI, AMINA, et al. (2019).** EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF SAUSAGE IN ALGERIA: PREVALENCE, QUALITY ASSESSMENT, AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATES AND THE RISK FACTORS ASSOCIATED WITH CONSUMER HABITS AFFECTING FOODBORNE POISONING.” VETERINARY WORLD, VOL. 12, NO. 8, AUG. 2019, PP. 1240–50. DOI.ORG (CROSSREF), DOI:10.14202/VETWORLD.2019.1240-1250.

**HAENNI M., JOUY E., MADEC J.-Y., LAURENT F. (2012).** STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTANT A LA METICILLINE (SARM) : UN PASSAGE ENTRE L’HOMME ET L’ANIMAL? BULLETIN EPIDEMIOLOGIQUE, SANTE ANIMALE ET ALIMENTATION,

**HAMAD A.R., MARRACK P., KAPPLER J.W.** 1997. TRANSCYTOSIS OF STAPHYLOCOCCAL SUPERANTIGEN TOXINS.J. EXP. MED.

**HIENZ SA, SCHENNINGS T, HEIMDAHL A, FLOCK JI.** COLLAGEN BINDING OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS IS A VIRULENCE FACTOR IN EXPERIMENTAL ENDOCARDITIS. J INFECT DIS. JUILL 1996.

**HIRSH D.C., NIGEL JM, RICHARD L. WALKER.** 2004. VETERINARY MICROBIOLOGY. 2EME ÉDITION. BLACKWALL-SCIENCE, CALIFORNIA.

**HOLDEN M.T., FEIL E.J., LINSAY J.A.** 2004. COMPLETE GENOMES OF TWO CLINICAL STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS: EVIDENCE FOR THE RAPID EVOLUTION OF VIRULENCE AND DRUG RESISTANCE. PROC. NATL. ACAD. SCI. U S A. 101, 9786-9791.

**HOLECKOVA B., KALIVACOVA V., JULIUS GONDOL J., FOTTA M., HOLODA E., BLICKOVA E.** 2004. PRODUCTION OF ENTEROTOXINS BY STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM SHEEP MILK. BULL. VET. INST. PULAWY.

**Hososaka Y, Hanaki H, Endo H, et al.** Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. J Infect Chemother 2007.

## **J**

**JARRAUD S., LYON G.J. FIGUEIREDO A.M.** 2000. EXFOLIATIN-PRODUCING STRAINS DEFINE A FOURTH AGR SPECIFICITY GROUP IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS. J. BACTERIOL.

**Jehl F.** L’interprétation phénotypique de l’antibiogramme. Rev Fr Lab 2012.

**Jehl F, Chabaud A, Grillon A.** L’antibiogramme : diamètres ou CMI ? Journal des Anti-infectieux 2015.

**Jehl F, Twizeyimana E.** Sensibilité des bactéries aux antibiotiques : les CMI sont complémentaires de l'antibiogramme. *Revue Francophone des Laboratoires - Novembre 2015*.

**Ji G., Beavis R., Novick, R.P.** 1997. BACTERIAL INTERFERENCE CAUSED BY AUTOINDUCING PEPTIDE VARIANTS. SCIENCE.

**Jin T, Bokarewa M, Foster T, Mitchell J, Higgins J, Tarkowski A.** STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTS HUMAN DEFENSINS BY PRODUCTION OF STAPHYLOKINASE, A NOVEL BACTERIAL EVASION MECHANISM. J IMMUNOL.

**Johnson AP, Pearson A, Duckworth G** (2005) SURVEILLANCE AND EPIDEMIOLOGY OF MRSABACTERAEMIA IN THE UK. J ANTIMICROB CHEMOTHER.

## **K**

**Kaida, S., T. Miyata, Y. Yoshizawa, H. Igarashi and S. Iwanaga.** 1989. NUCLEOTIDE AND DEDUCED AMINO ACID SEQUENCES OF STAPHYLOCOAGULASE GENE FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAIN 213. NUCLEIC ACIDS RES.

**Karthik Sambanthamoorthy.** 2007. ROLE OF MSA IN THE REGULATION OF VIRULENCE AND BIOFILM FORMATION. THE UNIVERSITY OF SOUTHERN MISSISSIPPI. EDITION UMI MICROFORM USA.

**Kayser, F H; Böttger, E C; Zinkernagel, R M; Haller, O; Eckert, J; Deplazes, P** (2008). MANUEL DE POCHE DE MICROBIOLOGIE MEDICALE. PARIS: FLAMMARION MEDECINE-SCIENCES

**Kesteman AS.,**2009. INFLUENCE DES FACTEURS ASSOCIES A UNE ANTIBIOTHERAPIE DE TYPE METAPHYLACTIQUE SUR LES RELATIONS PHARMACOCINETIQUE/PHARMACODYNAMIQUE (PK/PD) DE ANTIBIOTIQUES – CONSEQUENCES SUR LES SCHEMAS POSOLOGIQUES ET SUR L'EMERGENCE DE RESISTANCE. THESE DE DOCTORAT EN PHARMACOLOGIE, UNIVERSITE DE TOULOUSE III.

**Khatib M, Jamaledine G, Abdallah A, et al.** HAND WASHING AND USE OF GLOVES WHILE MANAGING PATIENTS RECEIVING MECHANICAL VENTILATION IN THE ICU.

**Kloos W.E. and Veron M.** (1990). BACTERIOLOGIE MEDICALE «STAPHYLOCOCCUS ET MICROCOCCUS» J.FLEURETTE 2EME EDITION. FLAMMARION MÉDECINE-SCIENCES, PARIS.

**Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H.,** 1997. NASAL CARRIAGE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS: EPIDEMIOLOGY, UNDERLYING MECHANISMS, AND ASSOCIATED RISKS. CLIN. MICROBIOL.

**König, C., H. P. Simmen, and J. Blaser.** 1998. BACTERIAL CONCENTRATIONS IN PUS AND INFECTED PERITONEAL FLUID--IMPLICATIONS FOR BACTERICIDAL ACTIVITY OF ANTIBIOTICS. J ANTIMICROB CHEMOTHER

**KROH, H.K., P. PANIZZI AND P.E. BOCK.** 2009. VON WILLEBRAND FACTOR-BINDING PROTEIN IS A HYSTERETIC CONFORMATIONAL ACTIVATOR OF PROTHROMBIN. PROC. NATL. ACAD. SCI. U.S.A..

**Kulah C, Aktas E, Comert F, Ozlu N Akyar I, Ankarali H.** Detecting imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* by automated systems (BD Phoenix, Microscan WalkAway, Vitek 2); high error rates with Microscan WalkAway. *BMC Infect Dis* (2009).

**KUMAR R., SURENDRAN P.K., THAMPURAN N.** 2009. DETECTION AND CHARACTERIZATION OF VIRULENCE FACTORS IN LACTOSE POSITIVE AND LACTOSE NEGATIVE SALMONELLA SEROVARS ISOLATED FROM SEA FOOD. FOOD CONTROL.

**KURODA M., OHTA T., UCHIYAMA I., ET AL.** 2001. WHOLE GENOME SEQUENCING OF METICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS. LANCET.

## L

**LE LOIR Y, BARON F, GAUTIER M.** 2003. STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND FOOD POISONING. GENET. MOL. RES.

**LE MINOR L. AND VERON M.** 1990. BACTERIOLOGIE MEDICALE «STAPHYLOCOCCUS ET MICROCOCCUS». J. FLEURETTE 2EME EDITION. FLAMMARION MEDECINE-SCIENCES, PARIS.

**LECLERCQ R.** 1999. ANTIBIORESISTANCE CHEZ LES BACTERIES PATHOGENES POUR L'HOMME. JOURNEES NATIONALES GTV-INRA,

**Leclercq R, Canton R, Brown DFJ, et al.** EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *ClinMicrobiol Infect* 2013.

**LEVY S.B.** 1984. L'EVOLUTION DES RESISTANCES BACTERIENNES. SURVEILLANCE LOCALE ET MONDIALE, J. MEDECINE ET MALADIES INFECTIEUSES.

**LEYRAL G. VIERLING E,** 2007: MICROBIOLOGIE ET TOXICOLOGIE DES ALIMENTS : HYGIENE ET SECURITE ALIMENTAIRES. 4E EDITION BIOSCIENCES ET TECHNIQUES.

**LINDSAY J.A., HOLDEN M.T.** 2004. STAPHYLOCOCCUS AUREUS: SUPERBUG, SUPER GENOME. TRENDS MICROBIOL.

**Louie L, Matsumura SO, Choi E, Louie M, Simor AE.** Evaluation of 3 rapid methods for detection of methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin. Microbiol.* 2000.

**LOWY F.D.,** 1998. STAPHYLOCOCCUS AUREUS INFECTION. NEW ENGLAND JOURNAL MEDICINE.

**LOZNIIEWSKI A, RABAUD C ET NANCY.** (2010). RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES.

**LU, T., J.Y. PARK, K. PARNELL, L.K. FOX AND M.A. MCGUIRE.** 2012. CHARACTERIZATION OF FATTY ACID MODIFYING ENZYME ACTIVITY IN STAPHYLOCOCCAL MASTITIS ISOLATES AND OTHER BACTERIA.

**Luby E, Ibekwe AM, Zilles J, Pruden A.** Antibiotics in Agroecosystems: Molecular Methods for Assessment of Antibiotic Resistance in Agricultural Ecosystems: Prospects and Challenges. State of the Science. Journal of Environmental Quality, Special Section, 2016; pp 441-453.

**LULLANN & MOHR, 2003:** ATLAS DE POCHE DE PHARMACOLOGIE, 2003, 3EME EDITIONS, EDITION MEDCINE-SCIENCE FLAMMARION.

## M

**MADEC J.-Y., 2012.** ANTIBIORESISTANCE : LE PASSAGE ANIMAL-HOMME, MYTHE OU REALITE? BULLETIN EPIDEMIOLOGIQUE, SANTE ANIMALE ET ALIMENTATION

**MAITI SN, KAMALESH BABU RP ET SHAN R. (2006).** OVERCOMING BACTERIAL RESISTANCE: ROLE OF B-LACTAMASE INHIBITORS. TOPICS IN HETEROCYCLIC CHEMISTRY.

**MALACHOWA N, DELEO FR.** MOBILE GENETIC ELEMENTS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS. CELL MOL LIFE SCI. 2010.

**MANDELL GL.** CATALASE, SUPEROXIDE DISMUTASE, AND VIRULENCE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS. IN VITRO AND IN VIVO STUDIES WITH EMPHASIS ON STAPHYLOCOCCAL-LEUKOCYTE INTERACTION. J CLIN INVEST. 1975.

**Marcel JP.** L'antibiogramme et son impact médical. Antibiotiques ; Vol 7, N° 1 - février 2005.

**MarkowitzVM, Chen IMA, Palaniappan K, Chu K, Szeto E.** 2012. IMG: The integrated microbial genomes database and comparative analysis system. Nucleic Acids Res. 2012.

**MARTEL J., 1996.** LA RESISTANCE AUX ANTIMICROBIENS - ANTIBIOTHERAPIE VETERINAIRE, QUEL AVENIR? EDITIONS VIRBAC, PARIS.

**MARTEL J., MOULIN G., COUDERT M.** 1982. SURVEILLANCE DE L'EVOLUTION DE L'ANTIBIORESISTANCE DES ESPECES BACTERIENNES PATHOGENES CHEZ LES BOVINS.

**MARTÍNEZ-PULGARÍN S, DOMÍNGUEZ-BERNAL G, ORDEN JA, DE LA FUENTE R.** SIMULTANEOUS LACK OF CATALASE AND BETA-TOXIN IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS LEADS TO INCREASED INTRACELLULAR SURVIVAL IN MACROPHAGES AND EPITHELIAL CELLS AND TO ATTENUATED VIRULENCE IN MURINE AND OVINE MODELS. MICROBIOL READ ENGL. 2009;155: 1505-1515. DOI:10.1099/MIC.0.025544-0

**McArthur AG, Waglechner N, Nizam F, Yan A, Azad MA, Baylay AJ et al.** The comprehensive antibiotic resistance database. Antimicrob. Agents Chemother. 2013.

**MCGAVIN MJ, ZAHRADKA C, RICE K, SCOTT JE.** MODIFICATION OF THE STAPHYLOCOCCUS AUREUS FIBRONECTIN BINDING PHENOTYPE BY V8 PROTEASE. INFECT IMMUN. 1997.

**MeyerF, Paarmann D,D'Souza M,Olson R,Glass EM,Kubal M et al.** The metagenomics RAST server: A public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes.BMC Bioinf.2008.

**MIETHKE T., DUSCHEK K., WAHL C., HEEG K., WAGNER H.** 1993. PATHOGENESIS OF THE TOXIC SHOCK SYNDROME: T-CELL MEDIATED LETHAL SHOCK CAUSED BY THE SUPERANTIGEN TSST 1. EUR. J. IMMUNOL.

**MILES G, MOVILEANU L, BAYLEY H.** SUBUNITCOMPOSITION OF A BICOMPONENT TOXIN: STAPHYLOCOCCAL LEUKOCIDIN FORMS AN OCTAMERIC TRANSMEMBRANEPORE. PROTEIN SCI PUBL PROTEIN SOC 2002; 11: 894–902.

**MOISAN H, PRUNEAU M, MALOUIN F** (2010) BINDING OF CEFTAROLINE TO PENICILLIN-BINDING PROTEINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE. J ANTIMICROB CHEMOTHER.

**MORATA L, MENSA J, SORIANO A** (2015) NEW ANTIBIOTICS AGAINST GRAM-POSITIVES: PRESENT AND FUTURE INDICATIONS. CURR OPIN PHARMACOL

**MOREILLON P, ENTENZA JM, FRANCIOLI P, McDEVITT D, FOSTER TJ, FRANÇOIS P, ET AL.** ROLE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS COAGULASE AND CLUMPING FACTOR IN PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL ENDOCARDITIS. INFECT IMMUN. DEC 1995.

**MOTAMEDI H.** 2010. STAPHYLOCOCCUS AUREUS ASIAN PACIFIC JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE.

**MOULIN & COQUEREL,** 1998: PHARMACOLOGIE CONNAISSANCE ET PRATIQUE, 2002, 2EME EDITIONS, EDITION MASSON,

**Mullis KB.** The unusual origin of the polymerase chain reaction. Scientific American. 1990.

**MUYLAERT A., MAINIL J.G.** 2012 RESISTANCES BACTERIENNES AUX ANTIBIOTIQUES : LES MECANISMES ET LEUR « CONTAGIOSITE »

## N

**NAGASE N., SASKI A., YAMASHITA K., SHIMIZU A., WAKITA Y., KITAI, S., KAWANO, J.** 2001. ISOLATION AND SPECIES DISTRIBUTION OF STAPHYLOCOCCI FROM ANIMAL AND HUMAN SKIN. JOURNAL OF VETERINARY MEDICAL SCIENCE.

**NEELY AN., HOLDER IA.,** 1999. ANTIMICROBIAL RESISTANCE. BURNS,

**Noushin Arfatahery, Abolfazl Davoodabadi et Taranehpeimaneh Abedimohtasab,** 2015 Characterization of Toxin Genes and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolates in Fishery Products in Iran

**NOUWEN J.L., VAN BELKUM A., VERBRUGH H.A.** 2001. DETERMINANTS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS NASAL CARRIAGE. NETH. J. MED.

## O

**O'BRIEN LM, WALSH EJ, MASSEY RC, PEACOCK SJ, FOSTER TJ.** STAPHYLOCOCCUS AUREUS CLUMPING FACTOR B (CLFB) PROMOTES ADHERENCE TO HUMAN TYPE I CYTOKERATIN 10: IMPLICATIONS FOR NASAL COLONIZATION. CELL MICROBIOL. NOV 2002.

**O'RIORDAN K., LEE J.C.** 2004. STAPHYLOCOCCUS AUREUS CAPSULAR POLYSACCHARIDES. CLIN. MICROBIOL.

**O'SEAGHDHA M., VAN SCHOOTEN C.J., KERRIGAN S.W., EMSLEY J., SILVERMAN G.J., COX D., LENTING P.J. ET FOSTER T.J.** (2006) : STAPHYLOCOCCUS AUREUS PROTEIN A BINDING TO VON WILLEBRAND FACTOR A1 DOMAIN IS MEDIATED BY CONSERVED IGG BINDING REGIONS. THE FEBS JOURNAL.

**OTSUKA, T., H. ZARAKET, T. TAKANO, K. SAITO, S. DOHMAE, W. HIGUCHI, AND T. YAMAMOTO.** "MACROLIDE-LINCOSAMIDE-STREPTOGRAMIN B RESISTANCE PHENOTYPES AND GENOTYPES AMONG STAPHYLOCOCCUS AUREUS CLINICAL ISOLATES IN JAPAN." CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTION, (2007).

## P

**PALMQVIST N, FOSTER T, FITZGERALD JR, JOSEFSSON E, TARKOWSKI A.** FIBRONECTIN-BINDING PROTEINS AND FIBRINOGEN-BINDING CLUMPING FACTORS PLAY DISTINCT ROLES IN STAPHYLOCOCCAL ARTHRITIS AND SYSTEMIC INFLAMMATION. J INFECT DIS. 1 MARS 2005.

**PALMQVIST N, PATTI JM, TARKOWSKI A, JOSEFSSON E.** EXPRESSION OF STAPHYLOCOCCAL CLUMPING FACTOR A IMPEDES MACROPHAGE PHAGOCYTOSIS. MICROBES INFECTION PASTEUR. FÉVR 2004.

**PANIZZI, P., R. FRIEDRICH, P. FUENTES-PRIOR, K. RICHTER, P.E. BOCK AND W. BODE.** 2006. FIBRINOGEN SUBSTRATE RECOGNITION BY STAPHYLOCOAGULASEPROTHROMBIN COMPLEXES. J. BIOL.CHEM.

**PANTOSTI A, SANCHINI A, MONACO M** (2007) MECHANISMS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS. FUTURE MICROBIOL .

**Paterson G. K., Harrison E. M et Holmes M. A.** (2014). The emergence of mecC methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Trends. Microbiol.

**PEACOCK SJ, DE SILVA I, LOWY FD.** WHAT DETERMINES NASAL CARRIAGE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ? TRENDS MICROBIOL 2001;9:605-10.

**PERRIN P.,** 2012. SUIVI DE L'ANTIBIORESISTANCE AU NIVEAU D'UN LABORATOIRE EN EUROPE.

**PERROT V.** 1998. UNE EVOLUTION SANS DOUTE REVERSIBLE.

**PHILIPPON A.** (2010). RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES. COURS DE LA FACULTE

**Pichon B, Hill R, Laurent F, Larsen AR, Skov RL, Holmes M, Edwards GF, Teale C, Kearns AM.** Development of a real-time quadruplex PCR assay for simultaneous detection of *nuc*, Panton-Valentine leucocidin (PVL), *mecA* and homologue *mecALGA251*. *J Antimicrob Chemother.* 2012.

**PIERI FRANÇOIS ET SERGE KIRKIACHARIA** 1986. PHARMACOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

**PLATA, KONRAD, ADRIANA E. ROSATO, AND GRZEGORZ WEGRZYN.** "STAPHYLOCOCCUS AUREUS AS AN INFECTIOUS AGENT: OVERVIEW OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR GENETICS OF ITS PATHOGENICITY." *ACTA BIOCHIMICA POLONICA*, (2009).

**PÖHLMANN-DIETZE P., ULRICH M., KISER K., DORING G., LEE J., FOURNIER J., BOTZENHART K., WOLZ C.** 2000. ADHERENCE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS TO ENDOTHELIAL CELLS: INFLUENCE OF CAPSULAR POLYSACCHARIDE, GLOBAL REGULATOR AGR, AND BACTERIAL GROWTH PHASE. *INFECT. IMMUN.*

**POTEMPA J, WATOREK W, TRAVIS J.** THE INACTIVATION OF HUMAN PLASMA ALPHA F-PROTEINASE INHIBITOR BY PROTEINASES FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS. *J BIOL CHEM.* 1986.

**PRESCOTT J.F., BAGGOT J.D., WALKER R.D.** ANTIMICROBIAL DRUG RESISTANCE AND ITS EPIDEMIOLOGY. IN: IOWA STATE UNIVERSITY PRESS. ANTIMICROBIAL THERAPY IN VETERINARY MEDICINE. 3RD EDITION.

**PROKESOVA L, POTUZNIKOVA B, POTEMPA J, ZIKAN J, RADL J, HACHOVA L, ET AL.** CLEAVAGE OF HUMAN IMMUNOGLOBULINS BY SERINE PROTEINASE FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS. *IMMUNOL LETT.* 1992.

**PUYT. J-D .GUERIN F** .2006. MEDICAMENTS ANTI-INFECTIEUX EN MEDICINE VETERINAIRE. BASES DE L'ANTIBIOTHERAPIE.

## **Q**

**Quentin-Noury C.** Automatisation de l'antibiogramme au laboratoire de bactériologie. *Revue francophone des laboratoires.* Volume 2016.

**QUINN P.J., MARKEY B.K., LEONARD F.C., HARTIGAN P., FANNING S., FITZPATRICK E.S.** 2011. *VETERINARY MICROBIOLOGY AND MICROBIAL DISEASE.* EDITION BLACKWALL-SCIENCE, USA.

## **R**

**RICHARD Y., GUILLOT J., LAFONT J.,** 1982. ANTIBIOTHERAPIE, ANTIBIORESISTANCE ET ECOLOGIE MICROBIENNE. *REV. MED. VET*

**RISLEY A., LOUGH MAN A., CYWES -BENTLEY C., FOSTER T., LEE J.** 2007. CAPSULAR POLYSACCHARIDE MASKS CLUMPING FACTOR A-MEDIATED ADHERENCE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS TO FIBRINOGEN AND PLATELETS. *J. INFECT. DIS.*

**ROBERT O.** (2000). RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES. FONDATION POUR LA RECHERCHE MEDICALE.

**ROLLOF, J., J.H. BRACONIER, C. SODERSTROM AND P. NILSSON-EHLE.** 1988. INTERFERENCE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS LIPASE WITH HUMAN GRANULOCYTE FUNCTION. EUR. J. CLIN. MICROBIOL. INFECT.

**ROSENSTEIN R, GÖTZ F.** WHAT DISTINGUISHES HIGHLY PATHOGENIC STAPHYLOCOCCI FROM MEDIUM- AND NON-PATHOGENIC? CURR TOP MICROBIOL IMMUNOL. 2013.

## **S**

**SALYERS, A. A., AND D. D. WHITT.** 2002. BACTERIAL PATHOGENESIS, A MOLECULAR APPROACH, SECOND EDITION ED. ASM PRESS, WASHINGTON, D.C.

**SANDERS P.** 1999. TRAITEMENTS THERAPEUTIQUES ET ANTIBIORESISTANCE. J. POINT VET.

**SAWAI, T., K. TOMONO, K. YANAGIHARA, Y. YAMAMOTO, M. KAKU, Y. HIRAKATA, H. KOGA, T. TASHIRO AND S. KOHNO.** 1997. ROLE OF COAGULASE IN A MURINE MODEL OF HEMATOGENOUS PULMONARY INFECTION INDUCED BY INTRAVENOUS INJECTION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENMESHED IN AGAR BEADS. INFECT. IMMUN.

**SCHLIEVERT PM, CASE LC.** MOLECULAR ANALYSIS OF STAPHYLOCOCCAL SUPERANTIGENS. METHODS MOL BIOL 2007.

**SchmidtGV., Folkesson SA, Angen-Olsen JE.** (2014). Development of Methods for Genetic Assessment of Antibiotic Resistance In Animal Herds. Kgs. Lyngby: Technical University of Denmark (DTU).

**SCHWARZ S., CHASLUS-DANCLA E.** 2001. USE OF ANTIMICROBIALS IN VETERINARY MEDICINE AND MECHANISMS OF RESISTANCE. J. VET. RES.

**SCHWARZS ET CHASLUS-DANCLAE** (2001): «USE OF ANTIMICROBIALS IN VETERINARY MEDICINE AND MECHANISM OF RESISTANCE».

**SCOTT G.,** 2009. ANTIBIOTIC RESISTANCE MEDICINE.

**Sekhsokh Y., Chadli M., El Hamzaoui S.A.** Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. Médecine et maladies infectieuses. 2008.

**Seydina M. Diene.** Détermination de la sensibilité et de la résistance des bactéries aux agents antimicrobiens. *Association des Enseignants de Microbiologie et d'Immunologie des Facultés de Pharmacie* ([www.aemip.fr](http://www.aemip.fr)). 2016.

**SHAW L, GOLONKA E, POTEPA J, FOSTER SJ.** THE ROLE AND REGULATION OF THE EXTRACELLULAR PROTEASES OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS. MICROBIOL READ ENGL. 2004.

**SHIMELD L.A., RODGERS A.T.** 1999. ESSENTIALS OF DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY. EDITION DELMAR, NEW YORK.

**SIEPRAWSKA–LUPA M, MYDEL P, KRAWCZYK K, WOJCIK K, PUKLO M, LUPA B, ET AL.** DEGRADATION OF HUMAN ANTIMICROBIAL PEPTIDE LL–37 BY STAPHYLOCOCCUS AUREUS–DERIVED PROTEINASES. *ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER.* 2004.

**SIMONS J–WF, ADAMS H, COX RC, DEKKER N, GÖTZ F, SLOTBOOM AJ, ET AL.** THE LIPASE FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS. *EUR J BIOCHEM.*

**SMITH J., LEWIN C.**1993. MECHANISMS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND IMPLICATION FOR EPIDEMIOLOGY. *VET.*

**SNEATH, P. H. A.** 1986. BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, 1ST ED, VOL. 2. WILLIAMS & WILKINS, BALTIMORE.

**SOULSBY, L.** 2007: ANTIMICROBIALS AND ANIMAL HEALTH: A FASCINATING NEXUS. *J ANTIMICROB CHEMOTHER*

**SPAAN AN, HENRY T, VAN ROOIJEN WJM, ET AL.** THE STAPHYLOCOCCAL TOXIN PANTON-VALENTINE LEUKOCIDIN TARGETS HUMAN C5A RECEPTORS. *CELL HOST MICROBE* 2013.

**SPICER W.J.** 2003. PRATIQUE CLINIQUE EN BACTERIOLOGIE MYCOLOGIE ET PARASITOLOGIE. FLAMMARION MEDECINE-SCIENCES, PARIS.

**Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, Laurent F, Teale C, Skov R, Larsen AR.** Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*. *Clin Microbiol Infect.* 2012.

**STEPHEN H.G., HAWKEY M.P.** 2006. PRINCIPLES AND PRACTICE OF CLINICAL BACTERIOLOGY - 2ÈME EDITION. BIRMINGHAM, JOHN WILEY AND SONS.

**STORA, 2010: PHARMACOLOGIE B.P,** 2010,4EME ÉDITIONS, ÉDITION PORPHYTE.

## **T**

**Tenover FC, Lancaster MV, Hill BC, Steward CD, Stocker SA, Hancock GA, et al.** CHARACTERIZATION OF STAPHYLOCOCCI WITH REDUCED SUSCEPTIBILITIES TO VANCOMYCIN AND OTHER GLYCOPEPTIDES. *J CLIN. MICROBIOL.* 1998.

**TEUBER M.,** 2001. VETERINARY USE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE. *CURROPINMICROBIOL*

**THAKKER M., PARK J., CAREY V., LEE J.** 1998. STAPHYLOCOCCUS AUREUS SEROTYPE 5 CAPSULAR POLYSACCHARIDE IS ANTIPHAGOCYTTIC AND ENHANCES BACTERIAL VIRULENCE IN A MURINE BACTEREMIA MODEL. *INFECT. IMMUN.*

**The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.** BREAKPOINT TABLES FOR INTERPRETATION OF MICs AND ZONE DIAMETERS. VERSION 7.1, 2017. [HTTP://WWW.EUCAST.ORG](http://www.eucast.org).

**TILLE PM.** BAILEY & SCOTT'S DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY. 20F4.

**TOUTAIN PL.**, 2007. LE MEDICAMENT VETERINAIRE ET LE MEDICAMENT HUMAIN : SIMILITUDES, DIFFERENCES ET ENJEUX DE SANTE PUBLIQUE. IN CONGRÈS DE PHYSIOLOGIE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE. TOULOUSE

## V

**VANDENBERGH M.F., YZERMAN E.P., VAN BELKUM A., ET AL.** 1999. FOLLOW-UP OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS NASAL CARRIAGE AFTER 8 YEARS: REDEFINING THE PERSISTENT CARRIER STATE. J. CLIN. MICROBIOL.

**VELOSO TR, CHAOUCH A, ROGER T, GIDDEY M, VOULLAMOZ J, MAJCHERCZYK P, ET AL.** USE OF A HUMANLIKE LOW-GRADE BACTEREMIA MODEL OF EXPERIMENTAL ENDOCARDITIS TO STUDY THE ROLE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ADHESINS AND PLATELET AGGREGATION IN EARLY ENDOCARDITIS. INFECT IMMUN. MARS 2013.

## W

**Weier HU, Gray JW.** A PROGRAMMABLE SYSTEM TO PERFORM THE POLYMERASE CHAIN REACTION. DNA. 1988.

**WERCKENTHIN, CHRISTIANE, MARISA CARDOSO, JEAN-LOUIS MARTEL, AND STEFAN SCHWARZ.** "ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN STAPHYLOCOCCI FROM ANIMALS WITH PARTICULAR REFERENCE TO BOVINE STAPHYLOCOCCUS AUREUS, PORCINE STAPHYLOCOCCUS HYICUS, AND CANINE STAPHYLOCOCCUS INTERMEDIUS." VETERINARY RESEARCH, (2001).

**WOODIN AM.** PURIFICATION OF THE TWO COMPONENTS OF LEUCOCIDIN FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS. BIOCHEM J 1960; 75: 158–65 VET.

**WYLIE J.L., DEBORAH L., NOWICKI L.** 2005. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF COMMUNITY-AND HEALTH CARE-ASSOCIATED METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN MANITOBA, CANADA. J. CLIN. MICROBIOL.

## X

**XU Y, RIVAS JM, BROWN EL, LIANG X, HÖÖK M.** VIRULENCE POTENTIAL OF THE STAPHYLOCOCCAL ADHESIN CNA IN EXPERIMENTAL ARTHRITIS IS DETERMINED BY ITS AFFINITY FOR COLLAGEN. J INFECT DIS. 15 JUIN 2004.

## Y

**YALA. D., MERAD A.S., MOHAMEDI. D.,(2001)** .CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES, MEDECINE DU MAGHREB.

**YARWOOD J.M., SCHLIEVERT P.M.** 2003. QUORUM SENSING IN STAPHYLOCOCCUS INFECTIONS. J. CLIN. INVEST.

## Webliographie:

**Burnichon N, Texier A. L'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques ;** DES de bactériologie. 2003.

[http://microcsb.net/IMG/pdf/Antibiogramme\\_csb.pdf](http://microcsb.net/IMG/pdf/Antibiogramme_csb.pdf)

<https://resistancebacteriesantibiotiques.wordpress.com/2016/02/02/lecture- dun antibiogramme/>

**Jehl F et Coll.** Communiqué du CA-SFM / EUCAST. Mai 2014] [www.smamm.ma](http://www.smamm.ma)

LES ANTIBIOTIQUES, UN MEDICAMENT PAS COMME LES AUTRES IN : DOSSIER THEMATIQUE « BIEN UTILISER LES ANTIBIOTIQUES » [EN LIGNE], CONSULTÉ LE 08 JUIN 2012. URL:

<http://ansm.sante.fr/Dossiers-thematiques/Antibiotiques/Bien-utiliserles->

**PHILIPPON, A.,** ESPACE ETUDIANT, IN COURS DE BACTERIOLOGIE GENERALE, HTTP : [//WWW.MICROBESEDU.ORG/ETUDIANT/ANTIBIO1.HTML](http://WWW.MICROBESEDU.ORG/ETUDIANT/ANTIBIO1.HTML), EDITOR 2016

**TODAR K.** STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2009. EDITOR. TODAR'S ONLINE TEXTBOOK OF BACTERIOLOGY; [EN LIGNE], CONSULTÉ LE 10 OCTOBRE 2020. URL:

[HTTP://WWW.TEXTBOOKOFBACTERIOLOGY.NET](http://WWW.TEXTBOOKOFBACTERIOLOGY.NET)

**Web-source n° 1 :** [EN LIGNE], CONSULTÉ LE 20 NOVEMBRE 2020. [lesantibiotiques.e-monsite.com/pages/action-des-antibiotiques/ii-2-cmi-definition-et-calcul.html](http://lesantibiotiques.e-monsite.com/pages/action-des-antibiotiques/ii-2-cmi-definition-et-calcul.html)

**Web-source n° 2 :** [EN LIGNE], CONSULTÉ LE 20 NOVEMBRE 2020  
<http://cellimagelibrary.org/images/40593>

# ANNEXE 1

---

## Milieux de culture

### Gélose hyper salée au mannitol – Chapman – :

#### Composition :

Peptone.....	11.0 g
Extrait de viande.....	1.0 g
Chlorure de sodium.....	75.0 g
Mannitol.....	10.0 g
Agar.....	15.0 g
Rouge de phénol (Solution sodique à 0.25 p. 100).....	20 ml
pH = 7.6	

#### Préparation :

111 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20 min.

### Gélose Mueller-Hinton :

#### Composition :

Infusion de viande de bœuf.....	300 ml
Peptone de caséine.....	17.5 g
Amidon de maïs.....	1.5 g
Agar.....	10.0 g
pH= 7.4	

#### Préparation :

37 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15 min.

### GELOSE NUTRITIVE :

<b>COMPOSITION</b>	<b>(grammes/litre)</b>
Extrait de levure	4,0
Tryptone	5,0
Glucose	50,0
Dihydrogénophosphate de potassium	0,55
Chlorure de potassium	0,425
Chlorure de calcium	0,125
Sulfate de magnésium	0,125
Chlorure ferrique	0,0025
Sulfate de manganèse	0,0025
Vert de bromocrésol	0,022
Agar	15,0
pH 5,5 ± 0,2	

500 grammes permettent de préparer 6,7 litres de milieu.

## **PREPARATION**

Verser 75 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Si nécessaire, le pH peut être ajusté à 6,5 par l'addition d'une solution à 1 % de bicarbonate de sodium.



## ANNEXE 2

---

**Antibiotiques testés sur les souches de S. aureus (CASFM, 2017 ;  
Addendum 2014)**

<b>Familles des antibiotiques</b>	<b>Antibiotiques testés</b>	<b>Charge des disques</b>
Bêtalactamines	Pénicilline	<b>10 UI</b>
	Oxacilline	<b>1 µg</b>
	Cefoxitine	<b>30 µg</b>
	Piperacillin	<b>100µg</b>
	Ampicilline	<b>10 µg</b>
	céfalotine	<b>30 µg</b>
Aminosides	Gentamicine	<b>10 µg</b>
	néomycine	<b>30 µg</b>
cyclines	doxycycline	<b>30 µg</b>
quinolones	Ofloxacine	<b>5 µg</b>
Phenicoles	Chloramphénicol	<b>30 µg</b>
glycopeptides	Vancomycine	<b>30 µg</b>

---

## ANNEXE 3

### Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* ATCC 25923 (Addendum 2014).

Antibiotiques testés	Diamètres critiques		
	Sensible	Intermédiaire	Résistant
<b>Bêtalactamines :</b>			
Pénicilline	>37	26-37	<26
Oxacilline	>24	18-24	<18
Cefoxitine	>30	24-30	<24
Piperacillin	>33	25-33	<25
Ampicilline	>35	27-35	<27
céfalotine	>37	29-37	<29
<b>Aminosides :</b>			
Gentamicine	>27	19-27	<19
néomycine	>28	24-28	<24
<b>Cyclines :</b>			
doxycycline	>29	23-29	<23
<b>Quinolones :</b>			
Ofloxacine	>28	24-28	<24
<b>Phénicoles :</b>			
Chloramphénicol	>26	19-26	<19
<b>Glycopeptides :</b>			
Vancomycine	>21	17-21	<17

## Résumé

La recrudescence de la multi-résistance aux agents antimicrobiens constitue un problème majeur de santé publique.

La *S.aureus* une bactérie connue par sa multirésistantes

Sur la lumière de cette problématique, on a réalisé ce travail qui a pour objet d'évaluer la sensibilité de 37 souches de *S. aureus* isolées depuis des poissons collectés depuis deux ports (Bouharoune et la pêcherie d'Alger)

Au cours de notre étude nous avons marqué une résistance absolue aux Bêta-lactamines ainsi que l'existence d'une résistance envers le chloramphénicol ce qui signifie son utilisation bien qu'elle soit interdite.

Dans notre étude, on a pu isoler 31 profils différents d'antibiorésistance, Quinze (15) profils ont été trouvés dans les échantillons commercialisés dans la région d'Alger avec un taux de 49% et Seize (16) profils de résistance à Tipaza (51%).

Au finale, nous tenons à souligner le danger possible d'une transmission de souches antibiorésistantes depuis l'homme et l'animal terrestre à l'environnement marin surtout face aux traitements anarchiques par les antibiotiques.

## Mots clés :

*Staphylococcus aureus*, résistance aux antibiotiques, antibiogramme, poissons, antibiotiques

## Abstract

The resurgence of multi-resistance to antimicrobial agents is a major public health problem. The *S.aureus*, a bacterium known for its multi-resistant In light of this problem, we carried out this work, which aims to assess the sensitivity of 37 strains of *S. aureus* isolated from fish collected from two ports (Bouharoune and La Algiers fishery).

During our study, we noted an absolute resistance to beta-lactams as well as the existence of resistance to chloramphenicol, which means its use despite being prohibited.

In our study, we were able to isolate 31 different antimicrobial resistance profiles, Fifteen (15) profiles were found in the samples marketed in the Algiers region with a rate of 49% and Sixteen (16) resistance profiles to Tipaza (51%).

Finally, we would like to stress the possible danger of transmission of antibiotic resistant strains from humans and terrestrial animals to the marine environment especially when faced with anarchic treatment with antibiotics.

## Keywords:

*Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance, antibiotic susceptibility test, fish, antibiotics

## المخلص:

إن عودة ظهور المقاومة المتعددة للعوامل المضادة للميكروبات يمثل مشكلة صحية عامة كبرى.

المكورات العنقودية الذهبية هي بكتيريا معروفة بمقاومتها للأدوية المتعددة.

في ضوء هذه القضية، قمنا بتنفيذ هذا العمل الذي يهدف إلى تقييم حساسية 37 سلالة من هذه المكورات معزولة من الأسماك التي تم جمعها من مينائين (بوهارون و الجزائر)

خلال دراستنا لاحظنا وجود مقاومة مطلقة للبيتا لكتام وكذلك وجود مقاومة للكلورامفينيكول مما يعني استخدامه على الرغم من حظره.

في دراستنا، تمكنا من عزل 31 ملفاً مختلفاً لمقاومة مضادات الميكروبات، وتم العثور على خمسة عشر (15) ملفاً شخصياً في العينات التي تم تسويقها في منطقة الجزائر بمعدل 49% وستة عشر (16) ملفاً للمقاومة لتيبازة (51%).

أخيراً، نود التأكيد على الخطر المحتمل لانتقال سلالات مقاومة للمضادات الحيوية من البشر والحيوانات الأرضية إلى البيئة البحرية، خاصة في مواجهة العلاج الفوضوي بالمضادات الحيوية.

## الكلمات المفتاحية:

مقاومة المضادات الحيوية، مضاد حيوي، سمك، مضادات حيوية، مكورات عنقودية.