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

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة
ربيع بوشامة

# THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences

En Sciences Vétérinaires

## Thème :

# *Staphylococcus aureus isolé du lait cru de vache : sensibilité aux antibiotiques et recherche des entérotoxines*

Présentée par : **MATALLAH Asmaa Manel**

**Soutenue le : 10-03-2022**

**Devant les membres du jury**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Président** | HARHOURA Khaled | Professeur | ENSV |
| **Directrice de thèse** | RAMDANI Nadjia | Professeur | CHU Mustapha Bacha |
| **Co-directeur de thèse** | HAMDI Taha Mossadak | Professeur | ENSV |
| **Examinateur** | CHAHED Amina | Professeur | ENSV |
| **Examinateur** | ACHEK Rachid | M.C.A | U. Khemis Miliana |
| **Invitée d'honneur** | BOUAYAD Leila | Professeur | ENSV |

**Année 2021/ 2022**

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

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة
ربيع بوشامة

# THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences

En Sciences Vétérinaires

## Thème :

# *Staphylococcus aureus isolé du lait cru de vache : sensibilité aux antibiotiques et recherche des entérotoxines*

Présentée par : **MATALLAH Asmaa Manel**

**Soutenue le : 10-03-2022**

**Devant les membres du jury**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Président** | HARHOURA Khaled | Professeur | ENSV |
| **Directrice de thèse** | RAMDANI Nadjia | Professeur | CHU Mustapha Bacha |
| **Co-directeur de thèse** | HAMDI Taha Mossadak | Professeur | ENSV |
| **Examinateur** | CHAHED Amina | Professeur | ENSV |
| **Examinateur** | ACHEK Rachid | M.C.A | U. Khemis Miliana |
| **Invitée d'honneur** | BOUAYAD Leila | Professeur | ENSV |

**Année 2021/ 2022**

**RÉSUMÉ**

*Staphylococcus aureus* est un germe commensal qui fait partie de la microflore normale de la peau et du tractus intestinal chez les humains et au niveau mammaire chez les animaux. Bien que la pasteurisation élimine la bactérie, une fois formées les entérotoxines staphylococciques thermostables, persistent dans le lait le rendant très dangereux pour le consommateur. Notre travail a pour but d'étudier la prévalence de *S. aureus* dans le lait prélevé dans 03 laiteries différentes et à différents stades de transformation : (i) la citerne de collecte (ii) le tank de mélange (iii) et après pasteurisation. L'influence de la saison sur le développement de cette bactérie et sa sensibilité aux antibiotiques ont aussi été étudiées. L'isolement bactériologique des isolats a été réalisé suivant la méthode ISO 6888-1(1). La sensibilité à 12 antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire a été testée par la méthode Kirby Bauer. Sur un total de 377 échantillons de lait, 44,82% se sont révélés positifs à *S. aureus* et 24% des échantillons ont dépassé le seuil fixé par la réglementation de $10^3$UFC/ml. Une différence significative à été observée entre la contamination par *S.aureus* des laits prélevés aux différents stades avec un taux plus élevé pour le lait de citerne 49,84% (26,84% dépassaient le seuil de $10^3$UFC/ml) et moins élevée pour le lait pasteurisé 5,55%. Cependant, le dénombrement a montré une différence non significative mais la charge bactérienne la plus élevée a été enregistrée dans le lait de tank (5,01±3,80 $10^2$ UFC/ml) et une charge similaire dans le lait de citerne et du lait pasteurisé. La prévalence en fonction des saisons a montré une différence significative en faveur du printemps et de l'été avec des taux respectifs de 53,85% et 49,30%,les saisons chaudes sont favorables au développement de *S. aureus*, par contre le dénombrement n'a pas montré de différence, avec une charge bactérienne similaire entre le printemps et l'hiver 4,27±1,91 $10^2$ UFC/ml. La laiterie C a montré le taux le plus élevé de contamination 59,85% suivie de la laiterie B ensuite la laiterie A avec des taux respectifs de 41,62% ; 13,95%, la différence étant significative. La comparaison avec les seuils réglementaires a montré qu'au printemps le taux d'échantillons non satisfaisants était le plus élevé (31,41%). Le dénombrement a montré une charge plus élevée pour la laiterie C 6,46±1,66 $10^2$ UFC/ml ainsi que le nombre d'échantillons non satisfaisants (48/137) suivie par la laiterie A 1,70±4,68 $10^2$ UFC/ml. Au printemps, c'est la laiterie B qui a présenté la plus grande prévalence 26,92%, alors que pour le dénombrement c'est la laiterie A qui a pris le devant avec une charge de 2,52 $10^3$UFC/ml. Bien qu'elle ait présenté une faible prévalence pour l'été (7,04%) sa charge bactérienne (9,77±5,89 10 UFC/ml) la classe en deuxième position, derrière la laiterie C (2,75±2,34 $10^3$ UFC/ml). L'automne et l'hiver ont été marqués par l'absence de contamination dans la laiterie A. Parmi les isolats de *S. aureus* obtenus, 49,47% sont résistants à la pénicilline, 5,26% à la tétracycline, 4,21% à l'érythromycine, 2,10% à la céfoxitine, 2,10% à la clindamycine, 2,10% à l'oxacilline et 1,05% à l'ofloxacine. Aucune résistance n'a été observée pour la vancomycine, gentamycine et chloramphénicol. Aucune différence significative n'a été observée entre les taux de contamination des laits crus des collecteurs en fonction des saisons ($P \geq 0,05$). En conclusion, ces résultats soulignent l'importance du contrôle de *S. aureus* dans l'industrie laitière algérienne à différents stages pour préserver la santé publique.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus*, laiteries, lait de collecte, lait de tank, lait pasteurisé, sensibilité aux antibiotiques, saisons.

**ABSTRACT**

*Staphylococcus aureus* is a commensal germ that is part of the normal microflora of the skin and intestinal tract in humans and the mammary gland in animals. Although pasteurization eliminates the bacteria, once formed the thermostable staphylococcal enterotoxins persist in the milk making it very dangerous for the consumer. The aim of our work is to study the prevalence of *S.aureus* in milk collected from 03 different dairies at different stages of processing: (i) the collection tank (ii) the mixing tank (iii) and after pasteurization. The influence of the season on the development of this bacterium and its sensitivity to antibiotics were also studied. The bacteriological isolation of the strains was performed according to the ISO 6888 1(1) method. The sensitivity to 12 antibiotics used in veterinary medicine was tested by the Kirby Bauer method. Out of a total of 377 milk samples, 44.82% were positive to *S.aureus* and 24% of the samples exceeded the regulatory threshold of $10^3$UFC/ml. A significant difference was observed between the contamination by *S.aureus* of milk samples taken at different stages with a higher rate for tank milk 49.84% (26.84% exceeded the threshold of $10^3$ UFC/ml) and lower for pasteurized milk 5.55%. However, the enumeration showed a non-significant difference but the highest bacterial load was recorded in tank milk (5.01±3.80 $10^2$ CFU/ml) and a similar load in tank milk and pasteurized milk. The prevalence according to seasons showed a significant difference in favour of spring and summer with respective rates of 53.85% and 49.30%, the warm seasons are favourable to the development of *S.aureus*, on the other hand the enumeration showed no difference, with a similar bacterial load between spring or winter 4.27±1.91 $10^2$ CFU / ml. Dairy C showed the highest rate of contamination 59.85% followed by dairy B and then dairy A with the respective rates of 41.62%, 13.95%, the difference was significant. Comparison with regulatory thresholds showed that in the spring, the rate of non-compliant samples was the highest (31.41%). The enumeration showed a higher load for dairy C 6.46±1.66 $10^2$ CFU/ml as well as the number of non-compliant samples (48/137) followed by dairy A 1.70±4.68 $10^2$ CFU/ml. In the spring, Dairy B had the highest prevalence (26.92%), while in the enumeration, Dairy A had the highest prevalence with a load of 2.52 $10^3$ CFU/ml. Although it presented a low prevalence for the summer (7.04%) its bacterial load (9.77±5.89 10 CFU/ml) ranks it in second place, behind dairy C (2.75±2.34 $10^3$ CFU/ml).Fall and winter were characterized by the absence of contamination in Dairy A. Among the *S.aureus* isolates obtained, 49.47% were resistant to penicillin, 5.26% to tetracycline, 4.21% to erythromycin, 2.10% to cefoxitin, 2.10% to clindamycin, 2.10% to oxacillin and 1.05% to ofloxacin. No resistance was observed for vancomycin, gentamycin and chloramphenicol. No significant differences in contamination rates of raw milk from collectors by season ($P \geq 0.05$). In conclusion, these results highlight the importance of *S.aureus* control in the Algerian dairy industry at different stages to preserve public health.

**Key words:***Staphylococcus aureus*, dairies, collection milk, tank milk, pasteurised milk, antibiotic sensitivity, seasons.

**ملخص**

المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* هي جرثومة تشكل جزءًا من البكتيريا الطبيعية للجلد والقناة المعوية في البشر وعلى مستوى الضرع لدى الحيوانات. على الرغم من أن البسترة تقضي على البكتيريا، فبمجرد تكوين السموم العنقودية المقاومة للحرارة، فإنها تبقى في الحليب مما يجعلها خطيرة جدًا على المستهلك. يهدف عملنا إلى دراسة انتشار بكتيريا *S.aureus* في الحليب الذي تم جمعه من 03 مصانع الألبان وعلى مستويات مختلفة: (1) خزان التجميع (2) خزان الخلط (3) وبعد البسترة. كما تمت دراسة أثر الفصول على تطور هذه البكتيريا وحساسيتها للمضادات الحيوية. تم إجراء العزل البكتريولوجي للسلالات وفقًا لطريقة ISO 6888 1(1) ثم اختبار الحساسية لـ 12 من المضادات الحيوية المستخدمة في الطب البيطري بطريقة KirbyBauer.من إجمالي 377 عينةحليب،وجد,44,82 ٪ إيجابية لبكتريا المكورة العنقودية ومن وجهة نظر تنظيمية 24٪. فوق عتبة $10^3$ / UFCمل. لوحظ فرق إحصائي مؤكد بين الحليب الذي تم جمعه في المراحل المختلفة مع معدل أعلى للحليب الخزان 49.84٪ ( 26.84٪ تجاوز عتبة $10^3$/UFC مل) و أقل نسبة للحليب المبستر5.55٪. على العكس من ذلك، أظهر العد فرقًا غير ملموس ولكن أعلى حمولة البكتيري كانت عند مستوى الحليب من خزان الحليب $10^2$ 3.80 ± 5.01 UFC/مل وحمولة البكتيري مماثل من حليب الخزان والحليب المبستر. أظهر الانتشار حسب المواسم فرقًا معنويًا لصالح فصلي الربيع والصيف بنسب كل منهما بلغت 53.85٪ و 49.30٪ المواسم الحارة مواتية لتطور بكتيريا *S.aureus* ومن ناحية أخرى لم يظهر التعداد أي فرق، مع حمل مماثل بين الربيع والشتاء $10^2$ 1.91 ± UFC/ 4.27مل. وهي الملبنة (ج) التي أظهرت أعلى نسبة تلوث 59.85٪ تليها الملبنة (ب) ثم الملبنة (أ) بنسب 41.62٪ و 13.95٪ كان الفارق معنويا.وأظهرت المقارنة مع المعيار أن معدل العينات غير المتوافقة كان الأعلى في الربيع (31,41٪). أظهر العد حمولة أعلى لملبنة (ج) $10^2$ 1.66 ± UFC/ 6.46مل. بالإضافة إلى عدد العينات غير المتوافقة (137/48) تليها ملبنة (أ) $10^2$ 4.68 ± UFC/ 1.70مل ؛ كان الربيع، عند الملبنة ب ، هو الذي سجل أعلى نسبة انتشار 26.92٪ ، بينما احتلت الملبنة أ المرتبة الأولى بحمولة$10^3$ 2.52 UFC/ مل. على الرغم من أنها قدمت انتشارًا منخفضًا في فصل الصيف (7.04 ٪)، إلا أن حمولة البكتيري هو 10 5.89 ± 9.77 UFC/مل الذي يصنفها في المرتبة الثانية، خلف ملبنة (ج) $10^2$ 2.3410 ± 2.75 UFC/مل. تميز الخريف والشتاء بعدم وجود تلوث من ملبنةأ. من بين سلالات بكتريا المعزولة ، 49.47 ٪ كانت مقاومة للبنسلين، 5.26٪ للتتراسيكلين ، 4.21٪ إريثروميسين ، 2.10٪ سيفوكسيتين ، 2.10٪ كليندامايسين ، 2.10 ٪ أوكساسيللين و 1.05٪ أوفلوكساسين. لم يلاحظ أي مقاومة للفانكومايسين و الجنتاميسين و الكلورامفينيكول. لا يوجد فرق إحصائي مؤكد بين معدلات التلوث للحليب الطازج من مجمعين الحليب بدلالة الفصول. في الختام، تؤكد هذه النتائج على أهمية السيطرة على *S.aureus* في صناعة الألبان الجزائرية على مختلف المستويات للحفاظ على الصحة العامة.

**الكلمات المفتاحية** :المكورات العنقودية الذهبية، ملبنة، جمع الحليب، حليب خزان، حليب مبستر، حساسية للمضادات الحيوية، فصول السنة.

# Remerciements

C’est grâce à **ALLAH** que ce travail a vu le jour.

C’est grâce à **ALLAH** que toutes les portes même les plus blindées se sont ouvertes.

C’est **ALLAH** qui a mis sur mon chemin beaucoup de personnes sans lesquelles ce travail n’aurait pas abouti, je ne peux commencer ce travail qu’après l’avoir remercié « الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات ».

Pour commencer je tiens d'abord et avant tout à remercier ma directrice de thèse **PR RAMDANI-BOUGUESSA Nadjia** pour m'avoir ouvert une porte alors qu'elles étaient toutes fermées, merci de m'avoir fait confiance et d'avoir cru en moi.

Sans oublier mon co-directeur de thèse **Pr HAMDI Taha Mossadak**. Mr HAMDI nos chemins se sont croisés une fois et voila encore une fois que l'on se retrouve et je pense que nos chemins ne sont pas prêts à ce séparer, merci d'être aussi méticuleux et autant perfectionniste.

Je remercie du fond du cœur **Pr HARHOURA Khaled** d'avoir accepté de présider notre jury de thèse, pour moi c'est un honneur de vous avoir comme président, vous m'avez toujours encouragé, boosté, conseillé.

Mes vives remerciements vont vers :

Le **Dr ACHEK Rachid,** maitre de conférences A à l'université Djilali BOUANAAMA, Khemis-Miliana, merci d'avoir accepter d'examiner notre travail.

Le **Pr CHAHED Amina,** d'avoir accepter d'examiner notre travail, c'est un réel plaisir de vous avoir encore une fois dans mon jury de thèse.

J'ai l'honneur et le plaisir d'avoir comme invitée d'honneur, une sœur, une amie **Pr BOUAYED Leila**, merci d'avoir été là pour moi à chaque fois que j'ai eu besoin de toi tu es mon ange bienveillant.

Ce travail n'aurait jamais vu le jour sans mon ami, mon frère BOUDJELLABA Sofiane, tu étais là de jour comme de nuit, à toutes les saisons et pour tout le travail, toujours à veiller sur moi et à me faciliter la tache, nos discussions interminables, tes conseils précieux….. je n'aurais jamais assez de mots pour te remercier.

Ma profonde gratitude va vers toi BOUDJLLAL Louisa que dieu te garde pour nous notre louis d'or.

Je remercie mon très cher oncle Pr MATALLAH Mohamed pour son aide très précieuse sans la quelle je n'aurais pas pu avancer.

Parfois un simple conseil change tout et les votre m'étaient très précieux pour avancer, merci mes amies : MEBKHOUT Faiza, FERHAT Lilia.

Tu étais là quand j'ai démarré, tu es encore là lorsque je finalise, merci ma chère amie ZENAD Wahiba.

Beaucoup de personnes ont croisé ma route et m'ont aidé sans même le vouloir, par des conseils, ou même un simple sourire, merci à vous : AÏNOUZ Lynda, AOUANE Nedjma, BENOMHAND Chabha, ZAOUANI Mohamed, REMICHI Hayet, HANI Amira, REBOUH Meriem, BENALLAH Amel et BOUHAMED Radia.

Je tiens à remercier Dr Yahiaoui Fatima, Dr Messai Chafik et Meriem Biochimie pour leur aide précieuse

Tu m'as poussé à aller encore plus loin, à faire toujours plus, tu étais là par ton amour ta tendresse pour moi et tu feras à jamais partie de moi, merci Mama.

Papa, te dire merci ne suffira surement pas, je ne connais pas un autre mot qui représente ma gratitude envers toi, et en vers ce que tu fais pour moi et ma famille.

Un être très précieux à mon cœur toujours là à me soutenir, à me booster, à me faire avancer, merci Nazim.

Je tiens à remercier ma belle mère pour son aide, pour m'avoir facilité la vie lors de mon expérimentation.

Merci à la famille ZOUBA pour leur aide très précieuse.

Je tiens à remercier les responsables des laiteries Betouche, COLAITAL, LFB ainsi que tout le personnels de m'avoir ouvert leurs portes et en particulier Meriem et Sarah.

Je remercie les collecteurs des différentes laiteries de m'avoir permis de faire mes prélèvements en toute quiétude.

# Dédicaces

A ma bougie qui s'est éteinte en emportant avec elle une partie de moi ,Mama ,tu aurais aimé être là à voir l'aboutissement de tes sacrifices ,Mama tu étais pour moi la lumière qui guidait mes pas et tu le seras à jamais par l'amour que j'ai pour toi, vois en ce travail le fruit de tant d'années de labeur. Repose en paix Mama hanouna pour toi je franchirai toutes les barrières.

Au plier de mon existence, à celui qui se sacrifie encore et toujours pour moi et mes enfants, tu nous a toujours poussé à faire plus et tu nous a tout donné pour le faire, que ce travail soit le témoin de ma gratitude la plus sincère envers toi, Je t'aime Papa.

A toi mon cher Nazim tu as partagé avec moi toutes les difficultés sans jamais te plaindre, au contraire tu as tout fait pour que je puisse avancer, que dieu te garde pour moi.

A mes trois magnifiques fleures: Elyne, Mikel et Rymane vous êtes mon courage et ma joie, je vous aime fort.

A mes sœurs : Sarah et Hafidha, toute ma tendresse et mon amour va vers vous.

A toi petit frère, Akram, nous avons tant partagé ensembles et nous partagerons encore plus de bonheur inchallah.

A mes neveux : Amil, Sherine, Fael et Mahdi, je vous aime fort.

A mes beaux frère Kamel et Yanis et ma nouvelle petite sœur Lina toute ma tendresse.

A tout mes amis.

# Sommaire

**Introduction** ..... **1**

**Chapitre I : Bactériologie du Staphylococcus aureus** ..... **3**

**I Taxonomie** ..... **3**

**II Caractères généraux** ..... **3**

**II.1 Caractères morphologiques** ..... **3**

**II.2 Caractères culturaux :** ..... **4**

**II.3 Caractères biochimiques** ..... **5**

**III Réservoir de S. aureus** ..... **6**

**IV Méthode d'isolement et d'identification** ..... **7**

**IV.1 Isolement** ..... **7**

**IV.2 Identification** ..... **8**

**V Pouvoir pathogène** ..... **9**

**V.1 Chez l'homme** ..... **9**

**V.2 Chez l'animal** ..... **12**

**VI Facteurs de virulence staphylococciques** ..... **15**

**VI.1 Facteurs liés à la paroi** ..... **15**

**VI.2 Facteurs libérés dans l'environnement de la bactérie :** ..... **17**

**VII Antibiorésistance de S. aureus** ..... **27**

**VII.1 Origines de l'antibiorésistance** ..... **28**

**VII.2 Mécanismes de la résistance** ..... **28**

**VII.3 Résistance aux antibiotiques des staphylocoques** ..... **29**

**VIII S. aureus et biofilms** ..... **33**

**VIII.1 Généralités** ..... **33**

**VIII.2 Etapes de la formation des biofilms** ..... **35**

**Chapitre II : Staphylococcus aureus & Lait** ..... **36**

**I. Généralités sur le lait** ..... **36**

**I.1 Définition** ..... **36**

**I.2 Composition** ..... **36**

**I.3 Elaboration** ..... **37**

**II. Bactéries pathogènes** ..... **38**

**II.1 Salmonelles ..... 38**
**II.2 Listeria monocytogenes ..... 38**
**II.3 Escherichia coli O157:H7 ..... 39**
**II.4 S. aureus ..... 39**
**III. Conservation du lait par traitement thermique ..... 40**
**III.1 Pasteurisation ..... 40**
**III.2 Stérilisation ..... 41**
**Problématique et objectifs ..... 42**
**1 Matériels et méthodes ..... 43**
**1.1 Matériels ..... 43**
**1.1.1 Présentation des laiteries ..... 43**
**1.1.2 Echantillonnage ..... 44**
**1.2 Méthodes ..... 47**
**1.3 Analyse statistique ..... 56**
**RESULTATS 1 : Prévalence de S. aureus ..... 57**
**1 Prévalence de la contamination par S. aureus ..... 57**
**1.1 Prévalence globale ..... 57**
**Discussion 1 : Prévalence de la contamination à S. aureus ..... 64**
**RESULTATS 2 : Dénombrement des SCP ..... 69**
**1 Taux de contamination par les SCP ..... 69**
**1.1 Taux de contamination globale en SCP des différents lots ..... 69**
**1.2 Appréciation qualitative des échantillons testés ..... 71**
**2 Taux de contamination en SCP en fonction d'un seul facteur de variation ..... 71**
**2.1 Etude de l'influence du site de prélèvement sur le taux de contamination par les SCP et sur la qualité du lait ..... 71**
**3 Taux de contamination en SCP en fonction de deux facteurs de variation ..... 75**
**3.1 Etude de l'influence des laiteries et du site de prélèvement sur le taux de contamination par les SCP et sur la qualité du lait ..... 75**
**3.2 Etude de l'influence des laiteries et des saisons sur le taux de contamination par SCP et sur la qualité du lait ..... 77**
**Discussion 2 : Dénombrement des SCP ..... 81**
**RESULTATS 3 : Antibiogramme des isolats ..... 88**
**1 Antibiogramme des isolats ..... 88**

**1.1 sensibilité des souches isolées aux antibiotiques .....88**
**1.2 Taux de sensibilité des isolats aux antibiotiques.....88**
**1.3 profils de résistance aux antibiotiques des isolats.....89**
**1.4 Résistance à un antibiotique.....90**
**1.4.1 Effet du site de prélèvement sur la résistance à la pénicilline.....90**
**1.4.2 Effet des saisons sur la résistance à la pénicilline.....91**
**1.4.3 Effet des laiteries sur la résistance à la pénicilline .....91**
**1.5 Résistance à deux antibiotiques.....92**
**1.6 Résistance à quatre Antibiotiques.....92**
**1.7 Résistance à cinq antibiotiques.....92**
**DISCUSSION 3 : Antibiogramme des isolats .....94**
**CONCLUSION .....97**
**Perspectives et Recommandations : .....99**

**Liste des Tableaux**

**Tableau 1 :** Caractères de survie, de croissance et de toxinogenèse de S. aureus **(ANSES., 2011).** 4
**Tableau 2 :** Différenciation des espèces et sous-espèces de staphylocoques à coagulase positive et ou à clumping factor –positif **(Le Loire et Gautier, 2010)**. 5
**Tableau 3 :** Prévalence des mammites à S. aureus dans le monde. 15
**Tableau 4 :** Support génétique de certains gènes d'ES **(Le Loir et Gautier, 2010)**. 23
**Tableau 5** : Principaux facteurs impliqués dans la formation de biofilms chez S. aureus **(Le Loir et Gautier, 2010)**. 34
**Tableau 6:** Composition moyenne du lait de différentes espèces animales **(Vignola, 2002**). 37
**Tableau 7 :** Distribution des lots en fonction des laiteries et des sites de prélèvement. 46
**Tableau 8** : Evolution de la Prévalence de S.aureus en fonction du site de prélèvement pour chaque laiterie. 61
Tableau 9 : résistance des isolats à plusieurs antibiotiques. 93

## Liste des Figures

**Figure 1 :** Micrographie électronique de Staphylococcus aureus **(Freemane-Cook and Freemane-Cook, 2006).** 4
**Figure 2** : Syndrome de la peau ébouillantée (site web) 10
**Figure 3 :** Processus impliqués dans le développement d'un biofilm **(Fetsch, 2018)**. 35
**Figure 4:** Lactogènes simplifiée des principaux composants **(Debry, 2001)** 37
**Figure 5 :** Distribution des échantillons de lait récoltés en fonction des laiteries et des sites de prélèvement. 45
**Figure 6 :** Distribution des échantillons de lait récoltés en fonction des laiteries et des saisons. 45
**Figure 7:** Sites de prélèvement de lait à partir des citernes de collectes et du Tank de stockage. 47
**Figure 8:** Lecture des boites (Photo personnelle). 48
**Figure 9** Aspect des colonies caractéristique de S. aureus sur milieu Baird Parker (Photo 48
**Figure 10:** Aspect des isolats après purification sur GN (Photo personnelle) 49
**Figure 11 :** Résultat positif du test de catalase (Photo personnelle). 49
**Figure 12 :** Résultat positif du test de la coagulase (Photo personnelle). 50
**Figure 13 :** Résultats positif d'un isolat au test d'agglutination. 51
**Figure 14:** Prélèvement de colonies pour la préparation de la suspension bactérienne (Photo personnelle). 53
**Figure 15 :** Image représentant la comparaison de la suspension bactérienne à l'étalon Mc Farland. 53
**Figure 16** : Disques d'antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme (Photo personnelle) 54
**Figure 17 :** Dépôts des disques d'antibiotiques (Photo personnelle) 55
**Figure 18 :** zones d'inhibitions après incubation des boites (Photo personnelle) 55
**Figure 19 :** Prévalence globale de la contamination par S.aureus. 57
**Figure 20** : Prévalence de S.aureus en fonction du site de prélèvement. 57
**Figure 21 :** prévalence de S.aureus en fonction des saisons (P<0,05). 58
**Figure 22** : prévalence de S.aureus en fonction des laiteries. 59
**Figure 23 :** prévalence de S.aureus en fonction des laiteries et du site du prélèvement. 59
**Figure 24:** Evolution de la prévalence de S.aureus en fonction des laiteries et du site de prélèvement 60
**Figure 25 :** Prévalence de S. aureus dans chaque laiterie et en fonction des saisons. 62
**Figure 26 :** prévalence de S.aureus au fil des saisons pour chaque laiterie. 63
**Figure 27** : taux de SCP en fonction des lots. 69
**Figure 28 :** Taux de SCP du lot1. 70
**Figure 29** : taux de contamination en SCP en fonction des lots pour chaque laiterie. 70
**Figure 30 :** Appréciation qualitative des échantillons testés. 71
**Figure 31** : Taux SCP en fonction du site de prélèvement. 72
**Figure 32:** Effet du site de prélèvement sur la qualité du lait 72
**Figure 33 :** taux de SCP en fonction des saisons. 73
**Figure 34 :** Effet des saisons sur la qualité du lait 74

**Figure 35 :** Taux de SCP en fonction des laiteries _____ 74
**Figure 36 :** Effet des laiteries sur la qualité du lait _____ 75
**Figure 37 :** taux de SCP en fonction du site de prélèvement selon les laiteries _____ 76
**Figure 38 :** Effet des laiteries et du site de prélèvement sur la qualité du lait _____ 77
**Figure 39 :** taux de contamination en SCP des laiteries en fonction des saisons. _____ 78
**Figure 40 :** Effet des laiteries et des saisons sur la qualité du lait _____ 80
**Figure 41 :** sensibilité des isolats aux antibiotiques. _____ 88
**Figure 42 :** Taux de sensibilité des isolats aux antibiotiques. _____ 89
**Figure 43 :** Profils de résistance des isolats aux antibiotiques. _____ 89
**Figure 44 :** Profil de résistance des isolats à un antibiotique. _____ 90
**Figure 45 :** Profil de résistance à la pénicilline en fonction site de prélèvement. _____ 90
**Figure 46** : Profil de résistance à la pénicilline en fonction des saisons. _____ 91
**Figure 47 :** Profil de résistance à la pénicilline en fonction des laiteries. _____ 91
**Figure 48 :** Profil de résistance des isolats à deux antibiotiques. _____ 92

# *Liste des Abréviations*

**µm** : Micrometre

**ADN :** Acide DesoxyriboNucléique

**ARNm** :Acide ribonucléique messager

**Aur** : auréolysine.

**CAPD** : dialyse péritonéale ambulatoire continue.

**ClfA** : ClumpingFactors A

**ClfB** : ClumpingFactors B

**CMH** : complexe majeur d'histocompatibilité .

**Cna** :Collagenbindingprotein

**CPA** :cellules présentatrices d'antigène

**DHFR** :dihydrofolate–réductase

**DHPS** :hyperproduction de dihydroptéroate-synthétase.

**EFSA** : European Food Safety Autority

**ELFA** :enzyme-linkedfluorescent assay

**ELISA** :enzyme-linkedimmunosorbentassay

**ET** : toxines exfoliantes .

**FAME**:FattyAcidModifying Enzyme

**INVS** : 'Institut de veille sanitaire

**LFB** :laiterie fromagerie Boudouaou

**MR** :Methyl Red

**MSCRAMM** : RecognizinAdhesivematrix Molecules

**PVL** : La leucocidinePanton-Valentine

RPLA :reverse passive latex agglutination

# INTRODUCTION

# Introduction

En Algérie, la filière lait constitue une composante principale des secteurs agricoles et agroalimentaires. Sous l'effet de la pression démographique et du soutien des prix par l'état, les besoins en lait sont estimés à 4 milliards de litres par an **(MADRP, 2017).** La filière lait en Algérie fonctionne à 60% sur la base de poudre de lait importée par l'état suite au manque de production laitière et au faible taux de collecte, ce qui représente 12,56% de la facture alimentaire totale des importations en 2015 **(CNIS, 2015).** De par sa composition riche en nutriments ainsi que son pH, le lait cru très rapidement périssable **(Claeys *et al.*, 2013).** Il peut contenir divers microorganismes pathogènes pour l'Homme parmi lesquels *Staphylococcus aureus (S. aureus)* **(Abera *et al.*, 2016).** *S. aureus* est un micro-organisme souvent associé à des toxi-infections alimentaires dues à la consommation de lait cru et de produits laitiers à base de lait cru. Naturellement présent sur la peau, les fosses nasales ainsi que les mains, *S. aureus* peut facilement contaminer le lait suite aux diverses manipulations de l'homme **(Jorgensen *et al.*, 2005)** ou encore il peut provenir de la vache elle-même lorsqu'elle présente des lésions mammaires lors de mammites cliniques et/ou sub-cliniques **(Bradley, 2002).**

*S. aureus* est la principale source de toxi-infection alimentaire après les salmonelles, par la production d'entérotoxines staphylococciques qui sont fortement résistantes même au traitements thermiques **(ANSES, 2011)**. La maladie est caractérisée par une courte période d'incubation (4 h en moyenne), des nausées, des maux de tête, des vomissements violents, crampes abdominales et de la diarrhée, la mort peut faire suite à une déshydratation chez les personnes âgées et sensibles **(Holmberg et Blake, 1984).** Les traitements visant à éradiquer les infections à *S. aureus* sont difficiles car de nombreuses souches sont multirésistantes aux antibiotiques. L'émergence de ces bactéries résistantes aux antibiotiques est devenue ainsi un problème de santé publique mondiale qui touche la médecine humaine et vétérinaire **(Chardon *et al.*, 2014).** Néanmoins, la pasteurisation s'avère être la méthode optimale à appliquer afin de pallier aux problèmes engendrés par cette bactérie.

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris ce travail de recherche sur la présence de *S. aureus* au cours des différentes étapes du procédé de fabrication du lait pasteurisé, à commencer par le lait de collecte, ce qui devrait nous renseigner sur les origines de la contamination du lait pasteurisé ainsi que les voies de transmission de ce germe via cette

denrée, ainsi que l'influence de la saison sur le développement de cette bactérie. D'autre part, au vu du danger que représentent les souches résistantes aux antibiotiques pour la santé humaine et animale, nous avons jugé utile d'étudier la sensibilité des isolats obtenus aux principaux antibiotiques utilisés en milieux hospitalier et vétérinaire.

Les objectifs de notre étude sont :

- D'évaluer la prévalence de *Staphylococcus aureus* et la charge bactérienne en *Staphylococcus* à coagulase positive (SCP) dans le lait aux cours des différentes étapes du procédé de pasteurisation dans trois laiteries différentes ;
- D'étudier l'effet des saisons sur les taux de contamination du lait cru livré à ces laiteries;
- D'étudier l'antibiorésistance des isolats obtenus aux antibiotiques les plus fréquemment utilisés en médecine humaine et vétérinaire.

Notre document est scindé en deux parties :

- Une partie recherche bibliographique qui consiste à présenter la bactérie *S. aureus*, les méthodes de détection, son mode de transmission ainsi que les différentes pathologies engendrées par cette bactérie chez l'homme et l'animal. Ensuite nous avons présenté le lait, son élaboration, les contaminants du lait et le mode de contamination du lait par *S. aureus*.
- Une partie expérimentale scindée en trois volets :
  - Le premier volet est réservé à l'étude de la prévalence de *S. aureus* au cours des différentes étapes du procédé de fabrication du lait pasteurisé dans 03 laiteries différentes. Sont étudiés également l'effet des saisons et l'effet des laiteries. sur cette contamination.
  - Le deuxième volet concerne le dénombrement de *S. aureus* sous l'influence du site de prélèvement, des saisons, et des laiteries.
  - Le troisième volet est consacré à l'étude de la sensibilité des isolats récoltés aux antibiotiques les plus utilisés en médecine humaine et vétérinaire.

# REVUE DE LA LITTÉRATURE

# Chapitre I : Bactériologie du *Staphylococcus aureus*

## I Taxonomie

*Staphylococcus* et *Micrococcus* ont été pour longtemps deux genres bactériens au sein de la même famille, celle des *Micrococaceae*. Cette famille a été par la suite séparée, en raison de l'éloignement phylogénétique de ces deux genres. Les microcoques représentent un groupe hétérogène de la branche des Actinomycètes, tandis que les staphylocoques forment un groupe homogène relié à la branche des Clostridium **(De Buyser, 1996).**

Plusieurs espèces de *Staphylococcus* ont été décrites les plus fréquemment isolées sont : *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus et Staphylococcus aureus*.

En fonction de la capacité de production de la coagulase libre, les espèces sont classées en deux groupes : les staphylocoques à coagulase positive (SCP) et les staphylocoques à coagulase négative (SCP).Les SCP sont généralement plus pathogènes, cependant des études montrent l'implication des SCN dans plusieurs infections **(Garcıa *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2015).** *S. aureus* est une bactérie à Gram positif, elle est classée dans le règne ***bacteria*** puis dans le phylum ***firmicutes***. Sa taxonomie complète la positionne dans la classe des ***Bacilli*** puis dans l'ordre des *Bacilliales* **(Dwokin *et al.*, 2006; Le Loir et Gautier, 2010).**

La famille des Staphylococcaceaere groupe 5 genres : aureus, Gemella, Jeotgalicoccus, Macrococcus et salinicoccus **(Le Loir et Gautier, 2010).**

## II Caractères généraux

### II.1 Caractères morphologiques

*Staphylococcus aureus* est un cocci à Gram positif de 0,5 à 1,5µm associé en grappe**(Harris *et al.*, 2002),** paire ou en courtes chaines **(figure 01)**, il est généralement capsulé et non producteur de spores mais résistant sur les objets inertes et secs, il résiste aussi à la chaleur. La paroi de *S aureus* est constituée d'un peptidoglycane épais et très réticulaire représentant environ 50% de la masse de la paroi et résistant à l'action du lysosome, la paroi est aussi constituée de protéines de surfaces dont la protéine A et le facteur d'affinité pour le fibrinogène également appelé *clumping factor* ou coagulase liée **(Federighi, 2005).**

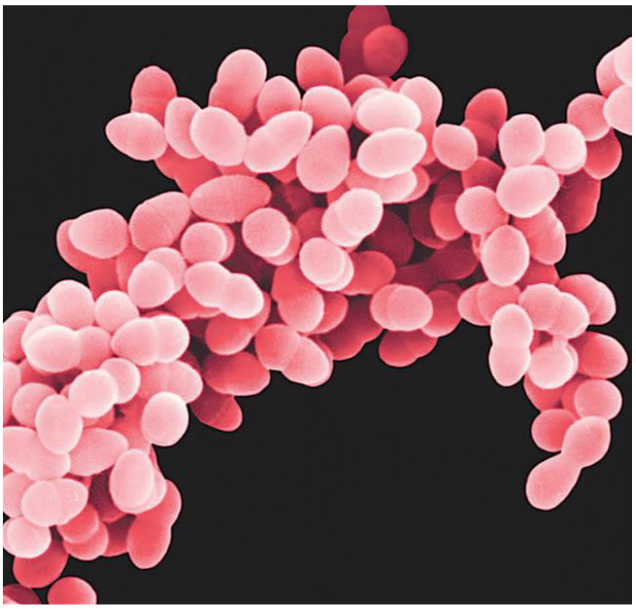

**Figure 1 :** Micrographie électronique de *Staphylococcus aureus* ***(Freemane-Cook and Freemane-Cook, 2006).***

### II.2 Caractères culturaux :

Les Staphylocoques tolèrent des concentrations élevées en sel **(Crossley et Archer, 1997; Bhatia et Zahoor, 2007)** et montrent une résistance à la chaleur **(Harris *et al.*, 2002).**C'est un germe mésophile qui pousse à des températures optimales comprises entre 30°C et 37°C(températures minimales : entre 5°C et 10°C ; températures maximales :environ 45°C). Il est capable de se multiplier à un pH compris entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de 7,0 à 7,5 **(tableau1) (Sutra *et al.*, 1998).**

**Tableau 1 :** Caractères de survie, de croissance et de toxinogenèse de *S. aureus* ***(ANSES., 2011).***

| Paramètres | Croissance | | Toxines (SE) | |
|---|---|---|---|---|
| | Optimum | Extrêmes* | Production optimale | Limites de production |
| Température (°C) | 35-41 | 6-48 | 34-40 | 10-45 |
| pH | 6-7 | 4-10 | 7-8 | 5-9,6 |
| $a_w$ | 0,99 | 0,83-0,99 | 0,99 | 0,86-0,99 |
| NaCl (%) | 0-4 | 0-20 | 0-4 | 0-10 |
| Atmosphère | aérobie | aéro-anaérobie | aérobie | aéro-anaérobie |

## II.3 Caractères biochimiques

*S. aureus* est un germe aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Il est Catalase + , coagulase +, phosphatase +mais ne possède pas d'activité oxydase **(Feinberg *et al.*, 2005; Taylor *et al.*, 2005)**. Les *S. aureus* sont aussi : indole⁻, acétone +, uréase +, VP +, MR +, réduisant le tellurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine **(tableau 2)** **(Fasquelle, 1974)**.

**Tableau 2 :** Différenciation des espèces et sous-espèces de staphylocoques à coagulase positive et ou à clumping factor –positif **(Le Loire et Gautier, 2010)**.

| Caractères | S-aureus | S-aureus subsp. anaerobius | S. delphini | S- hyicus | S. intermedius | S. lugdunensis | S. lutrae | S. sciuri subsp. carnaticus | S. sciuri subsp. rodentium | S. schleiferi | S. schleiferi subsp. coagulans |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Taille de la colonie | + | - | + | + | + | d | - | - | d | - | D |
| Pigmentation de la colonie | + | - | - | - | - | d | - | D | d | - | - |
| Croissance anaérobie | + | (+) | (+) | + | (+) | + | + | (d) | (d) | + | + |
| Croissance aérobie | + | ( ) | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Staphylocoagulase | + | + | + | D | + | - | + | - | - | - | + |
| Clumping fector | + | - | - | - | d | (+) | - | D | + | + | - |
| Thermonucléase | + | + | - | + | + | - | () | - | - | + | + |
| Hémolyse | + | + | + | - | d | (+) | + | ( ) | ( ) | (+) | (+) |
| Catalase | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Oxydase modifiée | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - |
| Phosphatase alkaline | + | + | + | + | + | - | + | D | d | + | + |
| Pyrrolidonyl arylamidase | - | ND | ND | - | + | + | ND | - | - | + | ND |
| Ornithine décarboxylase | - | ND | ND | - | - | + | ND | - | - | - | ND |
| Uréase | d | ND | + | D | + | d | + | - | - | - | + |
| ß-Glucosidase | + | - | ND | D | d | + | ND | + | + | - | ND |
| ß-Glucuronidase | - | - | ND | + | - | - | ND | - | - | - | ND |

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ß-galactosidase | - | - | ND | - | + | - | + | - | - | (+) | ND |
| Arginine dihydrolase | + | ND | + | + | d | - | - | - | - | + | + |
| Production d'acétoine | + | - | - | - | - | + | - | - | - | + | + |
| Réduction du nitrate | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Hydrolyse de l'esculine | - | - | ND | - | - | - | ND | + | + | - | ND |
| Resistance à la Novobiocine | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - |
| Production d'acide (en aérobie à partir de : | | | | | | | | | | | |
| D-Tréhalose | + | - | + | + | + | + | + | + | (+) | d | - |
| D-Mannitol | + | ND | - | (d) | - | d | + | + | + | - | D |
| D-Mannose | + | - | + | + | + | + | (d) | (d) | (+) | + | + |
| D-Turanose | + | ND | - | D | (d) | ND | ND | ND | ND | - | ND |
| D-Xylose | - | - | - | - | - | + | + | + | (d) | - | - |
| D-Cellobinose | - | - | - | - | - | ND | (d) | (d) | d | - | - |
| L-Arabinose | - | - | - | - | - | ND | D | D | (d) | - | - |
| Maltose | + | + | - | ( ) | + | + | (d) | (d) | (d) | - | - |
| Saccharose | + | + | + | + | + | ND | + | + | + | - | d |
| N-Acetylglucosamine | + | - | + | + | + | ND - | - | - | - | (+) | ND |
| Raffinose | - | - | - | - | - | ND | - | - | - | - | - |

**Symboles** : **+,** concerne 90% ou plus des souches ; -, 90% ou plus des souches sont négatives ; d, 11 à 89% des souches sont positives ; ND, non déterminé. ( ) Indique une réaction retardée.

## III Réservoir de *S. aureus*

L'homme et les animaux à sang chaud constituent les principaux réservoirs de *S. aureus.* Chez l'homme cette bactérie est principalement retrouvée au niveau de la sphère rhinopharyngée **(Federighi, 2005; ANSES, 2011).** Ce portage est plus fréquent chez l'enfant et en milieu urbain **(Federighi, 2005).** D'autre part le portage intestinal est observé chez 20 à 30% des adultes. *S. aureus* a également été isolé des différentes zones cutanées et proviendrait du portage nasal et intestinal **(Federighi, 2005).**

Chez les bovins et ovins *S. aureus* est retrouvé au niveau des fosses nasales (14% chez les ovins et 48% chez les bovins) **(Hachemi *et al* .,2021),** muqueuses génitales et les mamelles**(Sutra *et al.*, 1998)**. Les staphylocoques producteurs de coagulase sont responsables de 23% des mammites cliniques **(Guallache *et al.*,2021)**et sub-cliniques chez les vaches et chez les autres ruminants**(ANSES, 2011; Boss *et al.*, 2016)** ce qui constitue la principale source de contamination du lait **(Korpysa-Dzirba et Osek, 2011).**En effet, les produits laitiers sont parmi les aliments les plus fréquemment impliqués dans les flambées d'intoxications alimentaires staphylococciques **(De Buyser *et al.*, 2001; Benkerroum, 2017).** Ces bactéries sont également isolées de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air) ; des denrées alimentaires, du milieu hospitalier, des ateliers de préparations alimentaires ainsi que de l'environnement domestique de l'homme (cuisine, réfrigérateur) **(ANSES, 2011)**.

## IV Méthode d'isolement et d'identification

### IV.1 Isolement

Les Staphylocoques sont des bactéries peu exigeantes. Elles peuvent être isolées en bouillon ou en gélose solide simple tel que la gélose au sang, elles apparaissent de taille variable (1 à3mm après 24h d'incubation).Elles sont circulaires, opaques et légèrement bombées. La pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune jusqu'au jaune doré**(Denis *et al.*, 2007).** Les souches typiques de *S. aureus* peuvent présenter une coloration jaune dorée entourées d'une hémolysine β **(Denis *et al.*, 2016; Tallent *et al.*, 2016).**

Des milieux sélectifs peuvent être utilisés tels que :

- **Le milieu sélectif de Chapman** : milieu gélosé hyper salé contenant du mannitol réservé à l'identification des colonies de *S. aureus* par la présence d'un halo jaune **(Denis *et al.*, 2016).**
- **Le milieu Baird Parker(BP)** : constitué de peptone, d'extrait de viande et d'extrait de levure. La présence de pyruvate de sodium favorise la récupération des germes stressés, il est également enrichi en tellurite de potassium et en jaune d'œuf, en glycine **(Federighi, 2005).**

## IV.2 Identification

### IV.2.1 Identification du genre

La formation de bulles d'oxygène lors de l'introduction de colonies dans du peroxyde d'hydrogène($H_2O_2$) témoigne de la présence d'une catalase qui permet de différencier parmi les Cocci à Gram positif, les Staphylocoques, des streptocoques **(Denis *et al.*, 2016; Tallent *et al.*, 2016).**

### IV.2.2 Identification de l'espèce

Différents tests peuvent être utilisés pour le diagnostic différentiel entre les espèces *S. aureus* et les autres espèces :

- Recherche de la coagulase libre qui est aussi bien présente chez *S. aureus* que *chez S. intermedius, S.schleiferisubsp.coagulans, S. hycus* et *S. pseudo intermedius* **(Sutra *et al.*, 1998).** Ce test consiste à mettre en évidence l'aptitude de la bactérie à coaguler le plasma de lapin.
- Recherche du facteur d'affinité pour le fibrinogène (coagulase liée ou clumping factor). Il est présent chez *S. aureus, S. lugdunensis, S. intermedius* et *S. schleiferi* **(Denis *et al.*, 2016),** ce facteur est mis en évidence par l'agglutination rapide du plasma humain dilué au 1/5$^{ème}$.
- Recherche de la protéine A : elle est présente chez *S. aureus* mais aussi chez *S.schleiferi subsp.coagulans*, la plupart des souches de *S. hyicus* et de rares souches de *S. intermedius*, ce test consiste à rechercher l'agglutination sur lame des staphylocoques mis en présence d'hématies de mouton sensibilisées par du sérum de lapin anti-hématies de mouton ou de particules de latex recouvertes d'IgG **(Denis *et al.*, 2016).**

### IV.2.3 Identification moléculaire

Depuis 1990, la recherche des gènes de *S. aureus* par PCR ne concerne pas seulement l'ADN des souches en culture pure, elle est également utilisée pour l'ADN d'extraits alimentaires. Elle concernait préférentiellement les gènes codant des entérotoxines, mais ces derniers n'étaient pas toujours présents chez *S.aureus*. Le choix s'est également porté sur les gènes spécifiques de cette l'espèce, comme le nuc de la thermonuclease. **Ikeda et al. (2005)** ont détecté les gènes des entérotoxines dans du lait écrémé en poudre responsable de TIAC **(Le Loir et Gautier, 2010).**

# V Pouvoir pathogène

## V.1 Chez l'homme

Du point de vue clinique *S. aureus* est responsable de plusieurs types d'infections **(Sutra *et al.*, 1998).**

- Infection des muqueuses et de la peau :
- Infections viscérales ;
- Maladie de Ritter ;
- Syndrome du choc toxique ;
- Intoxinations alimentaires.

### V.1.1 Infections des muqueuses et de la peau

Les infections cutanées peuvent aller de l'état superficiel(staphylococcies bulleuses) à l'état profond(furoncles) **(Sutra *et al.*, 1998).** Une étroite relation entre la furonculose et le SARM communautaire a été formellement établie lors d'une étude menée par **Frazee *et al*.** en 2005. Les angines, les sinusites et les otites sont les principales infections des muqueuses **(Sutra *et al.*, 1998).** La multiplication et la dissémination de *S. aureus* dans la circulation sanguine résulte soit d'une infection cutanéo–muqueuse (plaies infectées ou de furoncles) soit en milieu hospitalier par les cathéters veineux ou les sondes urinaires, le germe pénètre par les micro- lésions cutanées **(Sutra *et al.*, 1998).**

### V.1.2 Infections viscérales

Certaines infections viscérales telles que la pneumonie, la pyélonéphrite, la méningite, l'ostéomyélite l'abcès conjonctif et l'endocardite peuvent être consécutives ou non à une septicémie **(Le Minor et Véron, 1984; Sheagren, 1984).**

### V.1.3 Les Syndromes

*S.aureus* produisent une à plusieurs toxines particulières mises en cause dans certains syndromes tels que **(Sheagren, 1984; Ladhani *et al.*, 1999) :**

- La maladie de Ritter du nouveau-né **(figure2)** ou syndrome de la peau ébouillantée (Staphylococcal scalded skin syndrome dite aussi : SSSS) : il s'agit d'un syndrome provoqué par les toxines épidermolytiques appelées ETA et ETB touchant le nouveau-né, l'enfant de moins de 5 ans et plus rarement les adultes **(Yamasaki *et al.*, 2005b).** Il se traduit par un décollement bulleux des couches superficielles de l'épiderme **(Sheagren, 1984)**.

**Figure 2** : Syndrome de la peau ébouillantée (site web)

– Syndrome du choc toxique staphylococcique : En 1980 plusieurs cas ont été observés suite à l'utilisation de tampons super absorbants pendant la période menstruelle **(Lowy, 1998).** Des cas non menstruels ont fait suite à des interventions chirurgicales survenant dans les48h et jusqu'à 8semaines en post-opératoire par l'infection du site opératoire. Cette pathologie est due à l'action de toxines staphylococciques appelées super antigènes, et se traduit par des dérèglements physiologiques multiples (hyperthermie, diarrhées, vomissements, détresse respiratoire aigüe, rougissement cutané, hypotension artérielle) **(Mc Cormick *et al.*, 2001; Murray, 2005).**

### V.1.4 Les toxi-infections alimentaires (TIA)staphylococciques

Les TIA dues à *S.aureus* ne sont pas des pathologies graves mais sont relativement fréquentes plus que ne le laissent croire les statistiques qui ne comptent que les cas de TIA collectives **(Sutra *et al.*, 1998).**Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) se caractérise par l'apparition d'aux moins deux cas d'une même maladie à symptomatologie généralement gastro-intestinale, dont la cause peut être rapportée à un même aliment **(Delmas *et al.*, 2006).** Les TIAC à staphylocoque sont dues à l'ingestion d'une toxine protéique (entérotoxines) préformée dans l'aliment par des souches entérotoxinogènes de staphylocoques à coagulase positive, certaines conditions doivent être réunies pour que l'aliment devienne toxique.

Une TIAC n'est confirmée que si :

– Le dénombrement de *S. aureus* dans l'aliment suspecté est supérieur à $10^5$ unités formant colonies.
– Détection des entérotoxines dans l'aliment incriminé.

- Isolement à partir des fèces des malades et de la matrice alimentaire d'une souche de *S.aureus* de même lysotype **(Bryan *et al.*, 1997).**
- C'est l'ingestion d'entérotoxines et non des staphylocoques qui est responsable des symptômes des TIA à *S.aureus,* il aurait été plus intéressant de rechercher les entérotoxines préformées dans l'aliment que la bactérie elle-même pour juger de la salubrité d'un aliment d'autant plus qu'en l'occurrence, la bactérie est moins stable que les toxines qu'elle produit, mais les méthodes de détection des entérotoxines sont couteuses, parfois difficiles à interpréter et ne permettent pas de détecter toutes les entérotoxines **(Federighi, 2005).**

Les foyers sont classés en 3 catégories **(Bryan *et al.*, 1997) :**

- Confirmés : lorsque l'agent pathogène est mis en évidence à partir d'un prélèvement alimentaire ou de selles ou de sang.
- Suspectés : lorsque l'agent pathogène n'a pas été mis en évidence, mais qu'il est suspecté à l'aide d'orientation étiologique prenant en compte, l'aliment consommé, la durée d'apparition des symptômes et les signes cliniques.
- Inconnus : lorsque l'agent pathogène n'est ni confirmé ni suspecté.

### V.1.4.1 Epidémiologie des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)

Les TIAC sont généralement bénignes mais peuvent devenir graves chez les personnes fragiles telles que les nourrissons ou les personnes âgées **(Bacha, 2015).** En 2005,23 états membres de l'European Food Safety Autority (EFSA) ont présenté 5311 foyers touchant 47251personnes et provoquant le décès de 24 personnes. L'agent pathogène incriminé en premier lieu a été *Salmonella* spp. avec 63,6%des foyers, vient ensuite *Campylobacter* avec 9,2% des foyers, les virus avec 6% puis les entérotoxines staphylococciques avec 3,1%des foyers **(EFSA, 2006).** Cependant nombreux sont les auteurs qui considèrent que *S. aureus* est une des causes majeures de TIAC. En effet, les agents pathogènes les plus fréquemment suspectés lors de la survenue de TIAC étaient toujours les agents toxiniques. *S. aureus, Bacillus cereus et Clostridium perfringens* représentant globalement 70% des TIAC où un agent a été suspecté **(INVS, 2019)**.En France l'institut de veille sanitaire a recensé 5847 foyers de TIAC dans la période entre 1996-2005dont 1100 avaient pour origine *S.aureus* **(INVS, 2012).** L'incidence varie d'un pays à un autre selon le système de surveillance mis en place **(INVS, 2009)**.

En Algérie, les cas de toxi-infections alimentaire collective ne sont pas systématiquement déclarés malgré l'exigence de l'Arrêté N°179MS/CABdu17/11/90 fixant la liste de maladies à déclaration obligatoire et les modifications de notification et la circulaire N°1126/MS/DP/SDPG du 17/11/90 relative au système de surveillance des maladies transmissibles. En 2015, le taux d'incidence des TIAC était de 15,67 cas pour 100.000 habitants **(INSP, 2015)**. En effet ce problème prend de l'ampleur en saison estivale car le consommateur a tendance à se diriger vers la restauration rapide où les règles d'hygiène sont souvent absentes **(Bacha, 2015).**

### V.1.4.2 *Signes cliniques*

La période d'incubation et la sévérité des symptômes dépendent de la concentration d'entérotoxines ingérées et de la sensibilité individuelle **(Harvey et Gilmour, 2000).** La maladie se limite généralement à des symptômes gastro-intestinaux mais peut parfois être plus grave, voire mortelle. La durée d'incubation est courte et le tableau clinique se caractérise par des nausées, des maux de tête, des vomissements sévères, des crampes abdominales et des diarrhées pouvant entrainer la mort des personnes les plus vulnérables (personnes âgées et les enfants en bas âge) **(Tarekgne *et al.*, 2016).**

## V.2 Chez l'animal

Chez les animaux, *S. aureus* est responsable de plusieurs pathologies telles que :

### V.2.1 Staphylococcie du lapin

*S. aureus* est un germe commensal de la peau des lapins, de distribution universelle. Il est responsable de septicémies mortelles chez le jeune dans le nid ou comme une inflammation de presque tous les organes et tissus chez sujets plus âgés, les lapins adultes peuvent présenter des mamelles cyanosées d'où le nom de *Blue breasts* **(Aiello, 2002).**

### V.2.2 Staphylococcie des volailles

Partout où les volailles sont élevées *S. aureus* semble présent, il fait partie de la flore normale de la peau et des muqueuses. Plusieurs infections ont été signalées suite à la contamination souvent par des plaies accidentelles telles que l'infection des os, des articulations des gaines tendineuses, du bréchet, de la peau, du foie, des poumons et des paupières. La mort est souvent rapide chez les poules pondeuses par septicémie **(Aiello, 2002).**

### V.2.3 Les mammites staphylococciques

Selon l'espèce bactérienne en cause, les infections mammaires se manifestent soit par des mammites sub-cliniques ou cliniques et le passage d'un état à un autre se fait dans les deux sens **(Gourreau et Bendali, 2008).** En élevage, elles représentent les principales pathologies chez les femelles en lactation (vaches, chèvres et brebis).C'est les infections mammaires qui sont souvent sub-cliniques chez la vache et passent inaperçues, alors qu'elles sont gangreneuses chez la brebis et la chèvre. Lors de mammites bovines, plusieurs agents pathogènes sont mis en cause, mais historiquement les Staphylocoques, les Streptocoques et les coliformes sont considérés comme les plus fréquents **(Thomas *et al.*, 2015).** *S. aureus* serait responsable de 20à 40% des mammites sub-cliniques et de 15 à 30% des mammites cliniques **(Hermier *et al.*, 1992).** Quelques unités formant colonie (UFC) suffisent pour induire une pathologie, ce qui indique que ce pathogène opportuniste s'est bien adapté à l'environnement intra mammaire.

La majorité des mammites sont provoquées par des staphylocoques à coagulase négatives, mais celles provoquées par *S.aureus* sont caractérisées par une forte inflammation qui cède rarement aux traitements par les antibiotiques **(Rainard, 2005).** L'industrie laitière semble être plus menacée par les mammites sub-cliniques qui sont 40à 50 fois plus fréquentes que les mammites cliniques **(Marimuthu *et al.*, 2014).**

Un examen minutieux de la mamelle doit être appliqué systématiquement avant chaque traite pour détecté les signes de mammites cliniques. Afin de jeter le lait anormal et de traiter l'animal touché le plus rapidement possible et minimiser les risques de transfert de l'infection**(Andrews *et al.*, 2008).** Néanmoins, les mammites sub-cliniques sont à l'origine d'un afflux de cellules dans le lait du quartier atteint et ne manifeste aucun signe clinique visible **(Gourreau et Bendali, 2008).** Ce qui peut conduire à des pertes de production très importantes **(Hovinen et Pyörälä, 2011; Mamache *et al.*, 2011)** et à la propagation de l'infection au sein du troupeau laitier à l'occasion d'une traite soit par les mains du trayeur ou par l'utilisation d'une même lavette sur plusieurs vaches ou les manchons trayeurs **(Gourreau et Bendali, 2008).** La perte économique engendrée par les mammites réside dans la diminution de la production laitière et de la qualité du lait des quartiers infectés car le lait «à cellule » est moins riche en lactose et en caséine **(Durel *et al.*, 2011)**ainsi que dans la réforme précoce de l'animal atteint, les frais de traitement vétérinaire et l'élimination des laits de mammites cliniques et des laits contenant des résidus d'antibiotiques **(Seegers *et al.*, 2003).** Du point de vue sanitaire *S.aureus* représente un

réel danger pour le consommateur car la plupart des souches isolées du lait produisent des entérotoxines. Les fabrications à base de lait cru peuvent être altérées suite à l'ensemencement du lait de mélange par des laits provenant de glandes infectées.

### V.2.3.1 Symptômes

Chez la vache lorsque la mamelle est nouvellement contaminée par *S. aureus* l'infection passe d'abord par une phase d'état où la concentration cellulaire est supérieure à1 million/ml. Le quartier infecté devient chaud, enflé, douloureux avec des grumeaux dans le lait, cette phase peut aussi s'accompagner d'une hyperthermie et d'une perte d'appétit. Elle est suivie par une phase sub-clinique sans symptômes cliniques avec comme seul signe l'élévation de la concentration cellulaire (entre 200.000et 2 millions/ml), ce passage à la chronicité est le plus fréquent, environ 80% des nouvelles infections persistent pendant toute la lactation **(Rainard et Poutrel, 1982).** Dans certains cas la mammite passe directement sans signes préalable vers un état suraigue où l'animal est retrouvé en décubitus avec une mamelle très enflée et douloureuse et un lait sereux à sanguinolent,cette forme se transforme parfois en mammites gangreneuse ischièmique avec cloration bleuâtre du quartier atteint,la mort survient dans certains cas ou sinon une perte de la glande atteinte par une nécrose **(Le Loir et Gautier, 2010).**

### V.2.3.2 Prévalence des mammites Staphylococciques

L'implication de *S.aureus* dans le lait mammiteux a été démontrée dans plusieurs études menées dans le monde, nous n'avons repris que quelques-unes dans le **tableau 3** afin de donner une idée sur les mammites staphylococciques, en particulier en Algérie.

***Tableau 3* :** Prévalence des mammites à *S. aureus* dans le monde.

| Pays | % de *S.aureus* | Référence |
|---|---|---|
| République Tchèque | 9 | (Cervinkova *et al.*, 2013) |
| République Tchèque | 29,7 | (Vlkova *et al.*, 2017) |
| Inde | 37,50 | (Sharma *et al.*, 2015) |
| Chine | 77,38 | (Ren *et al.*, 2020) |
| Ethiopie | 51,2 | (Abebe *et al.*, 2016) |
| Chine | 46,2 | (Wang *et al.*, 2018) |
| Algérie | 8,5 | (Zaatout *et al.*, 2019b) |
| Algérie | 5,30 | (Zaatout *et al.*, 2019a) |
| Algérie | 62,2 | (Achek *et al.*, 2020) |
| Algérie | 29,81 | (Akkou *et al.*, 2016) |
| Algérie | 40 | (Saidi *et al.*, 2013) |

## VI Facteurs de virulence staphylococciques

La production de toxines est généralement retrouvée chez les staphylocoques à coagulase positive, ce qui a sans doute contribué à leur prédominance lors des infections. La production d'enzymes extra cellulaires telles que les protéases, lipases, et les nucléases thermostables est une particularité commune à ces espèces **(Scott Mc Vey *et al.*, 2013) .** *S. aureus* provoque un large éventail d'infections qui sont liées à de nombreux facteurs de virulence impliqués dans l'adhésion, l'échappement aux défenses immunitaires, la pénétration et la diffusion du germe dans les tissus **(Wright *et al.*, 2005) .** Ces facteurs sont soit associés à la paroi de la bactérie(facteurs d'adhésion : protéine A polyosides capsulaires et *clumping factor*) soit libérés dans l'environnement de la bactérie (coagulase, toxine, enzyme) **(Sutra *et al.*, 1998; Freney *et al.*, 2000).**

### VI.1 Facteurs liés à la paroi

#### VI.1.1 Facteurs d'adhésion

L'adhésion constitue la première étape lors d'une infection, elle se fait par deux mécanismes : le premier non spécifique mettant en jeux des liaisons hydrophobes, le second spécifique est assuré par des adhésines parmi lesquelles les adhésines associées au peptidoglycane de la bactérie par des liaisons covalente appelées Microbial Surface

Components Recognizin Adhesive matrix Molecules (MSCRAMM) **(Chavakis *et al.*, 2005).**

### VI.1.1.1 Protéine A

La protéine A(Spa) est une protéine de surface majeure chez *S. aureus*. Elle est qualifiée de facteur de virulence pléiotropique, de par ses rôles dans l'interaction avec l'hôte**(Le Loir et Gautier, 2010).** C'est une exoprotéine de 42KDa qui est présente sous forme sécrétée ou liée à la paroi **(Shopsin *et al.*, 1999; Ruppitsch *et al.*, 2006) .** Elle permet à *S. aureus* de lier les Ig afin d'échapper à l'immunité humorale **(DeFranco *et al.*, 2009).** Elle est aussi appelée Spa et fut la première MSCRAMM décrite, elle assure la liaison de *S. aureus* au facteur de Von Willebrand présent au niveau des lésions épithéliales **(Navarre et Schneewind, 1999; Hartleib *et al.*, 2000 ).**

### VI.1.1.2 Polyosides capsulaires

Ils sont produits chez 90% des souches de *S.aureus* **(Thakker *et al.*, 1998).** Deux sérotypes prédominent le sérotype 5 et 8. Ils forment des microcapsules pouvant masquer la paroi, ce qui permet au germe d'échapper à la phagocytose **(Foster, 1991; Sutra et Poutlrel, 1994 ; Lee, 1996)** en empêchant l'opsonisation par les neutrophiles. Ils sont aussi associés à une augmentation de la virulence chez l'animal**(Thakker *et al.*, 1998).**

### VI.1.1.3 Adhésines

Ce sont des protéines de surface qui permettent à *S. aureus* de se lier à différentes protéines de l'hôte **(Harraghy *et al.*, 2003).** Elles permettent la fixation :

- A la fibronectine (Fn) grâce aux FnBPA et FnBPB (Fibronectine Binding Proteins) : Fn se trouve à la surface des cellules épithéliales et endothéliales et peut être un facteur favorisant la colonisation bactérienne lors de CAPD (dialyse péritonéale ambulatoire continue),péritonites, d'endocardite invasive et de mammites des ruminants **(Foster et McDevitt, 1994).**
- Au fibrinogène grâce aux ClfA et ClfB (Clumping Factors) : La fibronectine et le fibrinogène sont des glycoprotéines sous forme soluble dans le plasma et sous forme insoluble dans la matrice extracellulaire.

Par ces deux facteurs d'adhésion (FNBP el Clf) *S. aureus* a la capacité d'adhésion aux cellules de l'hôte mais également aux biomatériaux tels que les cathéters **(Menzies, 2003).**

- Au collagène grâce aux Cna (Collagen binding protein) qui sont souvent retrouvés lors d'ostéomyélite et d'arthrite septiques, ils adhèrent presque toujours au collagène et au cartilage in vitro **(Patti *et al.*, 1992).** Les Cna sont des déterminants majeurs lors d'ostéomyélites et d'arthrites septiques causées par *S. aureus* **(Patti *et al.*, 1994).**

Tous ces mécanismes d'attachement permettent une adhésion aux cellules de l'hôte et leur colonisation **(Rowling *et al.*, 2010).**

### VI.2 Facteurs libérés dans l'environnement de la bactérie :

#### VI.2.1 La coagulase

La coagulase est une protéine de 60kDa capable de fixer le fibrinogène **(Bodén et Flock, 1989).** Elle entraine la coagulation du plasma sanguin aboutissant ainsi à la formation d'un thrombus **(Foster, 1991; Sutra et Poutlrel, 1994 ; Lee, 1996)** par sa liaison à la prothrombine formant un complexe coagulase-prothrombine appelé staphylothrombine qui entraine la polymérisation du fibrinogène en fibrine **(Kawabata *et al.*, 1985).**

#### VI.2.2 Les enzymes

##### VI.2.2.1 Protéases

Quatre protéases extra- cellulaires majeures sont produites par *S.aureus* : la sérine protéase (SspA) et la cystéine protéase (SspB) qui sont traduites par le même ARNm. La métalloprotéase ou auréolysine (Aur) et une autre cystéine protéase (ScpA) codées par des loci différents. Ces protéases régulent l'adhésion de la bactérie **(Rice *et al.*, 2001).**

##### VI.2.2.2 Lipases

Les lipases sont des enzymes associées à la virulence de *S.aureus.* Elles contribuent à la survie de la bactérie en inactivant les lipides bactéricides. Elles interfèrent avec la fonction granulocytaire de l'hôte **(Rollof *et al.*, 1988; Rollof *et al.*, 1992)** et clivent les acides gras de la peau et favorisent la pénétration de la bactérie à travers la barrière cutanéo- muqueuse **(Long *et al.*, 1992).**

##### VI.2.2.3 FAME (Fatty Acid Modifying Enzyme)

*S. aureus* exprime une enzyme modifiant les acides gras bactéricides **(Long *et al.*, 1992)** en estérifiant les groupements acides gras en cholestérol. La production de FAME est le principal mécanisme de résistance aux lipides bactéricides. Environ 80% des souches de *S.*

*aureus* élabore la FAME, mais la quantité produite par différentes souches varie considérablement, et seuls les staphylocoques producteurs de FAME semblent capables de survivre dans les tissus de l'hôte **(Wadström *et al.*, 2012).**

### VI.2.2.4 Staphylokinases

Les staphylokinases sont impliquées dans la formation de foyers septiques secondaires par l'activation du plasminogène en plasmine conduisant à la dislocation du thrombus riche en bactéries. Elles se lient aux α-défensines qui sont des peptides bactéricides secrétés par les neutrophiles de l'hôte, cette liaison abolit leurs propriétés bactéricide **(Bokarewa *et al.*, 2006).** Ces enzymes permettent aussi de cliver les IgG et le fragment C3b du complément qui vont se fixer sur la paroi pour empêcher la phagocytose **(Foster, 2005)**.

### VI.2.2.5 L'hyaluronidase

L'hyaluronidase a été décrite aussi bien chez les bactéries à gram positif que celles à gram négatif. C'est une enzyme qui dégrade principalement l'acide hyaluronique, un composant majeur de la matrice extracellulaire de l'homme, elle constitue un moyen d'envahissement des tissus et une source d'énergie et de carbone **(Cheng *et al.*, 1995; Stern et Jedrzejas 2006).**Cette enzyme diminue la viscosité des fluides corporels et est également impliquée dans la pathogenèse bactérienne et la propagation des toxines **(Girish et Kemparaju, 2007).**

### VI.2.2.6 Catalase

La catalase est une enzyme qui permet de différencier entre les staphylocoques et les streptocoques **(Brooks *et al.*, 2004)**. Elle favorise la conversion du peroxyde d'hydrogène, un oxydant puissant et potentiellement nocif, en eau et oxygène moléculaire **(Aarestrup *et al.*, 1999).** Sa principale fonction dans les cellules est donc d'empêcher l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène formé comme sous-produit des processus métaboliques **(Mustafa, 2014).**

### VI.2.3 Les toxines

Elles sont généralement décrites comme étant des substances toxiques qui ont un effet nocif direct sur l'hôte **(Otto, 2014).** Elles sont divisées en 3 groupes :

- Les toxines à tropisme membranaire ;
- Les exfoliatines;
- Les toxines superantigéniques.

### VI.2.3.1 Les toxines à tropisme membranaire

La membrane cellulaire est la cible de beaucoup de toxines parmi elles celles élaborées par *S.aureus* **(Otto, 2014).** Ces toxines engendrent soit la formation de canaux membranaires dans les cellules cibles laissant passer les ions **(Le Loir et Gautier, 2010)**, elles sont donc cytolytiques **(Otto, 2014),** soit une déstabilisation des structures membranaires par action enzymatique **(Le Loir et Gautier, 2010).** Elles sont divisées en 4classes : les hémolysines α, β et δ et les toxines à deux composants.

#### VI.2.3.1.1 L'hémolysine α

C'est un polypeptide de 33 kDa sécrété par 95% des souches cliniques de *S. aureus* **(Grumann *et al.*, 2014).** Elle est codée par le gène HLA et secrétée sous forme de monomère qui se regroupe en heptamère lytique dans la membrane plasmique des cellules cibles telles que les érythrocytes, les lymphocytes, les plaquettes, kératinocytes et les fibroblastes humain **(Song *et al.*, 1996).** Les propriétés cytotoxiques de l'hémolysine α résultent de la formation de canaux et la mort des cellules résulte des fuites d'ions, d'eau et des molécules de faible poids moléculaire hors et dans la cellule **(Bhakdi et Tranum-Jensen, 1991).**

#### VI.2.3.1.2 L'hémolysine β (sphingomyélinase C)

Les sphingomyélinases sont des diesters hydrolases phosphoriques qui clivent les sphingomyélines, le sphingolipide le plus abondant dans la membrane eucaryote **(Flores-Díaz *et al.*, 2016).** L'hémolysine β est hautement active sur les érythrocytes de mouton mais inactive sur ceux du lapin **(Dinges *et al.*, 2000).** La différence de susceptibilité pour les érythrocytes peut être due aux différentes teneurs en sphingomyéline **(Doery *et al.*, 1965).** Cette toxine est produite en grande quantité dans les souches isolées des mammites bovines **(Aarestrup *et al.*, 1999)** et les infections chroniques de la peau chez l'homme **(Katayama *et al.*, 2013).**

#### VI.2.3.1.3 L'hémolysine δ

L'hémolysine δ est un petit peptide de 26aa qui se présente sous forme d'une hélice α avec des domaines hydrophobes **(Janzon et Arvidson, 1990).** Cette forme lui confère la capacité de créer des cylindres hydrophobes sur la membrane cellulaire. Elle est produite par 97%des souches de *S.aureus* **(Le Loir et Gautier, 2010)**.

#### VI.2.3.1.4 Les toxines à deux composants

Ce sont des toxines composées de deux protéines distinctes, le composé S pour «Slow» et le composé F pour «Fast». Elles agissent de façon synergique sur la membrane cellulaire, le composé S se fixe en premier sur la membrane de la cellule cible pour interagir par la suite avec le composé F aboutissant ainsi à la perméabilisation de la membrane**(Miles *et al.*, 2006).**

##### VI.2.3.1.4.1 Leucocidine Panton Valentine (LPV)

La leucocidine Panton-Valentine (PVL) est une cytotoxine produite par *S. aureus*. Elle a une activité lytique spécifique contre les cellules polymorphonucléaires, monocytes et macrophages chez l'homme et le lapin **(Cribier *et al.*, 1992).** LPV n'est produite que par 2à3% des souches de *S.aureus* **(Gravet *et al.*, 1998).** Elle est composée de deux protéines LukS-PV et LukF-PV qui sont secrétées séparément, puis s'assemblent en octamère à la surface des cellules cibles pour former un pore **(Prévost *et al.*, 1995).** La leucocidine Panton-Valentine (LPV) est principalement associée à des lésions suppuratives nécrotiques, telles les furoncles et les abcès dans la peau et le tissu sous-cutané, mais il a également été isolé chez des patients atteints de pneumonie sévère et nécrosante **(Gillet *et al.*, 2002; Yamasaki *et al.*, 2005a).**

##### VI.2.3.1.4.2 L'hémolysine γ

L'hémolysine γ existe sous deux formes, liées à la synthèse de deux composés S (HlgA et HlgC) et un composé F(HlgB). Elle est active sur les érythrocytes et les leucocytes et produite par toutes les souches de *S. aureus* **(Dinges *et al.*, 2000; Menestrina *et al.*, 2001).**

##### VI.2.3.1.4.3 LuK DE

Cette toxine n'est pas active sur les érythrocytes mais possède une activité dermonécrotique et des propriétés leucotoxiques moindre que la LPV **(Gravet *et al.*, 1998).**

#### VI.2.3.2 Les exfoliatines

Les toxines exfoliantes (ET), également appelées toxines épidermolytiques, sont des protéases spécifiques à *S.Aureus* **(Bukowski *et al.*, 2010).** Elles sont à l'origine du syndrome d'exfoliation généralisée et de l'impétigo bulleux staphylococcique **(Yamasaki *et al.*, 2005b).** Les toxines exfoliantes sont associées au clivage des jonctions des kératinocytes et des adhésions cellule-cellule dans l'épiderme de l'hôte, ce qui peut

provoquer l'apparition de lésions bulleuses, actuellement quatre exfoliatines ont été décrites: ETA, ETB, ETC,ETD ; en pathologie humaine ETA et ETB sont les plus retrouvées **(Yamasaki *et al.*, 2005b).**

### VI.2.3.3 Les toxines super antigéniques

Les superantigènes staphylococciques sont un groupe de protéines pyrogènes de haut poids moléculaire qui ont en commun une puissante activité stimulante pour les lymphocytes T incluant CD4,CD8 et les cellules gamma delta+ de plusieurs espèces**(Fleischer, 1994)**. *S.aureus* produit une large gamme d'exoprotéines, y compris les entérotoxines staphylococciques (SEs), la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) **(Dinges *et al.*, 2000).**

#### VI.2.3.3.1 La toxine du choc toxique staphylococcique(TSST-1)

La toxine responsable du syndrome du choc toxique staphylococcique est une toxine possédant des propriétés super antigéniques. Elle a la capacité d'activer les lymphocytes Tvia la liaison au CMH de classe II et aux chaînes Vβ du récepteur des cellules T **(Jupin *et al.*, 1988; Kulhankova *et al.*, 2014)** et de sécréter les lymphokines, elle induit également la prolifération et la sécrétion d'immunoglobulines au niveau des cellules B de l'homme **(Wood et Holsapple, 1993).**

#### VI.2.3.3.2 Les entérotoxines

*S.aureus* est la cause la plus commune de gastroentérites faisant suite à la consommation d'aliments contaminés dans lesquels des souches de *S. aureus* entérotoxinogènes se sont développées et ont produit des toxines dont l'effet s'exerce sur le tractus intestinal d'où leur nom d'entérotoxines **(Bhatia et Zahoor, 2007).** Les entérotoxines staphylococciques (SE) appartiennent à la famille des exoprotéines pyrogéniques produites par certaines souches de *S.aureus* et de *Streptococcus pyogenes* ,bien qu'elles ait en commun des propriétés biologiques telles la pyrogénicité et l'activation de lymphocytes T ; elles sont avant tout responsables de toxi-infections alimentaires **(Le Loir et Gautier, 2010)**. Les entérotoxines staphylococciques (SE) sont des protéines qui ont des poids moléculaires de 27 000 à 34 000. Elles sont résistantes aux enzymes protéolytiques, relativement stables à la chaleur et sont solubles dans l'eau et les solutions salines. Sur la base de leurs caractéristiques entérotoxigéniques, 11 types ont été identifiés : SE type A (SEA), SEB, trois types de SEC (SEC1, SEC2, etSEC3), SED, SEE et, récemment, SEG, SEH, SEI et SEJ **(Genigeorgis, 1989; Ren *et al.*, 1994)**. Seules les toxines induisant une activité

émétique sont désignées SE les autres pour lesquelles aucune activité émétique démontrée sont appelées « staphylococcal enterotoxin-like » (SEI) **(Jarraud *et al.*, 2001).** Plus de 95% des cas d'intoxination alimentaire staphylococcique sont causées par SE de Types (SEA à SEE) ce qui les définit comme des entérotoxines classiques **(Tirado et Schmidt, 2001; Rosec and Gigaud, 2002; Cremonesi *et al.*, 2005 ; Pinto *et al.*, 2005).**

#### VI.2.3.3.2.1 Caractéristiques des entérotoxines

Ce sont des protéines monomériques de faible masse moléculaire (25 à 29 kDa) dont le point isoélectrique varie entre 5,7 à 8,6.La présence de deux résidus demi–cystine conduit à la formation d'une boucle cystine dans la conformation de la molécule. Cette boucle semble influencer l'activité émétique **(Doyle *et al.*, 2001)** qui est aussi influencée par la présence d'un pont disulfure nécessaire à leur conformation. Les entérotoxines sont très stables, elles résistent dans le tube digestif après ingestion à l'action de la plupart des enzymes telles que la trypsine et la pepsine. Néanmoins SEB etSEC1 ont pu être digérées par une digestion trypsique modérée au niveau du pont disulfure. Elles sont très thermorésistantes et résistent plus dans les aliments qu'en milieu de culture **(Easman et Adlam, 1983).** L'activité des entérotoxines reste inchangée même après transformation des aliments **(McKlauchlin *et al.*, 1999; Martin *et al.*, 2004).** L'inactivation totale des entérotoxines est fonction de la quantité d'entérotoxines, du pH et de la composition du milieu ; elle est de 5à 30mn à 121°C et de plusieurs heures à des températures comprises entre 80 et 100°C. L'influence du pH dépend des entérotoxines mais la stabilité serait maximale à pH neutre **(Sutra *et al.*, 1998).** La pasteurisation peut tuer le *S. aureus*, mais les entérotoxines thermostables maintiendront l'activité biologique et provoqueront une intoxination alimentaire chez l'homme **(Easman and Adlam, 1983; Thaker *et al.*, 2013).**

#### VI.2.3.3.2.2 Les supports génétiques

La caractéristique commune des gènes spécifiant les SE appartiennent à un élément génétique mobile comme :

- Les Plasmides (seb, sed, sej) **(Bayles et Iandolo, 1989).**
- Les phages(tempérés pour sea ou défectif pour see **(Betley et Mekalanos, 1985).**
- Les ilots génomiques (seb, sec, seg, seh, sei, sek, sel, sem, sen, seo, sep et seq) **(Fitzgerald *et al.*, 2001).**

La localisation **(tableau 04)** de ces gènes sur des éléments mobiles peut entrainer un transfert génétique horizontal entre les souches de *S.aureus* comme pour le gène seb qui est situé sur le chromosome chez certains isolats **(Shafer et Iandolo, 1978)**, alors qu'il était localisé sur un plasmide chez d'autres souches de *S.aureus* **(Shalita *et al.*, 1977)**. La régulation de l'expression des facteurs de virulence chez *S. aureus* est contrôlé par le système agr (accessory gene regulator) **(Novick et Skurry, 1990).** En combinaison avec le système sar (staphylococcal accessory regulator) **(Cheung *et al.*, 1992).** L'expression des gènes seb, sec et sed a été démontrée dépendante du système agr alors que l'expression de sea et sej est indépendante **(Tremaine *et al.*, 1993).**

***Tableau 4 :*** *Support génétique de certains gènes d'ES* ***(Le Loir et Gautier, 2010)***.

| **Gène** | **Localisation génétique** | **Référence** |
|---|---|---|
| *sea* | Prophage | Betley et Mekalanos, 1985 ;Borst et Betley 1994 |
| *seb* | Chromosome<br>Plasmide, transposon | (Altboum *et al.*,1985 ;Shafer et Iandolo, 1978 ; Shalita *et al.*, 1977) |
| *sec1* | Plasmide | (Altboum *et* al.,1985) |
| *secbov* | Ilot de pathogénicité | (Fitzgerald *et al.*,2001) |
| *sed* | Plasmide (p IB485) | (Bayles et Iandolo,1989) |
| *see* | Phage défectif | (Couch *et al.*, 1988) |
| *seg* | *Enterotoxin gene cluster (egc)*,<br>chromosome | (Jarraud *et al.*,2001) |
| *seh* | Elément génétique mobile putatif | (Noto et Archer,2006) |
| *sei* | *Egc*,chromosome | (Jarraud *et al.*,2001) |
| *sej* | Plasmide (p IB485) | (Zhang *et al.*, 1998) |
| *sek* | Ilot de pathogénicité | (Orwin *et al.*, 2001) |
| *sel* | Ilot de pathogénicité | (Fitzgerald *et al.*,2001) |
| *sem* | *Egc*,chromosome | (Jarraud *et al.*,2001) |
| *sen** | *Egc*,chromosome | (Jarraud *et al.*,2001) |

| | | |
|---|---|---|
| *seo** | *Egc*,chromosome | (Jarraud *et al.*, 2001) |
| *sep* | Prophage (Sa3n) | (Omoe *et al.*, 2005) |
| *seq* | Ilot de pathogénicité | (Jarraud *et al.*, 2002) |
| *ser* | Plasmide | (Omoe *et al.*, 2003) |
| *seu* | *egc*, (fusion entre ent1 et ent2), chromosome | (Letertre *et al.*, 2003) |
| *seu2* | *egc*,,(délétion partielle dans les pseudogénes Qent1 et Qent2), chromosome. | (Thomas *et al.*, 2006) |
| *sev* | *egc*,(recombinaison entre *selm* et *sei)*,chromosome | (Thomas *et al.*, 2006) |

(*) Renommée d'après la note corrective publiée dans *J.Immunol*, 2001,166 :4260.

#### VI.2.3.3.2.3 Mécanismes d'action

Les entérotoxines sont responsables de deux fonctions bien distinctes localisées dans deux protéines **(Dinges *et al.*, 2000; Federighi, 2005) :**

- **L'activité émétique :**

L'activité émétique des entérotoxines repose sur leur capacité à provoquer une réponse émétique lorsqu'elles sont ingérées alors que les autres superantigènes ne sont pas émétiques **(Dinges *et al.*, 2000).** L'effet émétique impliquerait un processus dont les premières étapes restent inconnues. Certaines études émettent l'hypothèse que les entérotoxines se fixeraient sur des récepteurs abdominaux mal élucidés provoquant des vomissements suite à une réaction inflammatoire induite par l'interaction des entérotoxines avec ces récepteurs **(Doyle *et al.*, 2001)**. Certaines études suggèrent que les SE agissent directement sur l'épithélium intestinal **(Munson *et al.*, 1998)** et sur le nerf vague provoquant une stimulation des centres émétiques et du transit intestinal **(Arbuthnott *et al.*, 1990).** La quantité de SE capable de provoquer des toxi-infections alimentaires dépend de la sensibilité individuelle et du type de SE. En effet, chez le singe, la dose émétique ($ED_{50}$) de SEA-SEE varie de 5 à20µg par animal **(Easman et Adlam, 1983)**, alors que

pour les humains qui sont plus sensibles, la dose ingérée qui a provoqué des vomissements lors de TIAC a été estimée à 100-200ng(0,1-0,2µg) par personne **(Evenson *et al.*, 1988)**. D'autres études ont montré qu'une dose de 30µg de SEH avait provoqué des vomissements lors de son administration orale chez le singe **(Su et Wong, 1995)**. L'une des caractéristiques communes à toutes les SE est la présence de pont disulfure qui semble jouer un rôle important dans l'activité émétique bien que SEI ne possède pas de pont disulfure mais est pourvue d'une activité super antigénique et émétique à la fois, mais cette dernière semble moins marquée que chez les autres SE **(Munson *et al.*, 1998).**

- **L'activité super antigénique**

L'activité super antigénique des entérotoxines stimule un nombre important de lymphocytes T entrainant ainsi une production importante de cytokines pro-inflammatoires **(Doyle *et al.*, 2001).** Elle résulte de l'interaction directe de SE avec les cellules T réceptrices d'antigène (TCR) qui est un hétérodimère glycosylé composé de chaines α, β, δ, γ et le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) qui sont des complexes protéiques exposés à la surface des CPA(cellules présentatrices d'antigène). Cette reconnaissance est une étape préliminaire dans la réponse immunitaire cellulaire et dans sa spécificité. Il n'y a que quelques cellules T qui peuvent reconnaitre un antigène spécifique présenté par les CMH d'une CPA **(Mc Cormick *et al.*, 2001)**. Les toxines super antigéniques interagissent avec de nombreuses cellules T par reconnaissance de chaines Vβ spécifiques des TCR. Elles sont capables d'associer les TCR et le CMH de classe II des CPA. Il semble qu'une interaction entre les SE et le CMH soit requise pour la liaison à la chaine Vβ des CPA. Cette dernière entraine l'inactivation non spécifique et la prolifération des cellules T ainsi qu'une sécrétion massive d'interleukines qui semble être impliquée dans la toxicité des SE. Suite à cette interaction, une activation massive des cellules T se produit entrainant ainsi le syndrome de choc toxique **(Mc Cormick *et al.*, 2001).**

#### VI.2.3.3.2.4 Méthodes de détection des entérotoxines

Les SE sont la principale cause d'intoxication alimentaire et sont associées à un type de diarrhées résultant de l'ingestion d'une ou plusieurs entérotoxines présentes dans les aliments contaminés par ces bactéries **(Dinges *et al.*, 2000)**. Trois types de méthodes sont principalement utilisées pour détecter les toxines bactériennes dans les aliments: les méthodes biologiques, les méthodes immunologiques; et les méthodes de biologie moléculaire **(Fetsch, 2018).**

- **Techniques biologiques**

Des techniques biologiques utilisées dans le temps sur les singes et plus récemment sur les musaraignes musquées consistaient à observer la réponse émétique après administration intragastrique d'aliments. Cependant, le nombre de SE provoquant des intoxications chez ces animaux était considérablement plus élevé que ceux impliqués dans une intoxication alimentaire humaine **(Surgalla *et al.*, 1953; Ono *et al.*, 2008; Fetsch, 2018)**.D'autres méthodes utilisant l'activité super antigénique des SEA ont été développées. Elles permettent de détecter des concentrations de l'ordre de la picamole, ce qui a donc peu d'intérêt pour les laboratoires impliqués dans les contrôles officiels des toxi-infections alimentaires **(Hawryluk et Hirshfield, 2002).**

- **Techniques immunologiques**

Cinq kits sont utilisés pour la recherche des entérotoxines : trois se basent sur la technique ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) par immuno-capture (RIDASCREEN, TECRA, TRANSIA), un kit ELFA (enzyme-linked fluorescent assay) dont la technique est proche de l'ELISA et où le produit de révélation est fluorescent. Un autre kit constitué de particules de latex sensibilisées avec des anticorps anti-entérotoxines (RPLA, reverse passive latex agglutination) **(Federighi, 2005).** Cependant, il est largement reconnu que l'utilisation de méthodes immunologiques pour détecter les contaminants dans les matrices alimentaires est une tâche difficile, principalement en raison du manque de spécificité et de sensibilité du test **(Hennekinne *et al.*, 2012)** et des résultats faussement positifs en raison de la réactivité croisée entre les antigènes et de la survenue de réactions non spécifiques **(Schmitz *et al.*, 1998).**

- **Techniques moléculaires**

Les méthodes de biologie moléculaire impliquent souvent la polymérase réaction en chaîne (PCR) **(Magni, 2010).** Elle permet l'identification des gènes d'entérotoxines avec une sensibilité et une spécificité élevées **(Calsolari *et al.*, 2011).** Cependant, ces méthodes affichent deux limitations majeures : premièrement, les souches staphylococciques doivent être isolées de la nourriture, et deuxièmement, les résultats informent sur la présence ou l'absence de gènes codant pour les SE, mais ne fournissent pas d'information sur l'expression de ces gènes dans la nourriture c'est-à-dire la production réelle de toxines dans les aliments **(Liu, 2014)**.

## VII Antibiorésistance de S. aureus

Les agents antimicrobiens sont normalement administrés dans les élevages bovins pour traiter les infections microbiennes **(Jamali *et al.*, 2015).** L'utilisation prolongée d'agents antimicrobiens peut conduire à l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques qui constituent un problème sanitaire aussi bien chez l'animal que chez l'homme **(Shamila-Syuhada *et al.*, 2016).** La menace posée par la résistance aux antibiotiques est entrain de croître à un rythme alarmant ,et peut-être encore plus rapide dans les pays où la législation est médiocre en ce qui concerne la prescription et l'utilisation des antibiotiques **(Bitrus. *et al.*, 2016).** *S. aureus* est bien connu en médecine humaine et animale comme un pathogène qui peut causer un large éventail de pathologies allant des infections cutanées légères à la bactériémie potentiellement mortelle **(Leonard et Markey, 2008).** Il a une capacité remarquable à résister aux agents antimicrobiens et à échapper au système immunitaire humain **(Baym *et al.*, 2016)**.

Il possède de nombreux facteurs intrinsèques qui limitent l'efficacité des agents antimicrobiens spécifiques **(Rajagopal *et al.*, 2016).** La présence de gènes de résistance aux antimicrobiens chez les espèces de staphylocoques est un phénomène préoccupant car les gènes de résistance peuvent être transférés entre espèces staphylococciques par transfert latéral ou de l'animal vers l'homme **(Walther et Perreten, 2007)**, en devenant résistant à la plupart des antibiotiques tels que les bêta-lactamines, les aminosides et les macrolides. *S. aureus* peut provoquer des infections difficiles à traiter et provoquer des infections zoonotiques chez l'homme **(Duran *et al.*, 2012)**.

Les agents antimicrobiens tels la pénicilline, la céfazoline, l'oxacilline, l'érythromycine, la tétracycline, la clindamycine et la tobramycine sont utilisées pour traiter les mammites bovines **(Lammers *et al.*, 2001; Jamali *et al.*, 2014; Gao *et al.*, 2012.).** L'antibiothérapie est largement utilisée lors du programme de contrôle des mammites, mais *S. aureus* répond faiblement à cette dernière **(Gomes et Henriques, 2016)**. La surveillance de l'utilisation des antibiotiques serait utile pour évaluer le risque de *S. aureus* dans le lait cru **(Liu *et al.*, 2017)**. Les bactéries résistantes d'origine animale, peuvent être transmises à l'homme via l'alimentation **(Liebana *et al.*, 2012).**

## VII.1 Origines de l'antibiorésistance

### VII.1.1 Résistance naturelle

La résistance naturelle est une caractéristique liée à l'espèce bactérienne, elle concerne toutes les souches normales de cette espèce (SFM, 2009). Il s'agit des propriétés intrinsèques et structurales de la bactérie sans contact avec l'antibiotique. La résistance naturelle se transmet de façon verticale au cours de la division cellulaire mais pas de façon horizontale **(Guillemot, 2006; Bebell et Muiru, 2014).** La majorité des classes d'antibiotiques ont un effet sur *S. aureus* cependant l'exception existe, il s'agit de l'aztréonam de la famille de β- lactamines, des dérivés non fluorés de la 4-oxo-1,4dihydroquinoléine ou quinolones de première génération (fluméquine, acide pipémidique, acide nalidixique, acide oxolinique) et enfin des peptides cycliques (polymixine B, et polymixine E ou colymicine) **(Le Loir et Gautier, 2010).**

### VII.1.2 Résistance acquise

Il s'agit d'une propriété de souche qui confère à certaines souches 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).** La résistance est soit chromosomique lorsque le gène de résistance se trouve sur le chromosome et la mutation n'affecte qu'un caractère, cette résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mode d'action **(Carle, 2009)**,soit extra-chromosomique lorsque le gène de résistance se trouve sur les plasmides ,les éléments transposables ou les intégrons **(Bebell et Muiru, 2014)**. Ce type de résistance représente 80 à 90%des résistances acquises **(Prescott *et al.*, 2000)**. Les bactéries peuvent résister à un antibiotique pour lequel elles étaient sensibles, ce qui implique des changements génétiques qui peuvent être de deux types soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro- organisme **(Bebell et Muiru, 2014)** qui se fait soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles **(Carle, 2009)**.

## VII.2 Mécanismes de la résistance

Sur le plan biochimique, 4 grandes stratégies sont mises en jeux lors de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques **(Carle, 2009; Bebell et Muiru, 2014) :**

- **Inactivation enzymatique**

Plusieurs enzymes sont connues pour inactiver les agents antimicrobiens et les détruire.

- **Réduction de la perméabilité cellulaire :** La bactérie agit en changeant la perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant ainsi le médicament d'atteindre sa cible.
- **Altération des sites de liaison de l'antibiotique :** Empêchant ainsi l'antibiotique d'arriver à son site.
- **Pompes à efflux :** Antibiotique est éjecté de la cellule par transport actif et le site d'action devient inaccessible.

### VII.3 Résistance aux antibiotiques des staphylocoques

#### VII.3.1 Résistance aux β-lactamines

Près de 87% des souches de staphylocoques sont résistantes à la pénicilline G par production de pénicillinases extracellulaires, inductibles et codées par les plasmides, elles sont actives sur la pénicilline G et V, les amino pénicillines, les carboxy pénicillines et les uréidopénicillines **(Denis *et al.*, 2016)** et inactives sur les pénicillines M et les céphalosporines. L'activité des β-lactamines est restaurée suite à l'administration d'inhibiteur de β-lactamases de type acide clavulanique, tazobactam ou sulbactam **(Courvalin *et al.*, 2006).**

#### VII.3.2 Résistance à la méticilline

La résistance à la méticilline est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (mecA) qui code pour une nouvelle PLP(PLP2a) qui a moins d'affinité pour les β-lactamines, et entraîne une résistance à toutes les β-lactamines, particulièrement à la méticilline **(Quincampoix et Mainardi, 2001).** Un autre gène mecC moins connu que le mecA a été trouvé chez les *S. aureus* de l'homme et du bétail et possède le même mécanisme de résistance que le mecA **(Fetsch, 2018).** De nombreuses publications ont décrit la présence des souches de SARM ayant les mêmes caractéristiques portant soit mecA **( Feble *et al.*, 2010,Smith *et al.*, 2013; van den Eede *et al.*, 2013; Grontvedt *et al.*, 2016)** ou mecC **(Harrison *et al.*, 2013; Benito *et al.*, 2016; Drougka *et al.*, 2016)** chez l'homme et l'animal, suggérant une transmission zoonotique de ces isolats **(Fetsch, 2018).**

#### VII.3.3 Résistance aux glycopeptides

La diminution de la sensibilité aux glycopeptides semble être liée à une anomalie de synthèse du peptidoglycane avec épaississement de la paroi rendant la paroi difficilement accessible et empêchant la pénétration et la fixation des peptidoglycanes. Ces anomalies sont dues à une accumulation de mutations et non à l'acquisition de matériel génétiques

**(Denis *et al.*, 2016).** La vancomycine est un antibiotique fréquemment utilisé lors d'infection à MRSA **(Pesavento *et al.*, 2007 )**. En 2002 dessouches de *S.aureus* et d'*Enterococcus faecalis* totalement résistantes à la vancomycine ont été mises en évidence chez un patient aux Etats Unis. La présence du gène vanA à la fois chez les SARV (*S. aureus* Résistantes à la Vancomycine) et le EFRV (*Enterococcus faecalis* Résistantes à la Vancomycine) suggère un éventuel échange de matériel génétique à partir des *Entercoccus* aux *Staphylococcus* **(Pesavento *et al.*, 2007 ).**

### VII.3.4 Résistance aux aminosides

Les aminosides agissent en inhibant la synthèse de l'ARN, ils se divisent en deux groupes distincts de par leur composition chimique :

- Le groupe 1 de la streptidine (comprenant la streptomycine).
- Le groupe 2 de la 2-désoxystreptamine (kanamycine, gentamicine, amikacine, nétilmicine) **(Casin et Collatz, 1997).**

Deux mécanismes de résistances sont utilisés par la bactérie afin d'échapper à ces antibiotiques :

❖ **Inactivation enzymatique** :

Elle est codée codées par des gènes plasmidiques ayant un fort potentiel de dissémination, trois phénotypes sont engendrés :

- Le phénotype K : résistance de haut niveau à la kanamycine et à l'amikacine due à une phosphorylase (APH-3').
- Le phénotype KT : résistance de haut niveau à la kanamycine, l'amikacine, et à la tobramycine, due àuneadénylase (ANT-4').
- Le phénotype KTG : résistance de haut niveau à la kanamycine, amikacine, tobramycine, nétilmicine et gentamicine, induit par la présence d'une enzymebi-fonctionnelle ayant des activités de phosphorylation et d'acétylation (APH-2''-AAC-6') **( Quincampoix et Mainardi, 2001**; **Denis *et al.*, 2016).**

❖ **Mutations chromosomiques**

Ce type de résistances est le résultat d'une mutation de la cible de l'antibiotique concerne les streptomycines qui ne sont pas altérées par les enzymes inactivant les autres aminosides puisque cette molécule appartient à un groupe chimiquement distinct **(Quincampoix et Mainardi, 2001).**

### VII.3.5 Résistance aux macrolides

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS), stimulent la dissociation du ribosome et du complexe ARN de transfert peptide inhibant ainsi la synthèse protéique, cela entraîne une terminaison réversible de l'élongation protéique **(Roberts *et al.*, 1999).** Trois mécanismes sont impliqués dans la résistance : une modification de la cible de l'antibiotique, un mécanisme d'efflux et une modification enzymatique de l'antibiotique**.**

- **Modification de la cible de l'antibiotique :**

La résistance aux macrolides (comme l'érythromycine) et lincosamides (comme la lincomycine et la clindamycine) est très répandue chez les staphylocoques **(Duval, 1985; Thakker-Varia *et al.*, 1987; Sanchez *et al.*, 1993; Chang *et al.*, 1995).** La résistance se fait par action d'une enzyme (méthylase) agissant par méthylation d'une adénine de la sous unité 23S de l'ARN ribosomique. Ces dernières sont codées par les gènes erm dont le support peut être chromosomique ou plasmidique. Il existe au moins 20 variants **(Quincampoix et Mainardi, 2001).**

- **Mécanisme d'efflux :**

Ce mécanisme de résistance repose sur l'élaboration d'un transporteur protéique qui diminue l'accumulation de l'antibiotique dans la cellule. Il est codé par trois gènes. Les gènes msrA et msrB sont responsables d'un phénotype de résistance de type MS, c'est-à-dire d'une résistance inductible vis-à-vis des macrolides, dont le noyau comporte 14 et 15 carbones (C14 et C15) et au composé B des streptogramines, après induction par l'érythromycine **(Lina *et al.*, 1999 )**. Le gène mef entraîne un phénotype de résistance nommé M, caractérisé par une résistance limitée aux macrolides en C14 et en C15. Les gènes vga, vgaB codent pour des protéines d'efflux du seul composé A des synergistines **( Lina et al., 1999, Roberts *et al.*, 1999).**

- **Modification enzymatique**

La résistance se fait par modification de l'antibiotique lui-même par des enzymes qui peuvent appartenir à la classe des hydrolases (gènes vgbet vgb B pour virginiamycine facteur B hydrolase), des acétyltransférases (gènes linA et vat) ou des phosphotransférases (gène mphC).Le support de ces gènes est souvent plasmidique **(Roberts *et al.*, 1999).**

### VII.3.6 Résistance aux tétracyclines

Le mécanisme de résistance aux tétracyclines repose sur la protection du site actif sur le ribosome par des protéines tétracyclines d'élongation codées par des déterminant dont le Tet (M) ou Tet (O)et efflux actif par des protéines Tet (K) ou Tet (L) **(Connell *et al.*, 2003),** codés par les gènes mobile Tet **(Levy *et al.*, 1999)**. La protéine Tet (M) est de second niveau d'importance en résistance aux tétracyclines pour les staphylocoques d'origine animale **(Werckenthin *et al.*, 2001).**

### VII.3.7 Résistance aux Fluoroquinolones

La résistance se fait par deux mécanismes, le plus fréquent, et généralement de haut niveau est la résistance par mutation du gène par C codant la sous- unité C de la topoisomérase IV, cible d'action de ces antibiotiques **(Lowy, 2003 ).** Le deuxième mécanisme, moins important sur le plan thérapeutique est l'expression de pompes à efflux multiples **(DeMarco *et al.*, 2007).**

### VII.3.8 Résistance aux Triméthoprime et sulfamides

Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine d'une résistance aux Triméthoprime et sulfamides **:**

- Une imperméabilité d'origine plasmidique ou chromosomique ;
- Une hyperproduction de dihydroptéroate-synthétase (DHPS) pour les sulfamides(Sul) ou dihydrofolate–réductase (DHFR) pour le Triméthoprime(Tmp) ;
- La synthèse de DHPS ou DHFR additionnelles avec une affinité moindre pour ces molécules suite à l'acquisition d'un gène plasmidique ;
- Présence de DHPS ou DHFR modifiées par mutation génétique.

Chez les souches $Sul^{R}Tmp^{S}$ la résistance aux sulfamides ne diminue pas l'effet synergique des deux composés, par contre chez les souches $Sul^{S}Tmp^{R}$, l'effet synergique disparait **(Le Loir et Gautier, 2010).**

## VIII *S. aureus* et biofilms

### VIII.1 Généralités

La majorité des biotopes sont concernés par la formation de biofilms résultant de la fixation des bactéries aux surfaces aussi bien des tissus vivants qu'aux surfaces inertes. Il constituerait un mode de vie privilégié des microorganismes **(Le Loir et Gautier, 2010).** Ils se développent pratiquement sur tout type de surface industrielle, provoquant la contamination des aliments et de l'eau, la corrosion de la surface métallique et l'obstruction des équipements **(Beech *et al.*, 2005; Srey *et al.*, 2013).** Un biofilm peut être défini comme une communauté microbienne attachée à une surface et fréquemment englobée dans une matrice d'exopolymères **(Shirtliff *et al.*, 2002).** Etant un composant majeur du microbiome humain, un degré élevé de manipulation peut augmenter la propagation de *S. aureus* dans les aliments et les surfaces en contact avec les aliments **(DeVita *et al.*, 2008; Sospedra *et al.*, 2012).** De plus *S. aureus* est une des bactéries le plus souvent impliquée dans les infections qui suivent la mise en place d'implants, ce qui constitue un facteur de risque important**(Le Loir et Gautier, 2010)**. Les facteurs intervenant dans la formation des biofilms staphylococciques sont résumés dans le **tableau 5.**

***Tableau 5** : Principaux facteurs impliqués dans la formation de biofilms chez S. aureus **(Le Loir et Gautier, 2010)**.*

| Protéine | Localisation | Poids moléculaire | Gene | Rôle en biofilm |
|---|---|---|---|---|
| Adhésion | | | | |
| Proteine modifiant la charge des acides teichoiques<br>DltA<br>DltB<br>DltC<br>DltD | <br><br><br>Intracellulaire<br>Membrane<br>Intracellulaire<br>Paroi | <br><br><br>54-56kDa<br>47kDa<br>9kDa<br>44kDa | <br><br><br>*dltA*<br>*dltB*<br>*dltC*<br>*dltD* | <br><br><br>Attachement primaire<br>Liaison fibronectine |
| Autolysine Atl | Paroi | 137 kDa | *atl* | Attachement primaire |
| Protéine A<br>sPA | Paroi | 58 kDa | *spa* | Liaison immunoglobulines IgG |
| Proteine liant l'élastine<br>Ebps | Membrane | 25 kDa | *ebpS* | Liaison élastine et tropoélastine solubles |
| Proteine liant le collagene<br>Cna | Paroi | 133 kDa | *cna* | Liaison collagène |
| Proteine liant la fibronectine<br>FnBPA<br>FnBPB | Paroi | <br>108 kDa<br>103 kDa | <br>*fnbA*<br>*fnbB* | liaison fibronectine |
| « Clumping » facteur<br>ClfA<br>ClfB | Paroi | 97 kDa | *clfA*<br>*clfB* | Liaison fibrinogène |
| Agrégation intercellulaire | | | | |
| Proteine impliquées dans la synthése du PIA<br>IcaA<br>IcaC<br>IcaD<br>IcaB | <br>Membrane<br>Membrane<br>Membrane<br>Extracellulaire | <br>48 kDa<br>34 kDa<br>42 kDa<br>34 kDa | <br>*icaA*<br>*icaC*<br>*icaD*<br>*icaB* | Accumulation/Agrégation |
| Proteine associée au biofilm<br>BAP | Paroi | 239 kDa | *bap* | Adhésion primaire<br>Accumulation/ Agrégation |
| Toxine Alpha | Extracellulaire | 34 kDa | *hla* | Agrégation |

### VIII.2 Etapes de la formation des biofilms

La formation d'un biofilm est un processus dynamique et continu, cependant il peut être scindé en deux phases **(Le Loir et Gautier, 2010) :**

- ❖ L'adhésion ou l'attachement des cellules aux supports solides qui peuvent être soit des matériaux soit des tissus (peau, épithélium …).
- ❖ L'accumulation ou l'agrégation intercellulaire. Cette phase conduit à la formation de micro colonies et à l'établissement d'un biofilm mature.

Le vieillissement du biofilm peut parfois engendrer le détachement du biofilm, mais le viscoélasticité des biofilms de *S. aureus* leur permet de résister à cette phase de détachement et peut entrainer un phénomène de «Rolling» chez les microcolonies qui leur permet de migrer vers d'autres sites **(figure3)**.

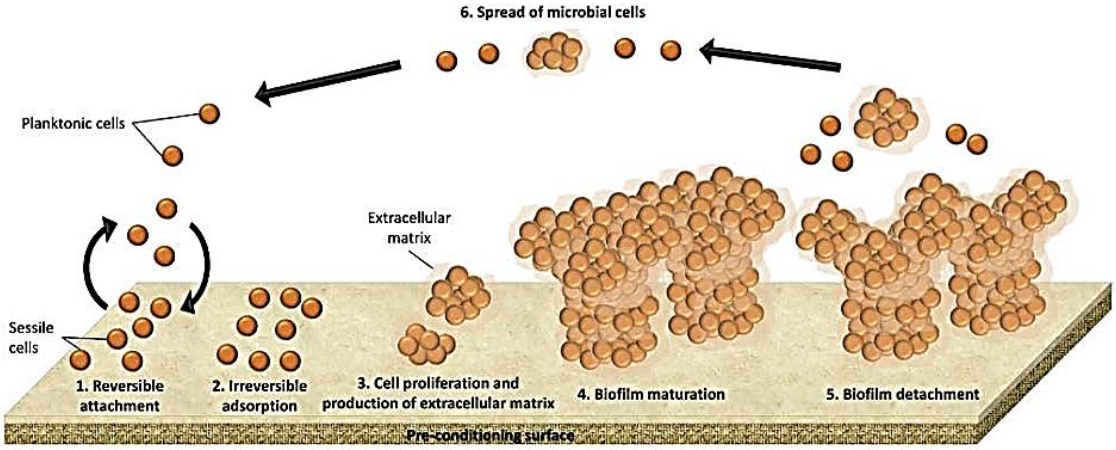


**Figure 3 :** Processus impliqués dans le développement d'un biofilm **(Fetsch, 2018)**.

# Chapitre II : Staphylococcus aureus & Lait

## I. Généralités sur le lait

### I.1 Définition

Le lait est un fluide aqueux, opaque, blanc légèrement bleuté, d'une saveur douce et un pH (6,6 à 6,8) légèrement acide, proche de la neutralité **(Debry, 2001).** Le lait est la sécrétion de la glande mammaire des mammifères femelles (plus 4000 espèces), et c'est souvent la seule source de nourriture pour les très jeunes. Les laits produits par les vaches, les buffles, les moutons, les chèvres et les chameaux sont utilisés dans diverses régions du monde pour la consommation humaine, mais le lait de vache reste le plus consommé dans le monde entier **(Robinson, 2002).** Il a aussi été défini par le 1er congrès international pour la répression des fraudes alimentaires tenu à Genève en 1908 comme étant «le produit de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » **(Alais, 1975).** Selon la réglementation algérienne, la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique **(Anonyme 01., 1993).**

### I.2 Composition

Beaucoup de facteurs rentrent en jeux dans la composition du lait :La race, l'espèce, l'âge et l'alimentation, ainsi que le stade de lactation, le nombre de parturitions et le système d'exploitation **(Robinson, 2002).** Les principaux constituants du lait sont **(Debry, 2001):**

- De l'eau en majorité ;
- Le lactose représente la principale source de glucides ;
- Des lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras ;
- Des protéines, caséines rassemblés en micelles, albumines et globulines solubles ;
- Des sels et des minéraux à l'état ionique et moléculaires.

La présence d'enzymes, de vitamines, et d'oligoéléments à l'état de traces n'exclue par leur importance. Le tableau **(tableau 6)** suivant montre la composition moyenne du lait de différentes espèces animales.

**Tableau 6:** Composition moyenne du lait de différentes espèces animales ***(Vignola, 2002)***.

| Animaux | Eau (%) | Matière grasse(%) | Protéines (%) | Glucides (%) | Minéraux (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| **Vache** | 87,5 | 3,7 | 3,2 | 4,6 | 0,8 |
| **Chèvre** | 87,0 | 3,8 | 2,9 | 4,4 | 0,9 |
| **Brebis** | 81,5 | 7,4 | 5,3 | 4,8 | 1,0 |
| **Chamelle** | 87,6 | 5,4 | 3,0 | 3,3 | 0,7 |
| **Jument** | 88,9 | 1,9 | 2,5 | 6,2 | 0,5 |
| **Femme** | 87,1 | 4,5 | 3,6 | 7,1 | 0,2 |

## I.3 Elaboration

L'activité des glandes mammaires de la vache commence à la mise-bas et se poursuit pendant une dizaine de mois durant toute la traite. Le lait est synthétisé dans les acinis à partir d'éléments présents dans le sang, ces derniers sont remaniés pour donner le lactose, les β-lactoglobulines, l'α-lactalbumine, les caséines, les acides gras courts et l'acide citrique. Les autres constituants passent par la glande mammaire en provenance du plasma et ne subissent aucun changement **(Debry, 2001).** La **figure 04** représente un schéma simplifié de la lactogénèse.

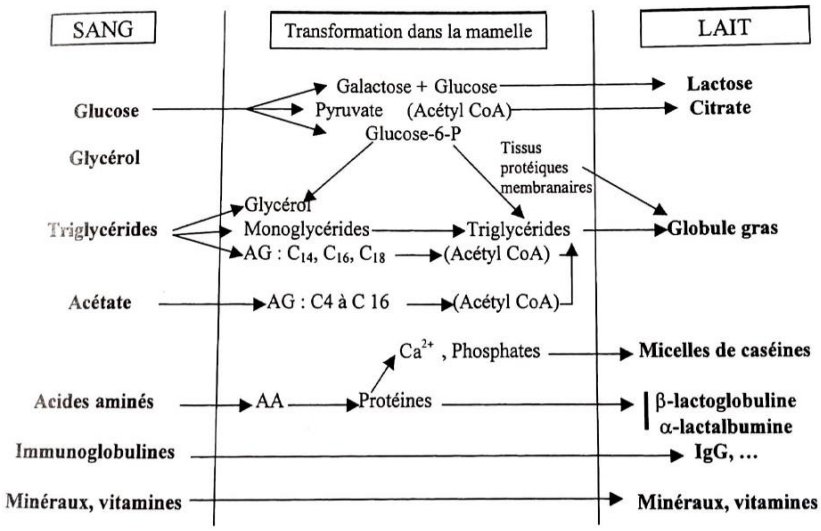


**Figure 4:** Lactogènes simplifiée des principaux composants ***(Debry, 2001)***

## II. Bactéries pathogènes

Le lait est un substrat favorable au développement des microorganismes de par sa composition **(Guiraud, 1998),** sa contamination par les bactéries pathogènes peut être d'origine endogène, faisant suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ou d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux, personnel) **(Verraes *et al.*, 2015).** Plusieurs germes tels que les salmonelles, *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Escherichia coli entéropathogènes* ont été incriminés dans des toxi-infections alimentaires (TIA) dues aux produits laitiers **(Gabriel *et al.*, 2002; Adak *et al.*, 2005).**

### II.1 Salmonelles

Dans un élevage, les principales sources de salmonelles sont les fèces des animaux malades ou porteurs asymptomatiques **(Plassot *et al.*, 1997).** Les vaches soufrant de salmonellose peuvent excréter la bactérie par la matière fécale ou bien directement dans le lait **(Singh, 2014).** Le tractus gastro-intestinal des mammifères et des oiseaux représente le principal réservoir des Salmonelles, l'homme est contaminé soit après consommation de lait cru ou d'aliment contaminés peut cuits ou contaminés après cuisson. Ainsi, les fromages au lait cru, et particulièrement les pâtes molles, les pâtes persillées et les pâtes pressées non cuites, font partie des aliments susceptibles de contenir Salmonella spp. **(ANSES, 2018).** Le lait pasteurisé peut aussi être contaminé après traitement thermique **(Marth, 1969).**

### *II.2 Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* est un germe ubiquiste et très résistant aux conditions difficiles, il est capable de se développer à des températures de réfrigération et il semblerait que les températures basses exalterait sa virulence **(Larpent, 2004).** Quelques grandes épidémies de listériose dues à des denrées d'origine animales notamment des produits laitiers ont été observées **(Brisabois *et al.*, 1997).** La qualité des ensilages joue un rôle important dans la contamination du lait de tank qui est multipliée par vingt lorsque l'ensilage est de mauvaise qualité **(Saana, 1994).** Le lait cru peut aussi être contaminé à la sortie de la mamelle (mammites), ou suite à l'utilisation de matériels de traite souillé **(Singh, 2014).** La contamination au niveau des laiteries est principalement due à des problèmes technologiques (pasteurisation insuffisante, ou contamination après traitement thermique) **(Saana, 1994).** Il a été noté que ce germe pouvait persister et se multiplier lors de la maturation des fromages frais préparés avec du lait contaminé par ce germe **(Sipka *et al.*,**

**1974).** Il s'agit essentiellement des fromages à pâte molle **(Brisabois *et al.*, 1997).** Cette contamination suit l'évolution du pH qui est plus alcalin en surface (sous la croute) grâce aux flores de surfaces **(Saana, 1994).**

## II.3 Escherichia coli O157:H7

*E. coli* O157:H7 est un agent pathogène majeur qui peut être présent dans le lait et ses dérivés et qui peut être responsable de maladies très graves chez le consommateur **(Osaili *et al.*, 2014).** La présence d'*E. Coli* indique une contamination fécale lorsque les conditions d'hygiène du sol, de l'eau, du lait et des produits laitiers ne sont pas respectées **(Diliello, 1983).** Bien que souvent le lait contaminé à la collecte est pasteurisé, néanmoins certains consommateurs préfèrent consommer le lait à l'état cru **(Potter *et al.*, 1984).** Les symptômes provoqués par cette bactérie peuvent aller d'une diarrhée bénigne à des colites hémorragiques ou un syndrome hémolytique urémique **(Kiranmayi *et al.*, 2010).**

## II.4 *S. aureus*

La contamination du lait par *S. aureus* peut être d'origine endogène et provenir de l'intérieur de la mamelle lors de mammites.

### II.4.1 Contamination de la mamelle

*S. aureus* est la principale bactérie responsable de mammites sub-cliniques chez la vache **(ANSES., 2011).** Le trayon lui-même confère à la bactérie la température de croissance idéale **(Adesiyun *et al.*, 1998),** engendrant ainsi la contamination de la mamelle et du lait **(De Oliveira *et al.*, 2011).**

### II.4.2 Contamination à l'étable

La litière en élevage bovin semble jouer un rôle important dans la contamination du lait par *S. aureus.* Cette dernière serait en relation avec l'épaisseur de celle-ci ,en effet plus la litière est épaisse plus les risques de contamination sont grands, car elle confère à sa surface les conditions en température et oxygénation idéales pour la multiplication de *S. aureus* **(Hamiroune *et al.*, 2014). Milojevic *et al.* (1988)** au cours d'une étude menée en Serbie ont démontré que le lait provenant d'élevages intensifs était plus contaminé que celui provenant d'élevages extensifs.

### II.4.3 Contamination au cours de la traite

L'équipement de traite contaminé et les mains du trayeur peuvent être une source de contamination du lait **(Capurro *et al.*, 1999; De Oliveira *et al.*, 2011).** Une enquête menée par **Hamiroune et al. (2014)** a démontré que le premier jet de lait jeté directement sur le sol et l'utilisation d'un même seau d'eau et d'un même chiffon pour le nettoyage des mamelles de toutes les vaches, ainsi que l'absence de trempage des trayons dans les désinfectant iodés après la traite pouvait influencer le taux de contamination du lait par *S. aureus* **(Hamiroune *et al.*, 2014).** La contamination du lait peut provenir des glandes mammaires des vaches infectées, de la peau des trayons mais également de la machine à traire **(Roberson *et al.*, 1994; Haveri *et al.*, 2008).** Cette dernière provoque une hyperkeratose du conduit papillaire favorisant ainsi l'apparition de mammites **(Hamiroune *et al.*, 2014).**

### II.4.4 Contamination au cours du stockage

Lorsque le lait est collecté et stocké dans des tanks, plusieurs facteurs interviennent dans sa contamination notamment : la capacité de refroidissement (diminution de la température en un temps court), la durée de conservation, et la température de stockage **(Robinson, 1990).** En effet, la conservation du lait frais à une température élevée, associée à des pratiques non hygiéniques dans le processus de traite, peut entraîner une mauvaise qualité de ce dernier **(Afif *et al.*, 2008).** La capacité de certaines souches à former des biofilms et à adhérer aux surfaces les rend plus résistantes aux antibiotiques et donc plus difficile à éradiquer **(Zmantar *et al.*, 2010).** En industrie laitière l'apparition de contaminations croisées suite à la formation de biofilms affecterait la qualité des produits transformés et limiterait leur durée de vie **(Malek, 2019).**

## III. Conservation du lait par traitement thermique

Dans le but d'assainir le lait et de prolonger sa durée de conservation différents traitements thermiques peuvent lui être appliqué afin de détruire partiellement ou complètement sa flore microbienne **(Anand Paul *et al.*, 2011)**.

### III.1 Pasteurisation

La pasteurisation est une technique utilisée très fréquemment en agroalimentaire, elle permet d'allonger au maximum la durée de vie d'un aliment tout en respectant ses caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles **(FAO/OMS, 1960).** Elle a pour but de réduire les activités biologiques du produit tel que les flores non pathogènes d'altération

des aliments et les flores pathogènes. Elle consiste à appliquer un traitement thermique à des températures comprises entre 60 et 100°C ayant pour but de détruire la totalité des micro-organismes pathogènes non sporulés et de réduire significativement la flore végétative présente dans un produit mais reste inactive sur les bactéries sporulées. Les produits issus de ce type de conservation doivent être conservés au froid à +4°C ou conditionnés hermétiquement **(Chillet, 2011).** Pour qu'un lait soit considéré comme pasteurisé il doit être soumis **:**

- Soit à une température de 63°C pendant 30mn ;
- Soit à une température de 85°C pendant 15 à 20 secondes ;
- Soit instantanément à une température de 95°C **(Anonyme 02, 1993)**.

Il doit être refroidi dans les 60mn qui suivent la pasteurisation à une température n'excédant pas les 6°C.

### III.2 Stérilisation

Elle a pour but d'éliminer les microorganismes soit à l'état végétatif ou à l'état de spore. Elle consiste à appliquer de très hautes températures pendant un temps très bref, ce procédé est appelé UHTST (Ultra-High-Temperature-Short-Time). Le lait est chauffé sous pression à 135 à150°C pendant une durée de 1 à 20 secondes, ce procédé permet de conserver le lait pendant une longue durée **(FAO/OMS, 1960).** La réglementation algérienne (J.O.R.A N°69, 1993) stipule que le lait stérilisé UHT est le lait dont la conservation est assurée par l'emploi successif des deux techniques suivantes :

- Traitement par un procédé de chauffage direct ou indirect, en flux continu, appliqué en une seule fois de façon ininterrompue pendant un temps très court (1à 3 secondes) à une température d'environ 140°C ;
- Conditionnement aseptique dans un contenant stérile et hermétiquement clos, étanche aux liquides et microorganismes et permettant de soustraire le lait de toute influence défavorable et de la lumière.

# PARTIE EXPÉRIMENTALE

# Problématique et objectifs

La contamination du lait représente un réel problème pour le consommateur ainsi que pour les industries laitières car ce dernier peut contenir des germes pathogènes qui échappent à la pasteurisation lorsqu'elle est mal effectuée augmentant ainsi le risque de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC).

Le problème du secteur de transformation du lait cru sont les critères d'acceptation des lots collectés imposés à l'entrée de l'usine ,seuls les paramètres physicochimiques et les résidus d'antibiotiques sont contrôlés. Les laits conformes sont introduits dans le process de pasteurisation , les non conformes refoulés pour aller alimenter le circuit de l'informel.

Dans l'optique de mieux cerner le problème de la contamination staphylococcique dans la filière de transformation du lait cru, Nous nous sommes fixés de nombreux objectifs, parmi lesquelles :

- Evaluer la contamination par S aureus du lait de collecte dans 3 laiteries potentielles de la région d'Alger.
- Estimer l'évolution de cette contamination et ses variations le long des saisons.
- Estimer la résistance de S aureus à la pasteurisation.
- Etudier les phénomènes de sensibilité/ résistance des isolats de S aureus à certains antibiotiques.

Notre partie expérimentale est divisée en 03 parties :

- Isolement et confirmation de *S. aureus* à partir des laits prélevés ;
- Dénombrement des SCP isolés ;
- Etude des profils de résistance des isolats vis à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme.

# 1 Matériels et méthodes

## 1.1 Matériels

### 1.1.1 Présentation des laiteries

Notre étude a concerné trois laiteries situées dans la région centre de la wilaya d'Alger : Laiterie A, Laiterie B et Laiterie C. Notre choix a été motivé d'une part, par le fait que le lait et les produits laitiers fabriqués par ces entreprises soient largement consommés dans la région d'Alger et par la bonne volonté de coopération des responsables de ces entreprises.

#### **1.1.1.1** Laiterie Betouche

Par manque de données, nous n'avons pas pu faire la présentation de la laiterie Betouche. Située sur une superficie de 5 400 m² à Dergana dans la wilaya d'Alger, la laiterie Betouche est une entreprise familiale nationalisée en 1976 par l'état, la laiterie a été reprise par ses propriétaires, elle emploie 350 travailleurs dont 150 employés directs et 200 indirects, elle assure la production de lait en sachet fabriqué par mélange de poudres avec de l'eau. D'autres volets de production sont aussi assurés par cette entreprise tel que la production de yaourt, de crème dessert ,et de crème fraiche.Le lait de collecte est utilisé pour la fabrication de lben ,. Elle a aussi investi une somme de 16milons d'euro pour se lancer dans la fabrication de nouveaux produits tel que le yaourt à boire pour les enfants le petit lait et le Raib en pack. Cette laiterie est dotée d'un laboratoire d'autocontrôle qui n'effectue que les analyses physicochimique.

#### 1.1.1.2 Laiterie COLAITAL

COLAITAL acronyme de Complexe Laitier d'Alger, est une société par action ayant pour principale mission la production et la commercialisation de lait et ses dérivés. L'entreprise est située à Bir Khadem (Alger), sa superficie s'étale sur 2,3 hectares dont 0,7 hectares construits. Plusieurs produits sont fabriqués dans cette exploitation : le lait pasteurisé en sachets, le lait concentré, le lait fermenté (l'ben), le yaourt aromatisé et le « smen » ainsi que le « petit-suisse ». Elle procède à l'écrémage du lait de collecte dont elle utilise la crème pour la fabrication de beurre et de crème fraiche. La société possède un laboratoire d'analyses situé à l'intérieur de la laiterie qui effectue les analyses microbiologiques et physicochimiques sur le lait cru et les autres produits dérivés.

#### 1.1.1.3. Laiterie LFB

La Laiterie et Fromagerie de BOUDOUAOU (LFB) anciennement connu sous le nom de ONALAIT a commencé sa production en 1978, elle appartient au groupe GIPLAIT, elle est située dans la wilaya de Boumerdès plus précisément dans la commune de Boudouaou. Elle est spécialisée dans la production et la commercialisation de lait et de produits laitiers. Sa

surface est de 7,78 ha dont 2 ha construits. Cette laiterie assure principalement la production de : lait pasteurisé en sachets, lait acidifié fermenté, fromage à pâte pressée non cuite type « EDAM », fromage fondu pasteurisé, fromage fondu en boites métalliques stérilisé, lait en poudre instantanée. Le lait de collecte est utilisé pour la fabrication de l'EDAM. Le laboratoire d'analyses situé dans son enceinte assure les analyses physicochimiques du lait cru de collecte et les analyses microbiologiques des produits pasteurisés.

### 1.1.2 Echantillonnage

Au total 377 échantillons de lait ont été prélevés durant la période allant du mois de mars de l'année 2016 au mois de mars de l'année 2017. Chaque prélèvement est constitué d'un flacon de 225 ml de lait de collecte prélevé selon les sites de prélèvement suivants :

1 À partir des camions-citernes de chaque collecteur à leur arrivée (**C**);
2 À partir du tank de mélange où les laits des différents collecteurs sont mélangés **(T)** ;
3 À partir du tank après pasteurisation **(P).**

Nous avons effectué nos prélèvements à raison d'une visite par semaine pour chaque laiterie. Les jours restants étant réservés aux analyses microbiologiques de nos échantillons. Nous avons effectué trois visites par laiterie durant les 04 saisons (Printemps, Automne, Hiver et Été) sauf pour la saison d'été où deux visites seulement ont été effectuées Correspondant à la période de congés annuels (mois d'Aout). Au total, nous avons effectué 11 visites pour chaque laiterie correspondant à 11 lots d'échantillons différents **(tableau 07).** Les figures **05, 06** et le tableau **07** ci-dessous représentent la répartition des échantillons récoltés dans cette étude en fonction des laiteries, des sites de prélèvement des saisons.

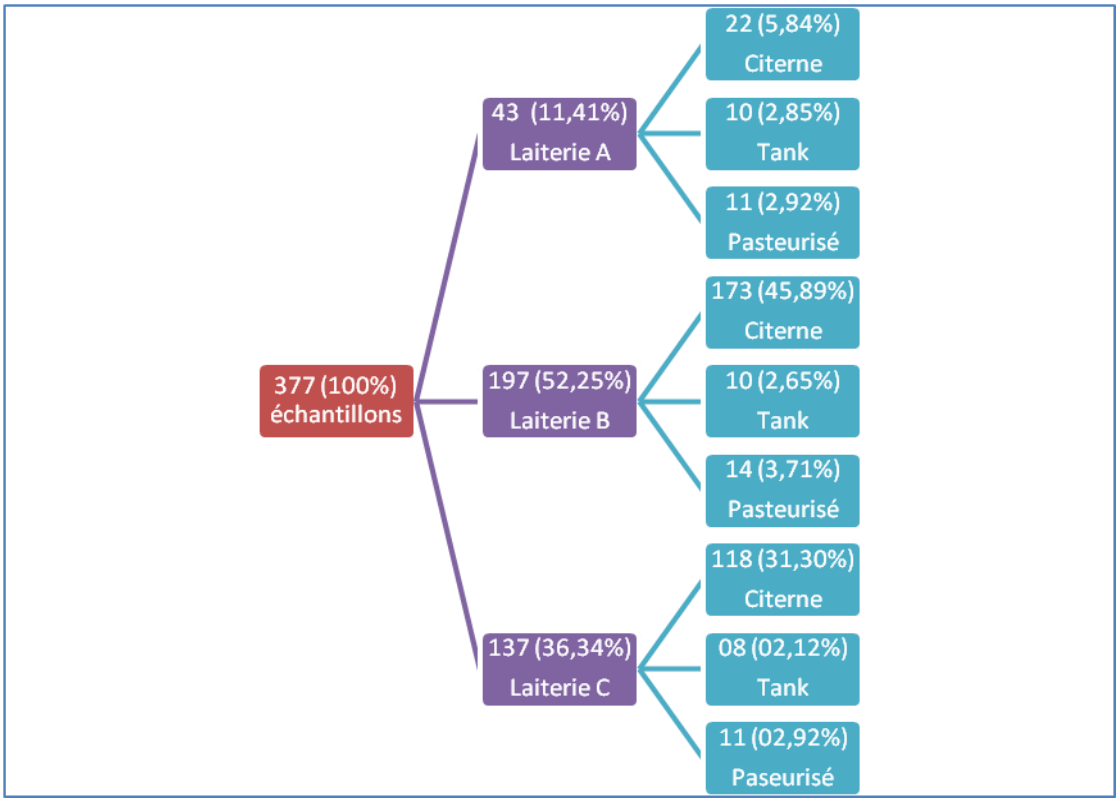


***Figure 5 :*** Distribution des échantillons de lait récoltés en fonction des laiteries et des sites de prélèvement.

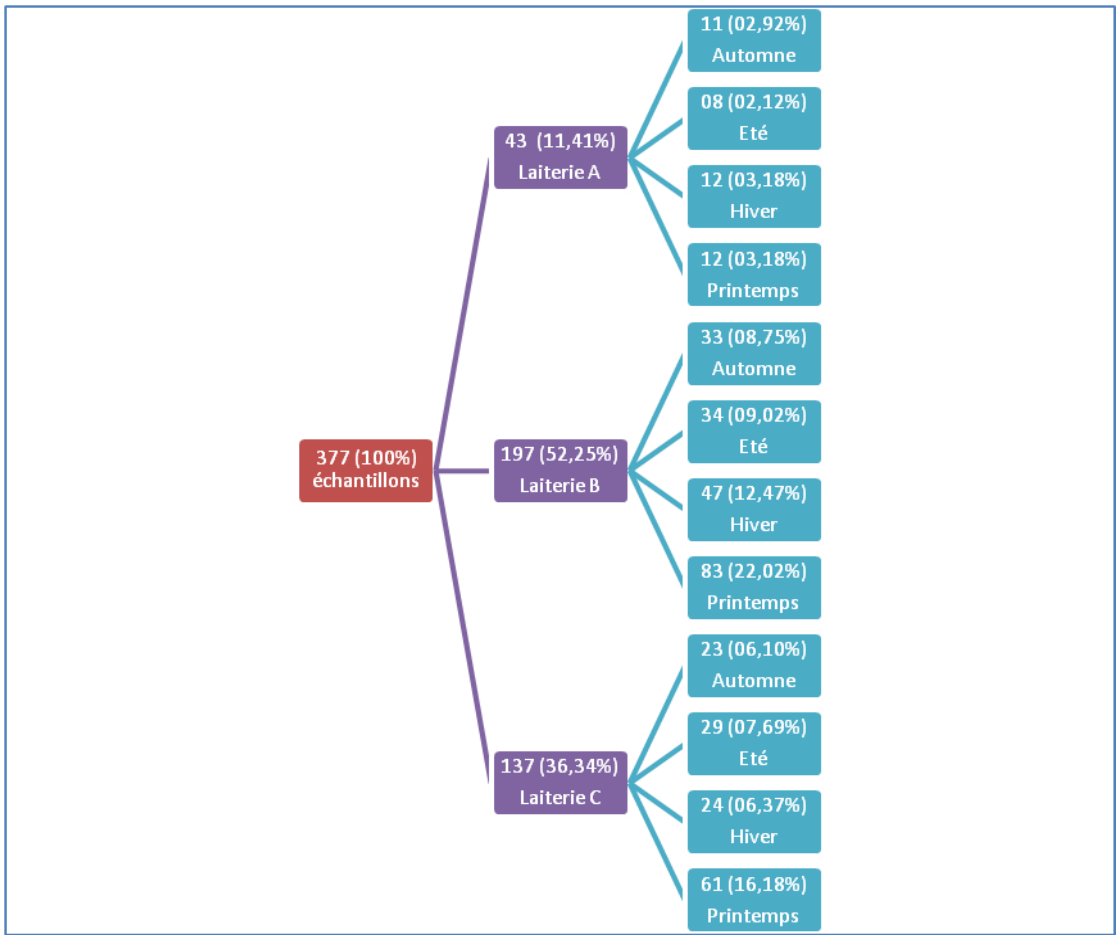


**Figure 6 :** Distribution des échantillons de lait récoltés en fonction des laiteries et des saisons.

***Tableau 7* :** Distribution des lots en fonction des laiteries et des sites de prélèvement.

| | **Laiterie A** | | | | **Laiterie B** | | | | **Laiterie C** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **C** | **T** | **P** | **Total** | **C** | **T** | **P** | **Total** | **C** | **T** | **P** | **Total** |
| Lot 1 | 2 | 1 | 1 | **4** | 25 | 1 | 2 | **28** | 13 | 1 | 1 | **15** |
| Lot 2 | 2 | 1 | 1 | **4** | 19 | 1 | 1 | **21** | 18 | 1 | 1 | **20** |
| Lot 3 | 2 | 1 | 1 | **4** | 30 | 1 | 3 | **34** | 25 | 0 | 1 | **26** |
| Lot 4 | 2 | 1 | 1 | **4** | 15 | 1 | 1 | **17** | 13 | 1 | 1 | **15** |
| Lot 5 | 2 | 1 | 1 | **4** | 15 | 1 | 1 | **17** | 13 | 0 | 1 | **14** |
| Lot 6 | 2 | 1 | 1 | **4** | 15 | 1 | 1 | **17** | 7 | 1 | 1 | **09** |
| Lot 7 | 1 | 1 | 1 | **4** | 07 | 1 | 1 | **09** | 7 | 0 | 1 | **08** |
| Lot 8 | 2 | 1 | 1 | **4** | 05 | 1 | 1 | **07** | 4 | 1 | 1 | **06** |
| Lot 9 | 2 | 0 | 1 | **3** | 14 | 0 | 1 | **15** | 8 | 1 | 1 | **10** |
| Lot 10 | 1 | 1 | 1 | **3** | 14 | 1 | 1 | **16** | 4 | 1 | 1 | **06** |
| Lot 11 | 4 | 1 | 1 | **6** | 14 | 1 | 1 | **16** | 6 | 1 | 1 | **08** |
| Total | 22 | 10 | 11 | **43** | 173 | 10 | 14 | **197** | 118 | 8 | 11 | **137** |

C : Citerne ; T : Tank ; P : Pasteurisé.

### 1.1.3.Matériel de prélèvements

Nous avons utilisé pour nos prélèvements de lait :

- Une louche en acier inoxydable ;
- Alcool ;
- Du coton ;
- Un chalumeau portatif;
- Des flacons stériles de 250ml ;
- Une glacière ;

Les échantillons ont été transportés dans une glacière isotherme vers le laboratoire d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour y être analysés le jour même.

### 1.1.4.Matériel d'analyse

Du matériel usuel de laboratoire de bactériologie a été utilisé pour les analyses microbiologiques ainsi que pour l'antibiogramme.

## 1.2 Méthodes

### 1.2.1 Méthode de prélèvement

A partir du « trou d'homme », ouverture située au niveau de la partie supérieure de la citerne et à l'aide d'une louche préalablement stérilisée, nous avons procédé au prélèvement de lait de collecte pour chaque collecteur à partir des citernes individuelles. Nous avons en premier lieu mélangé le lait de la citerne afin de l'homogénéiser et remplis par la suite les flacons jusqu'à 225ml, la louche a été lavée et flambée entre chaque prélèvement (collecteur). Lors des prélèvements du lait de tank et du lait pasteurisé, nous avons flambé le robinet du tank avant de procéder au remplissage des flacons (Figure 07).

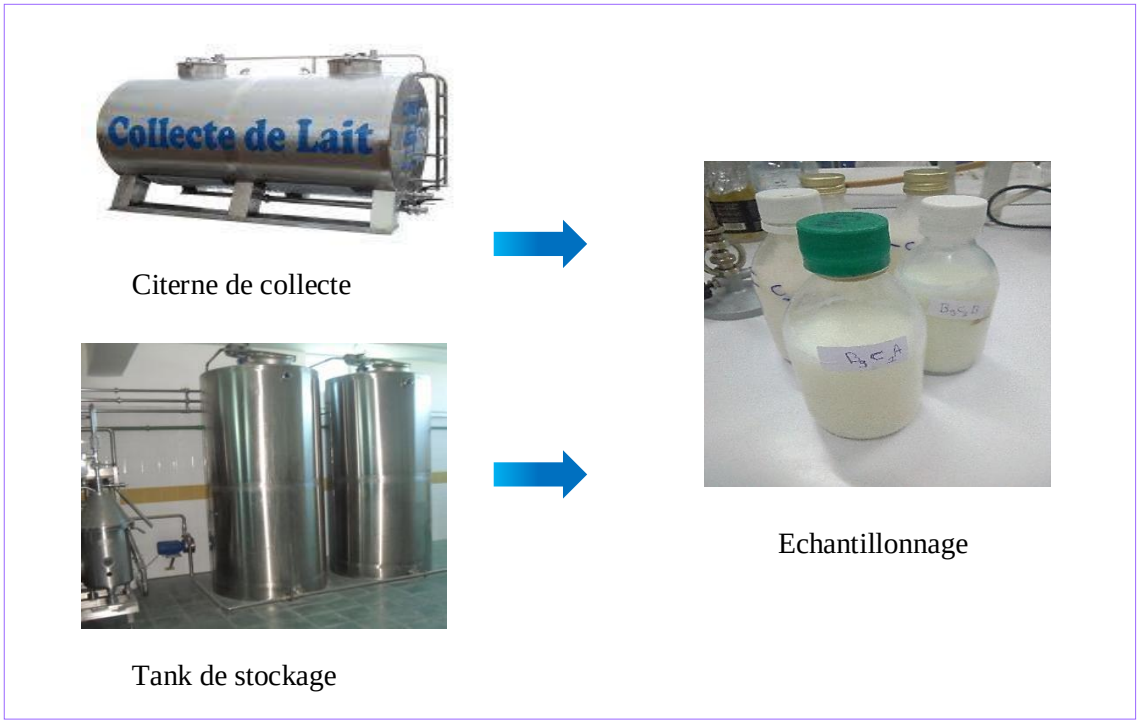


**Figure 7:** Sites de prélèvement de lait à partir des citernes de collectes et du Tank de stockage.

### 1.2.2 Méthode d'analyse microbiologique

La recherche et dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (SCP) a été effectué selon la norme ISO 6888-1(1) selon les étapes suivantes :

#### 1.2.2.1 Dilutions

Quatre dilutions ont été réalisées à partir des flacons de prélèvement.

### 1.2.2.2 Ensemencement

Un volume de 0,1 ml des différentes dilutions préparées est ensemencé et étalé à la surface de boites de Pétri contenant un milieu de Baird Parker additionné de jaune d'œuf et de tellurite de potassium.

### 1.2.2.3 Incubation

Les boites sont ensuite incubées à 37°C pendant 48h.

### 1.2.2.4 Lecture des boites

Après 24h d'incubation à 37°C, les colonies caractéristiques sont dénombrées ; les boites sont ensuite ré incubées à 37 °C pendant 24 h±2 h supplémentaires et les nouvelles colonies caractéristiques, ainsi que les colonies non caractéristiques sont dénombrées. Seules les boîtes renfermant au maximum 300 colonies dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques sont retenues au niveau de deux dilutions successives. Il faut qu'une des deux boîtes renferme au moins 15 colonies **(Figure 08)**.

Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, brillantes et convexes (1 mm à 1,5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1,5 mm à 2,5 mm de diamètre après 48 h d'incubation) et entourées d'une auréole d'éclaircissement. Après au moins 24 h d'incubation, peut apparaître dans cette zone claire un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies **(Figure 09)**

Les colonies non-caractéristiques sont soit des colonies noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit ; la zone claire est absente ou à peine visible et l'anneau opalescent est absent ou à peine visible ; soit des colonies grises dépourvues de zone claire.

**Figure 8:** Lecture des boites (Photo personnelle).

**Figure 9** Aspect des colonies caractéristique de *S. aureus* sur milieu Baird Parker (Photo personnelle).

### 1.2.2.5 Identification biochimique des colonies

Pour l'identification biochimique, une purification sur gélose nutritive (GN) est requise afin de travailler sur des colonies fraiches. Cinq (5) colonies caractéristiques sont sélectionnées dans le cas ou il n'y a que des colonies caractéristiques, ou 5 colonies non caractéristiques s'il n'y a que des colonies non caractéristiques, ou 5 colonies caractéristiques et 5 colonies non caractéristiques si les deux types sont présents. Ces colonies sont ensemencées sur des boites de Pétri contenant de la GN puis incubées à 37°C pendant 24h **(figure 10)**.

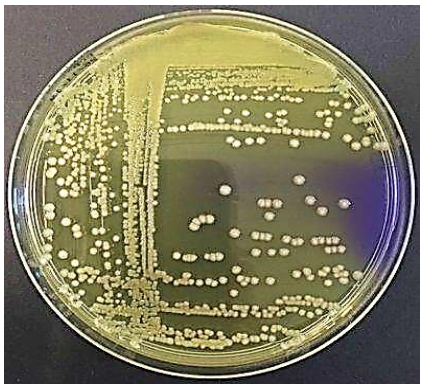

**Figure 10:** Aspect des isolats après purification sur GN (Photo personnelle)

#### 1.2.2.5.1 Test de la catalase

Ce test permet de démontrer la présence de l'enzyme catalase responsable de la décomposition de l'eau oxygénée ($H_2O_2$) en eau ($H_2O$). A l'aide d'une pipette Pasteur, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée et placée sur une lame contenant une goutte d'eau oxygénée, une réaction positive se traduit par le dégagement immédiat de bulles de gaz (oxygène) **(figure 11)**. Dans le cas de réaction négative, une absence d'effervescence dans le peroxyde est observée.

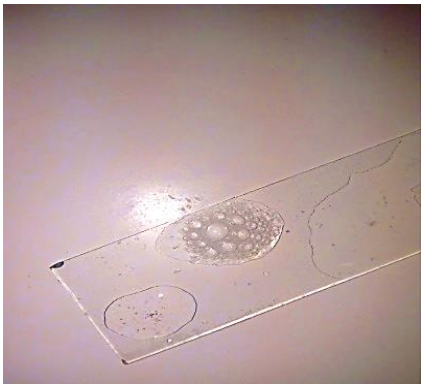

**Figure 11 :** Résultat positif du test de catalase (Photo personnelle).

#### 1.2.2.5.2 Test de coagulase

Ce test n'est effectué que sur les colonies catalase positive, il permet la recherche de la coagulase, exo-enzyme capable *in vitro* de coaguler le plasma de lapin. A partir des boites de GN et à l'aide d'une pipette Pasteur, nous avons prélevé une partie de chaque colonie purifiée (catalase positive) et nous l'avons ensemencée dans un tube à essai contenant du BHIB, puis incubé à 37°C pendant 24 h plus ou moins 2h. Dans des tubes stériles, nous avons ajouté stérilement 0,1 ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin et incubé à 37°C. Pour examiner la coagulation, les tubes à essai sont inclinés, nous considérons que la réaction est positive quand le coagulum occupe plus que la moitié du volume initialement occupé par le liquide **(Figure 12)**.

**Figure 12 :** Résultat positif du test de la coagulase (Photo personnelle).

#### 1.2.2.6 Calcul du nombre N de Staphylocoques à coagulase positive

Pour les boites qui contiennent 300 colonies au maximum, dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques pour deux dilutions successives, le nombre N de staphylocoques à coagulase positive identifiés présents dans nos échantillons est calculé en tant que moyenne pondérée à partir de deux dilutions successives à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma\, a}{V\,(n1 + 0{,}1\ n2)d}$$

- Ou "a" : est le nombre de staphylocoques à coagulase positive identifiés, son calcul se fait selon l'équation ci-dessous :

$$a = \frac{bc}{Ac} X\ Cc + \frac{bnc}{Anc} X\ Cnc$$

Avec :

– $A_c$ : représentant le nombre de colonies caractéristiques soumises au test de la coagulase ;
– $A_{nc}$ : le nombre de colonies non caractéristiques soumises au test de la coagulase ;

- $b_c$ : le nombre de colonies caractéristiques qui ont répondu positivement au test de la coagulase ;
- $b_{nc}$ : le nombre de colonies non caractéristiques qui ont répondu positivement au test de la coagulase ;
- $c_c$ : le nombre total de colonies caractéristiques repérées sur la boite ;
- $c_{nc}$ : le nombre total de colonies non caractéristiques repérées sur la boite.
- Σa : est la somme des colonies de staphylocoques à coagulase positive identifiées sur l'ensemble des boites retenues ;
- V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boite, en millimètres ;
- $n_1$ : est le nombre de boites retenues à la première dilution ;
- $n_2$ : est le nombre de boites retenues à la seconde dilution ;
- d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

### 1.2.2.7 Identification des *S. aureus* par le test rapide d'agglutination

L'identification de l'espèce *S. aureus* parmi les staphylocoques à coagulase positive a été réalisée par le test d'agglutination PASTROREX STAPH PLUS (Bio-Rad®, France, 2016). Les colonies catalase positives et coagulase positives sont soumises au test d'agglutination PASTOREX STAPH PLUS (BioRad, France). Dans ce test contenant des particules de latex plusieurs réactions d'agglutination sont combinées, il permet de rechercher :

- ✓ La coagulase liée : il s'agit d'un facteur d'affinité pour le fibrinogène que l'on désigne sous le nom de « clumping factor »
- ✓ La protéine A ; qui possède une affinité pour le fragment cristallisable (FC) des immunoglobulines gamma (IGG)
- ✓ Les antigènes polysaccharidiques capsulaires de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline.

Après mise en contact des colonies avec une goutte du réactif, les colonies identifiées comme étant *S. aureus* sont celles qui présentent une agglutination **(figure 13)**.

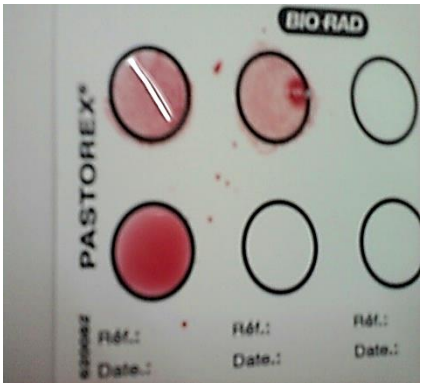


***Figure 13* :** Résultats positif d'un isolat au test d'agglutination.

#### 1.2.2.8 Evaluation de la qualité du lait en SCP

La qualité hygiénique de tous les prélèvements a été évaluée en comparant les résultats obtenus des dénombrements au seuil réglementaire (J.O.R.A N°39, 2017). La valeur maximale M =$10^3$ UFC/ml est le seuil au dessus duquel les prélèvements sont considérés de qualité non satisfaisante et le seuil minimal m= $10^2$ UFC / ml au dessous du quel les échantillons sont considérés de qualité satisfaisante, entre ces deux limites ils sont considérés de qualité acceptables. Il est à noter que l'évaluation de la qualité hygiénique du lait a été effectuée pour chaque échantillon (n=1).

### 1.2.3 Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

La méthode de Kirby Bauer a été utilisée pour réaliser les antibiogrammes. Pour la préparation de l'étalon 0,5 Mc Farland ainsi que la suspension bactérienne, nous nous sommes référés à la méthode de standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale en Médecine humaine et vétérinaire Edition 2014**.** Le choix des antibiotiques et l'interprétation des résultats sont faits selon les recommandations du CLSI (Clinical and laboratory standards institute, 2013) et du NCCLS document M31-S1:Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Informational Supplement pour la Vancomycine.

#### 1.2.3.1 Préparation de l'étalon 0,5 Mc Farland

Nous avons ajouté 0,5ml d'une solution à 0,048mol/l de $BaCl_2$ à 99,5mL d'une solution de 0,18mol/l (0,36N) de $H_2SO_4$ et la solution obtenue a été agitée vigoureusement. Nous avons ensuite vérifié la densité de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre. L'absorbance à 625nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13. La suspension a été distribuée dans des tubes de même taille que ceux utilisés pour préparer la suspension bactérienne. Une fois scellés, nous avons conservé ces tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière.

#### 1.2.3.2 Préparation de la suspension bactérienne

A partir de la culture pure, nous avons réalisé une suspension bactérienne dans des tubes remplis d'eau physiologique stérile pour atteindre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 Mc Farland. Pour ce faire, nous avons prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur plusieurs colonies de même morphologie, ces dernières ont été mises ensuite en suspension dans l'eau physiologique stérile **(figure14).**

**Figure 14:** Prélèvement de colonies pour la préparation de la suspension bactérienne (Photo personnelle).

La suspension bactérienne est ensuite comparée au témoin 0,5 Mc Farland. Il est recommandé d'employer un densitomètre pour ajuster l'inoculum, mais par manque de ce dernier nous avons comparé à l'œil nu la turbidité de la suspension bactérienne à celle de l'étalon (après agitation de la suspension bactérienne et de l'étalon avec un Vortex$^{R}$). La comparaison à l'œil nu se fait en se plaçant face à un fond blanc avec des lignes noires comme le préconise aussi la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) édition 2014 **(figure15)** L'ajustement de la densité bactérienne au tube 0,5 Mc Farland, s'opère en ajoutant soit de l'eau physiologique stérile soit les bactéries.

**Figure 15 :** Image représentant la comparaison de la suspension bactérienne à l'étalon Mc Farland.

#### 1.2.3.3 Ensemencement

Des boites de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton (MH) sont ensemencées par la méthode d'épuisement à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne et fortement pressé sur la paroi du tube afin de le décharger au maximum. Nous avons frotté l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée. L'opération a été répétée deux fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois et en pivotant l'écouvillon sur lui-même. L'opération a été réalisée dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

#### 1.2.3.4 Antibiotiques testés

La sensibilité des isolats obtenus a été testée à 12 antibiotiques appartenant aux différentes classes (β lactamines, cyclines, aminosides, macrolides, quinolones, glycopeptides, phénicolés, sulfamides) par la méthode de diffusion de disques sur gélose Mueller-Hinton (CONDA -Pronadisa) selon les normes du CLSI (Clinical and laboratory standards institute, 2013) et du NCCLS (National Comittee for ClinicalLaboratory Standards) recommandées par l'OMS. Les disques d'antibiotiques (BioRad) utilisés sont les suivants **(figure 16)** : pénicilline (10UI), oxacilline (1 µg), céfoxitine (30µg), tétracycline (30µg), néomycine (30µg), Gentamicine (10µg), érythromycine (15µg), clindamycine (2µg), ofloxacine (5µg), Vancomycine (30µg), chloramphénicol (30µg), triméthoprime+sulfaméthoxale (1,25/23,73µg).

**Figure 16** : Disques d'antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme (Photo personnelle)

#### 1.2.3.5 Application des disques d'antibiotiques

Les disques sont déposés fermement à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide **(figure 17)**. Le nombre de disque déposé par boite ne doit pas dépasser les six disques du fait du chevauchement des zones d'inhibition mais aussi pour limiter les interférences entre les antibiotiques.

***Figure 17* :** Dépôts des disques d'antibiotiques (Photo personnelle)

Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince que nous avons stérilisé à chaque dépôt d'un disque. L'incubation se fait dans les 15mn qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30mn à 35±2°C pendant 16 à 24h **(figure18)**.

Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle et les résultats ont été interprétés selon les recommandations du CLSI (Clinical and laboratory standards institute, 2013) et du NCCLS document M31-S1:Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Informational Supplement pour la Vancomycine, ensuite, la bactérie a été classée dans l'une des catégories : **S**ensible, **I**ntermédiaire ou **R**ésistante. Afin de s'assurer de la fiabilité de notre méthode (controle positif) nous avons procédé à l'antibiogramme de la souche sensible de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

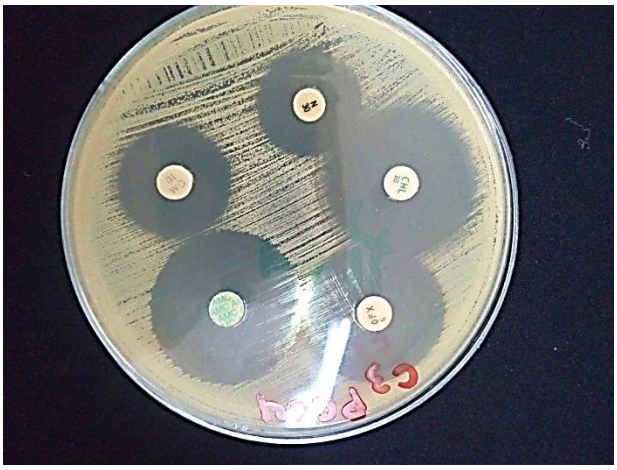

**Figure 18 :** zones d'inhibitions après incubation des boites (Photo personnelle)

## 1.3 Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel Statview® (Version 4.55 ; California - USA). Le test $\chi^2$ été utilisé pour comparer entre les pourcentages dans l'étude de la prévalence des S.aureus.L'analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour comparer entre plusieurs moyennes des différents lots dans le dénombrement des SCP. Ensuite, le test *t* de Student a été utilisé pour comparer entre deux moyennes notamment dans le dénombrement des SCP. Le seuil de signification retenu est lorsque $P<0,05$.

# Résultats
# &
# Discussion

# Résultats 1 :

## Prévalence de *S. aureus*

# RESULTATS 1 : Prévalence de *S. aureus*

## 1 Prévalence de la contamination par *S. aureus*

### 1.1 Prévalence globale

Le diagramme en cercle ci-dessous, représente la contamination globale de tous les échantillons testés au cours de notre étude. Il s'avère que parmi les 377 échantillons analysés 169 se sont révélés contaminés par *S. aureus* soit une prévalence–globale de 44,82% (Figure19).

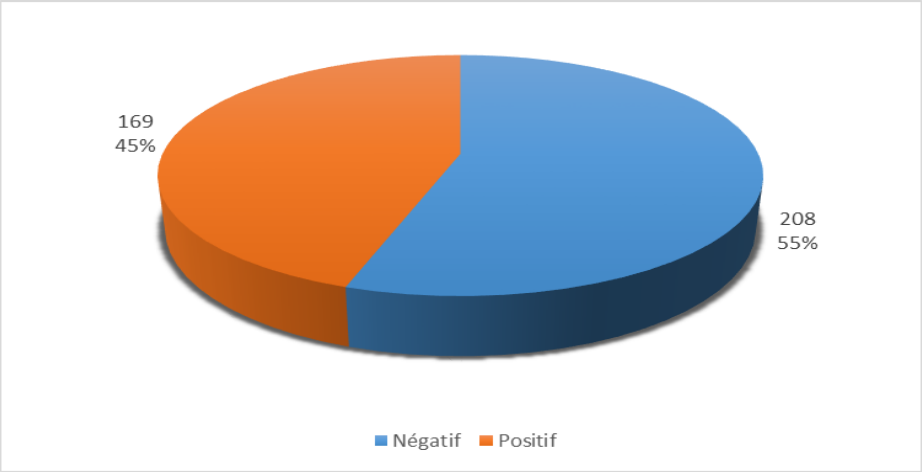


***Figure 19 :*** *Prévalence globale de la contamination* par *S.aureus.*

### 1.2. Prévalence de *S. aureus* en fonction d'un facteur de variation

#### 1.2.1. Prévalence de *S.aureus* selon le site de prélèvement

L'étude de la contamination des échantillons en fonction du site de prélèvement, a montré que 156 prélèvements sur 313 soit un taux de 49,84% étaient positifs à *S. aureus* pour les laits prélevés à partir des citernes alors que le nombre d'échantillons positif pour le lait de tank était de 11 sur 28 soit un pourcentage de 39,29% et pour le lait pasteurisé la prévalence était de 5,55% soit 2 échantillons sur 36 **(Figure20).**

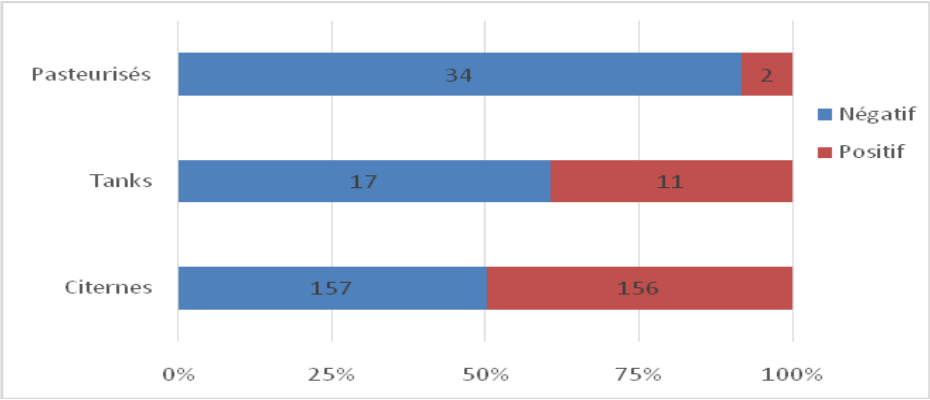


**Figure 20** : Prévalence de *S.aureus* en fonction du site de prélèvement.

### 1.2.2. Prévalence de *S.aureus* selon les saisons

Le teste de Khi² montre une différence significative ($P$<0,05) entre la contamination des échantillons en fonction des saisons : printemps, été, automne et hiver avec des taux respectifs de 53,85% (84/156) ; 49,30% (35/71) ; 40,30% (27/67) et 28,92% (24/83). Les taux les plus élevés sont retrouvés durant les saisons les plus chaudes à savoir le printemps (53,85%) et l'été (49,30%), l'hiver semble être la saison où la contamination est la moins élevée 28,92% **(Figure 21).**

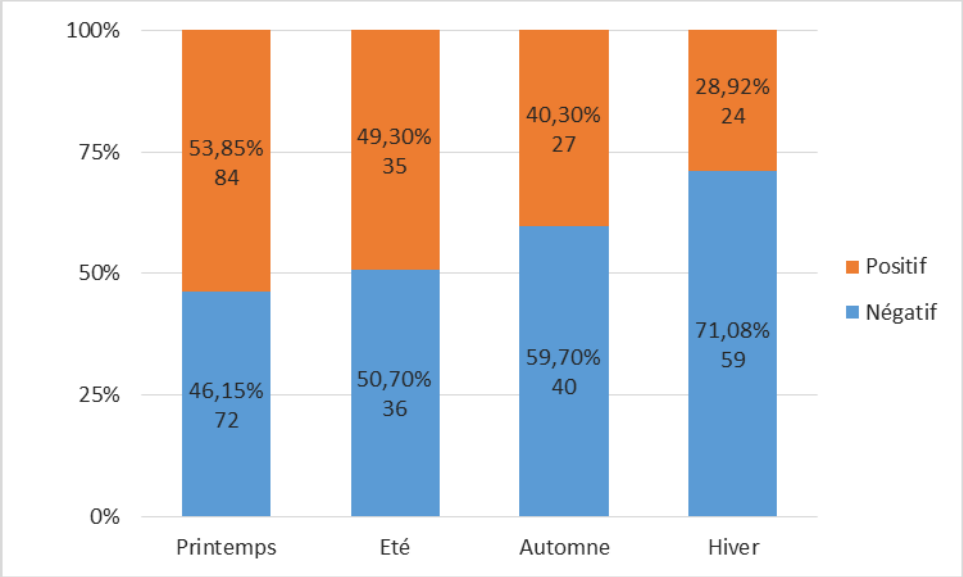


**Figure 21 :** prévalence de *S.aureus* en fonction des saisons ($P$<0,05).

### 1.2.3. Prévalence de *S.aureus* en fonction des laiteries

L'application du test du Khi$^2$ montre une différence très significative entre la contamination des trois laiteries, le taux le plus élevé est enregistré dans de la laiterie C (59,85% soit 82/137) suivie par la laiterie B avec un taux de 41,62% soit 82/197. Le taux le moins élevé a été enregistré dans la laiterie A avec une prévalence de 13,95% (6/43) **(Figure 22).**

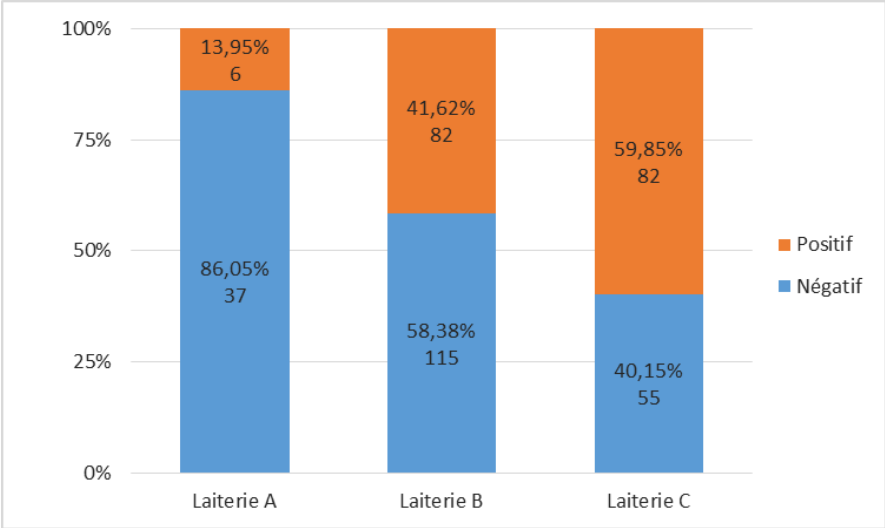


**Figure 22** : prévalence de *S.aureus* en fonction des laiteries.

## 1.3. Prévalence de *S.aureus* en fonction de deux facteurs de variation

### 1.3.1. Prévalence de *S.aureus* en fonction des laiteries et du site de prélèvement

Sur les trois laiteries étudiées, la laiterie C montre une contamination plus élevée pour le lait de citerne 24,60% (77/313), suivie par la laiterie B avec un taux de 23,96% (75/313) et en dernier la laiterie A 1,28% (4/313). Concernant le lait de tank, les laiteries B et C ont enregistré un même taux de contamination de 17,86% (5/28) suivies par la laiterie A avec un taux de contamination de 3,57% (1/28). En matière de lait pasteurisé, seule la laiterie C était indemne de toute contamination par *S. aureus*. Contrairement à toute attente, les laiteries A et B ont montré une contamination similaire de leur lait pasteurisé avec un même taux de 2,78% (1/36) **(Figure 23)**.

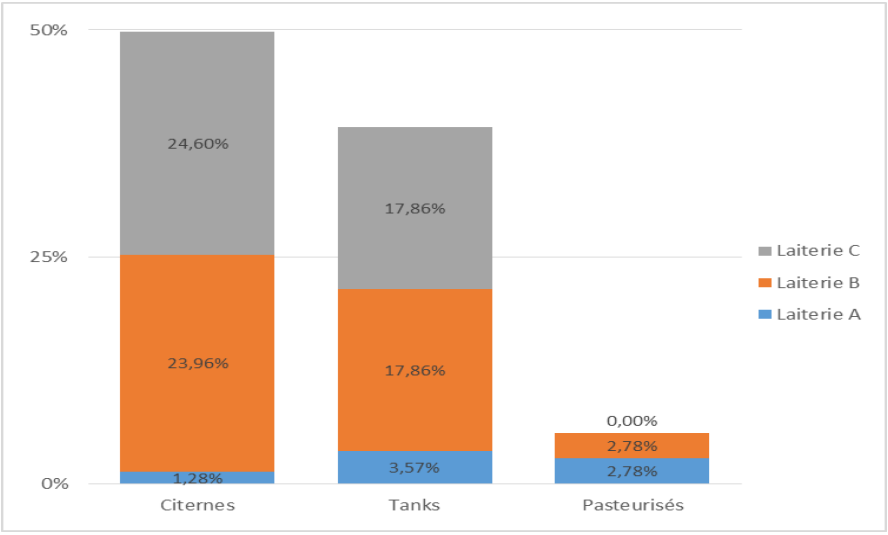


**Figure 23 :** prévalence de *S.aureus* en fonction des laiteries et du site du prélèvement.

### 1.3.2. Evolution de la prévalence de *S.aureus* en fonction des laiteries et du site de prélèvement

Les résultats enregistrés ont montré une baisse du taux de contamination pour la laiterie A avec des taux respectifs de 18,18%, 10% et 9,09% pour le lait de citerne, de tank et le lait pasteurisé. Une légère évolution à la hausse entre le lait de citerne et le lait de tank a été observée pour la laiterie B avec des taux de 43,35% et 50% respectivement. Une baisse du taux de contamination est aussi notée pour le lait pasteurisé (7,14%). Dans la laiterie C, le lait pasteurisé ne présentait aucun échantillon positif, une régression de la contamination est constatée pour le lait de citerne et le lait de tank avec des taux respectifs de 65,25% et 62,50% **(Figure 24 et Tableau 8)**.

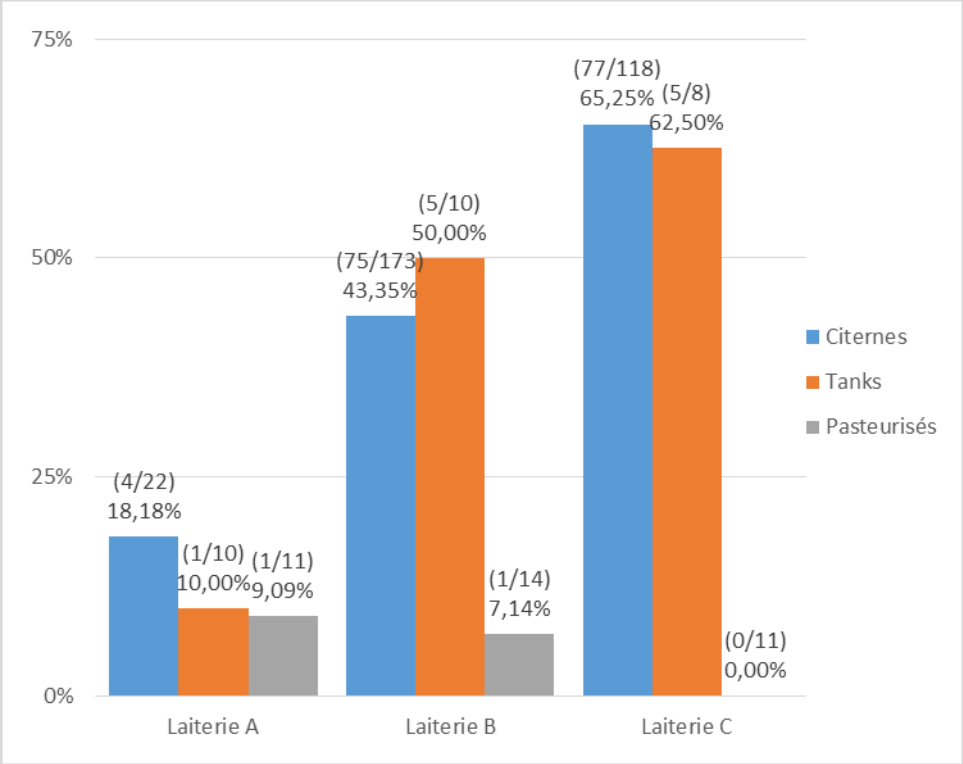


**Figure 24:** *Evolution de la prévalence de* S.aureus *en fonction des laiteries et du site de prélèvement*

**Tableau 8** : Evolution de la Prévalence de *S.aureus* en fonction du site de prélèvement pour chaque laiterie.

| Laiteries | Citerne | | Tank | | Pasteurisé | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positif (%) | Total | Positif (%) | Total | Positif (%) | Total |
| **Laiterie A** | 04 (18,18) | 22 | 01 (10,00) | 10 | 01 (09,09) | 11 |
| **Laiterie B** | 75 (43,35) | 173 | 05 (50,00) | 10 | 01 (07,14) | 14 |
| **Laiterie C** | 77 (65,25) | 118 | 05 (62,50) | 8 | 00 (00,00) | 11 |
| Total | | 313 | | 28 | | 36 |

### 1.3.3. Prévalence de S.aureus en fonction des laiteries et des saisons

#### 1.3.3.1. Prévalence de *S. aureus* dans chaque laiterie et en fonction des saisons

A la contamination des laiteries en fonction des saisons, c'est la laiterie B qui semble être la plus contaminée pour le printemps (N=156) avec un taux de 26,92%, suivie de près par la laiterie C (26,28%) et en dernier la laiterie A (0,64%). Concernant l'été (N=71) c'est la laiterie C qui était la plus contaminé avec un taux de 23,94% suivit par la laiterie B 18,31% vient ensuite la laiterie A avec le taux de 7,04%. La même tendance est observée durant l'automne(N=67) avec des taux de contamination au niveau de la laiterie C (20,90%) suivie par la laiterie B (19,40%), la laiterie A n'a enregistré aucun cas positif au *S.aureus* pour cette saison. La contamination était plus élevé en hiver N=83 au niveau de la laiterie B avec le taux de 16,87% suivit par la laiterie C avec le taux de 12,05%, encore une fois aucune contamination n'a été enregistrée à cette saison pour la laiterie A **(Figure25)**.

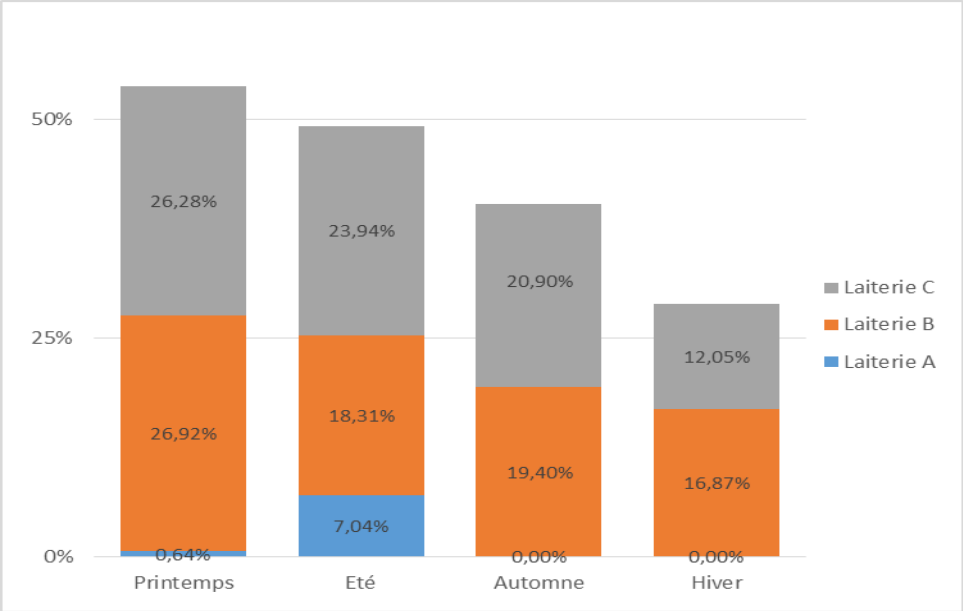


**Figure 25 :** Prévalence de *S. aureus* dans chaque laiterie et en fonction des saisons.

### 1.3.3.2. Evolution de la prévalence de *S.aureus du fil des saisons pour chaque laiterie*

A l'évolution de la contamination de chaque laiterie en fonction des saisons nous remarquons qu'il n'ya aucune contamination des échantillons prélevés au niveau de la laiterie A durant la saison de l'automne et de l'hiver, la contamination ne semble concerner que les saisons de l'été et du printemps avec des taux de 62,50% et 8,33% respectivement. La laiterie B montre un taux de contamination plus élevé durant le printemps 50,60% suivie de l'automne 38,24% puis de l'été 39,39% et enfin celle de l'hiver 29,79%. Pour la laiterie C, la même remarque que pour la laiterie B peut être retenue, mais avec des pourcentages plus élevés ; notamment pour la contamination durant le printemps avec un taux de 67,21%, pour l'été le taux était de 58,62% puis l'automne avec 60,87% et enfin l'hiver avec un taux de 41,67% **(Figure26)**.

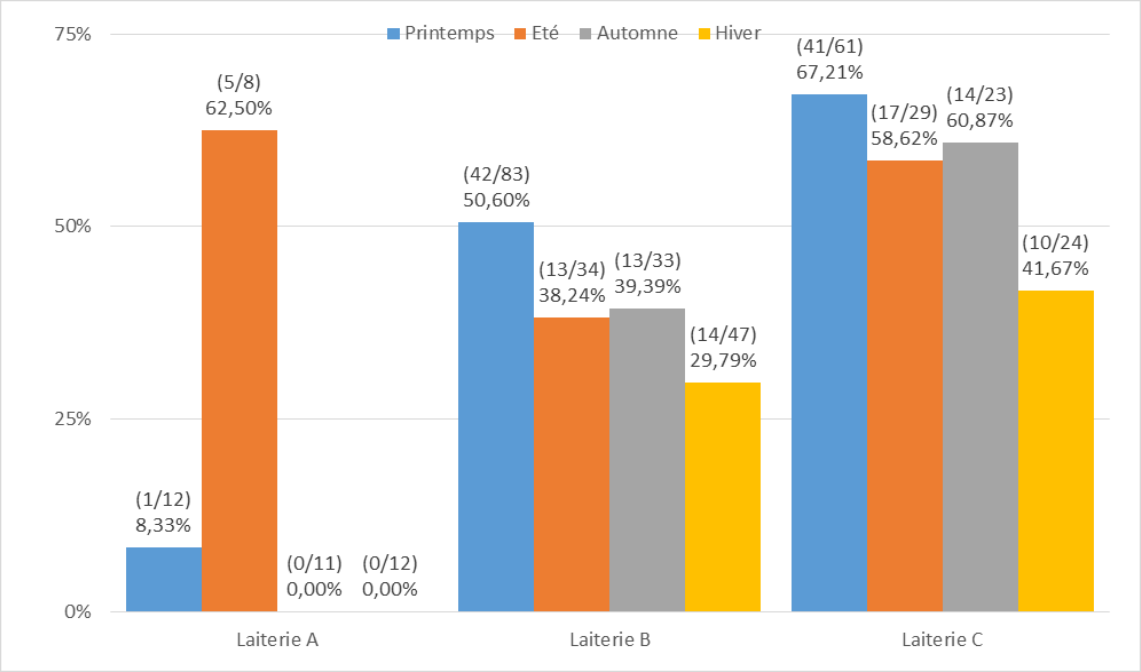


**Figure 26 :** prévalence de *S.aureus* au fil des saisons pour chaque laiterie.

# Discussion 1 : Prévalence de la contamination à *S. aureus*

*S. aureus* est considéré comme étant l'agent pathogène mammaire causant les plus grandes pertes économiques dans l'industrie des bovins laitiers. Les infections causées par *S. aureus* sont plus dommageables pour le tissu sécrétoire par leur production de toxines **(Akers, 2002)**. Les mammites causées par *S. aureus* peuvent devenir chroniques étant donné la capacité de la bactérie à se localiser à l'intérieur des cellules empêchant ainsi le système immunitaire de la reconnaitre et de l'éliminer **(Akers, 2002 ; Barkema *et al.*, 2006),** ce qui pourrait avoir ultérieurement des répercussions néfastes sur la santé du consommateur.

Globalement 45,09% des échantillons se sont révélés contaminés par *S. aureus.* Ce taux de contamination enregistré pour le lait de citerne (49,84%) est supérieur à ceux enregistrés en Algérie par **Belmamnoun *et al.* (2016)** dans la région ouest du pays, ceux de **Titouche *et al.*(2016)** et de **Akkou *et al.* (2016)** dans la région centre de l'Algérie avec des taux respectifs de 26,25%, 18% et 29,81%. A l'étranger, il est également supérieur à ceux enregistrés par **Nazari *et al.* (2014)** en Iran (21%), **Thaker *et al.* (2013)** en Inde (6,00%), **Fagundes. (2010)** au Brésil (7,03%) et ceux de **Bendahon *et al.* (2008)** au nord du Maroc (40%)**.** Cette différence serait due fort probablement au lieu de prélèvement, car la plupart de ces auteurs ont réalisé leurs prélèvements directement dans les étables (sans délais entre la traite et le prélèvement), alors que dans cette étude nous nous sommes intéressées aux laits des collecteurs qui ont fait l'objet de transport et de plusieurs manipulations avant d'arriver à la laiterie, avant d'être testés. Il est à signaler que le taux observé au cours de notre étude était inférieur à celui noté par **Hamiroune *et al.* (2016)**(58,5%) qui ont évalué la qualité bactériologique du lait cru à divers stades de la chaîne de production dans les exploitations agricoles en Algérie, à celui de **De Oliveira *et al.* (2011)** (68%) au Brésil et à celui d'**Ayele *et al.* (2017)** en Ethiopie (80%) qui ont analysé du lait provenant des centres de collecte.

De par sa richesse en nutriments, le lait constitue un milieu favorable au développement bactérien ; il peut donc être rapidement contaminé. Cette contamination peut avoir plusieurs origines. Elle peut provenir de la mamelle elle-même lorsque la vache souffre de mammites cliniques ou subcliniques **(Holm *et al.*, 2000)** ; ces dernières étant majoritairement associées à la présence de *S. aureus*, germe ubiquiste, habituellement présent sur les muqueuses de l'animal **(Sabour, 2004)**. Elle peut aussi être influencée par la composition et l'entretien des litières ainsi que le non-respect des règles d'hygiène lors de la traite, à savoir l'hygiène des mains, des trayons et du tank de stockage (**Bonfoh *et al.*, 2003).**

Les machines à traire contribuent elles aussi à la contamination du lait par les biofilms présents à leurs surfaces lorsqu'elles sont insuffisamment nettoyées ou lors de l'utilisation d'une eau contaminée **(Hamiroune *et al.*, 2014).**

Le non-respect des températures de réfrigération lors du transport (5°C température préconisée), ainsi que l'exposition du lait aux températures ambiantes semblent jouer un rôle déterminant remettant en cause sa conservation **(Kouamé-Sina *et al.*, 2010),** le rendant ainsi dangereux pour le consommateur. **Smith *et al.* (1982)** ont détecté la production des entérotoxines à des températures proches de l'ambiance allant de 10ºC à 46ºC, alors que leur production est normalement retrouvée à des températures de 40ºC à 45 °C **(Tortora *et al.*,2005).** Ceci représente un réel danger pour le consommateur car une fois libérées les entérotoxines sont très thermostables contrairement à la bactérie *S. aureus* qui est elle facilement éliminée par les températures de pasteurisation. Nous considérons que le danger est plus grand, lorsque le lait refoulé par les laiteries se retrouve aux points de ventes artisanaux pour être revendus tels quels ou transformés en lait caillé et en beurre fabriqué de façon artisanale. Sachant que beaucoup de personnes préfèrent la consommation du lait de vache à l'état cru **(Hamiroune *et al.*,2014)** et que les comptages de *S. aureus* au-dessus de $10^3$ augmentent la probabilité de production de toxines staphylococciques résistantes à l'ébullition réalisée dans les foyers lors de l'achat de lait cru, et au processus de pasteurisation **(Tebaldi *et al.*,2008).**

Bien qu'un taux de zéro pour cent de contamination du lait après pasteurisation soit attendu, au cours de notre étude, le lait pasteurisé a montré un taux de contamination de 5,55% (2/36). Ces résultats sont nettement inférieurs à ceux observés par **Freitas *et al.* (2005)** et **De Oliveira *et al.*(2011)** qui ont noté des taux respectifs de 30,5% et 30%. La persistance de *S. aureus* dans le lait pasteurisé est probablement en relation avec la forte charge initiale du lait cru,le mélange de lait de plusieurs provenances, mais surtout le non-respect des températures de pasteurisation favorisant ainsi la cohabitation et l'apparition de souches bactériennes de plus en plus résistantes aux traitements thermiques.

Le risque pour le consommateur devient plus important surtout lors de certaines pratiques frauduleuses où les vendeurs, pour économiser la consommation d'électricité, éteignent les refroidisseurs la nuit laissant le produit exposé aux variations de températures **(De Oliveira *et al.*,2011),** favorisant ainsi la production des toxines staphylococciques **(Chapaval *et al.*,2010)**.

L'étude statistique a montré une différence significative ($P$<0,05) entre la contamination globale de nos échantillons en fonction des saisons. Cette dernière serait plus marquée durant les saisons chaudes à savoir le printemps et l'été avec des taux respectifs de 53,85% et 49,30%. En effet, le nord de l'Algérie est connu pour ses températures élevées pendant cette période favorable au développement bactérien notamment de *S. aureus*. L'étude menée par **Le Mens *et al.*(1999)** sur du lait de vache UHT délibérément contaminé par *S. aureus* a montré un développement significatif de *S. aureus* dans le lait incubé à 22°C et 32°C par rapport à celui incubé à 12°C et18°C. **Chapaval *et al.* (2010)** ont rapporté que la production d'entérotoxines staphylococciques dans le lait est notable lorsqu'il est conservé à des températures comprises entre 37ºC et 42ºC, ou lorsqu'il est exposé à des variations de températures.

Quant au taux de contamination de 28,92 % enregistré en hiver, il est à noter que les épisodes d'élévation des températures (caractéristiques des pays méditerranéens : hiver doux et été chaud) et la cohabitation étroite des animaux en cette saison pourraient majoritairement l'expliquer. **Milojevic *et al.* (1988)** ont corroboré cette hypothèse en montrant une diminution de 27 % des cas de contamination du lait par les staphylocoques dans les troupeaux en stabulation extensive par rapport aux troupeaux en stabulation intensive. Globalement, l'environnement direct de l'animal offrant les conditions idéales d'oxygénation, de température et d'humidité constitue un très bon milieu pour le développement et la persistance de *S. aureus ;* à l'exemple de la litière qui représente une source potentielle de contamination. **Hamiroune *et al.* (2014)**, ont noté un taux de contamination plus élevé en *S. aureus* dans les élevages qui utilisaient une litière 54,10% contre un taux de 45,90% dans les élevages qui n'en utilisaient pas**.**

**Contamination du lait en fonction des laiteries**

Les différences observées entre les laiteries s'expliqueraient par les mauvaises conditions d'hygiène des fermes laitières **Jamali *et al.* (2015)** ou fort probablement par les différences de pratiques de production de chaque laiterie. Cette contamination serait fonction de la capacité de transformation de chaque laiterie, ce qui pourrait avoir des conséquences négatives sur le respect des règles d'hygiène, cela même en présence d'un système de contrôle avéré. Cet état de fait se traduit par un temps de séjour très long du lait dans les citernes avant traitement thermique. Nous avons aussi noté une fréquence de collecte plus élevée pour la laiterie C (étalée sur toute la journée) avec plusieurs allers-retours des collecteurs, tandis que

pour les autres laiteries elles avaient lieu uniquement tôt dans la matinée, ce qui pourrait expliquer le taux de contamination plus élevé dans de cette dernière (59,85%).

L'étude de l'évolution de la contamination au cours du process de fabrication pour chaque laiterie montre en général une diminution des taux de contamination.

Dans la laiterie "A" les taux enregistrés sont de 18,18% ; 10% et 9,09% pour le les lais de citernes, du tank et pasteurisé respectivement. Dans la laiterie "C", les taux enregistrés étaient de 65,25% ; 62,50% et 0% pour ces mêmes types de lait.

La diminution de la contamination observée dans le tank de mélange, pourrait s'expliquer par le fait que le lait prélevé à cet endroit n'était pas homogénéisé, car le prélèvement est effectué à partir du robinet du tank, contrairement au lait de citerne qui a été prélevé après homogénéisation de cette dernière. D'autre part, les laits de bonne qualité microbiologique peuvent jouer le rôle de dilueur pour les citernes fortement contaminées réduisant ainsi l'impact de leur contamination dans du tank. L'absence de contamination dans du lait pasteurisé de cette laiterie nous renseigne sur l'efficacité du procédé de pasteurisation. Dans la laiterie B, une légère évolution à la hausse des taux de contamination est observée entre le lait de citerne et le lait de tank avec des taux respectifs de 43,35% et 50%. Ceci pourrait être due soit à la mauvaise qualité microbiologique des laits des collecteurs qui ont déversés au niveau du tank ou à la contamination de la surface de leur citerne sachant que la plus part de des citernes ne possédaient pas un système de réfrigération, soit à l'absence de désinfection régulière du tank entrainant ainsi la persistance et l'augmentation de la contamination. La persistance alarmante de la contamination des laits pasteurisés dans les laiteries A et B est le témoin d'un traitement thermique défectueux ou d'une charge microbienne initiale trop élevée dans les citernes.

Les résultats de l'étude de l'influence de la saison sur le taux de contamination des laits par *S. aureus* montrent que dans la laiterie B, le taux le plus élevé a été enregistré durant les saisons de printemps (26,92%) et d'hiver (16,87%). Dans la laiterie C, les taux les plus élevés ont été notés durant les saisons d'été (23,94%) et d'automne (20,90%), ceci pourrait s'expliquer par la localisation des centres de collecte, situés loin des laiteries, ce qui aurait pour effet d'augmenter la charge bactérienne des laits. En effet, de longues distances sont parcourues par les collecteurs pour arriver aux laiteries, ces derniers arrivent des wilayas de Médéa, Tipaza, Alger et Blida pour la laiterie B et des wilayas de Tizi-Ouzou et Boumerdès pour laiterie C.

Dans la laiterie C, un autre facteur participerait à cette augmentation de la charge bactérienne durant l'été et l'automne, il s'agit de l'étalement de l'arrivée des laits de collecte durant toute la journée exposant ainsi les laits aux variations de température .

La laiterie A n'a présenté aucune contamination durant les saisons d'automne et d'hiver. Cependant, le taux de contamination le plus élevé qu'elle a enregistré était durant la saison estivale (7,04%).Ceci pourrait s'expliquer d'une part par la prolifération de *S. aureus* lors des périodes de grande chaleurs et à sa capacité à former des biofilms dans les citernes de collecte et dans les tanks de stockage ; et par sa résistance d'autre part au nettoyage probablement insuffisant, sachant qu'il n'y a qu'un seul collecteur qui fournit cette laiterie, la rendant ainsi tributaire de la qualité du lait collecté et de ses pratiques d'hygiène.

Cet état des lieux impacte négativement la qualité des produits, sachant que le lait collecté dans cette laiterie est utilisé pour la fabrication de lait fermenté et que la persistance de *S. aureus* à un pH bas dépend du niveau de contamination initiale, des modalités de préparation et de la température de caillage **(Le Mens *et al.*, 1999).**

L'étude de l'évolution de la contamination des laits par *S. aureus* de chaque laiterie en fonction des saisons nous montre que la contamination de la laiterie A n'a concerné que les saisons chaudes et qu'elle était plus marquée en été (62,50%). Ceci peut être encore une fois être expliqué par un nettoyage insuffisant de la citerne laissant ainsi des résidus de lait sur sa paroi, sachant que la citerne du seul collecteur affilié à cette laiterie, n'est pas dotée d'un système de refroidissement, et qu'il vient de la région de Tizi-Ouzou, zone réputée pour ces températures très élevées en été. Les laiteries B et C montrent un taux de contamination plus élevé durant le printemps (50,60% et 67,21% respectivement), ceci pourrait s'expliquer par la charge du lait de collecte plus importante, vu la disponibilité fourragère durant cette saison, conduisant les collecteurs non dotés d'un système de réfrigération, à attendre leur tour au niveau des laiteries, les exposant ainsi aux températures ambiantes durant de longues heures. Ce taux diminue durant la saison estivale car le nombre de collecteurs a lui aussi nettement diminué durant cette saison ce qui étaye l'hypothèse que le délai d'attente des collecteurs au niveau des laiteries est un facteur favorisant l'augmentation de la charge bactérienne de contamination du lait.

# Résultats 2 :

## Dénombrement des SCP

# RESULTATS 2 : Dénombrement des SCP

## 1 Taux de contamination par les SCP

### 1.1 Taux de contamination globale en SCP des différents lots

L'analyse de variance (ANOVA) des résultats obtenus des taux de contamination par lot a révélé une différence significative ($P < 0,05$) entre les lots dans les trois laiteries.

La comparaison deux-par-deux entre les moyennes des taux de contamination des lots par le test de *Student* n'a montré aucune différence significative entre les lots, excepté le lot 1(1ère visite) qui a montré une différence significative avec la plupart des autres lots avec une moyenne de 1,86±2 $10^4$UFC/ml .

la charge bactérienne moyenne en *S. aureus* des autres lots (lot 2 - lot 11) peut être considérée comme étant la même durant toute notre étude avec quelques fluctuations autour d'une moyenne globale de 1,74 ±1,5510$^2$UFC/ml avec un minimum enregistré dans le lot 3 1,23 ±1,6910$^2$UFC/ml et un maximum enregistré dans le lot 8 (2,24 ±1,7810$^3$UFC/ml) **(figure 27)** .

Notons que la laiterie A n'a pas contribué à la contamination du premier lot, puisqu'elle n'a présenté aucune contamination à *S. aureus* et que la plus grande contamination a été enregistrée dans la laiterie B (3,89 ±21,88 $10^4$UFC/ml) devant la laiterie C (6 ,67 ±30,90 $10^3$UFC/ml) **(figure 28)**.

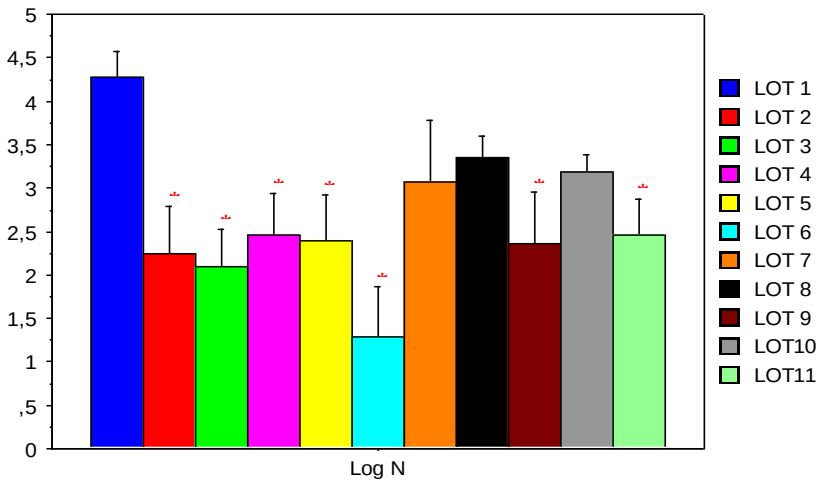


**Figure 27** : taux de SCP en fonction des lots.

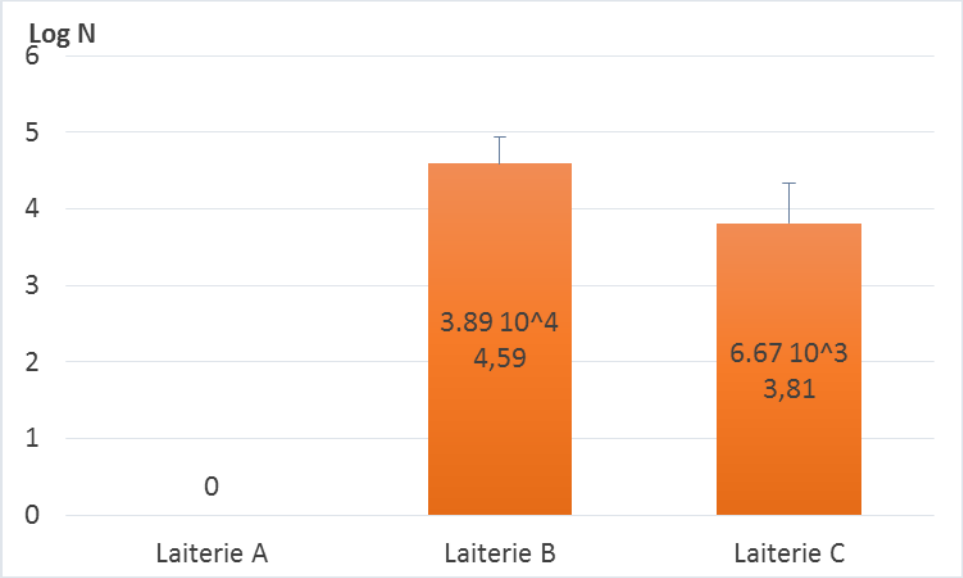


**Figure 28 :** Taux de SCP du lot1.

### 1.1.1 Taux de contamination en SCP par visite et par laiteries

La figure ci-dessous montre des schémas de distribution de la contamination très différents entre les trois laiteries. Dans la laiterie A, la contamination par *S. aureus* n'a été observée que durant les 3ème, 4ème et 5ème visites seulement. Pour la laiterie B nous remarquons une réduction continue de la contamination depuis la 1ère visite jusqu'à atteindre un taux zéro de contamination lors de la 8ème visite, puis on note une recrudescence fulgurante lors de la 9-10 et 11ème visite. Contrairement aux deux précédentes laiteries, la contamination dans la laiterie C semble ne pas suivre un schéma particulier. Au cours des visites, la contamination fluctuait entre forte et moyenne charge sans présenter une contamination nulle **(figure 29)**.

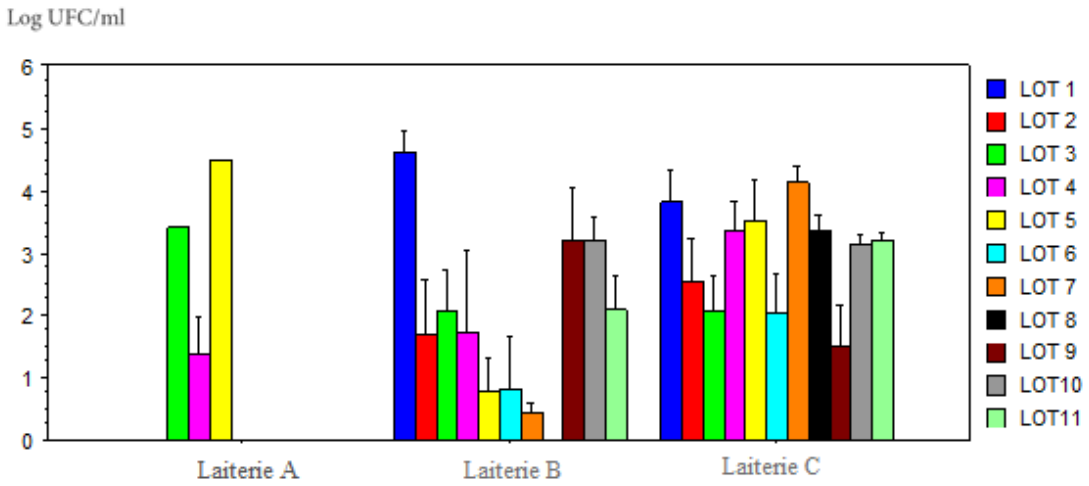


**Figure 29** : taux de contamination en *SCP* en fonction des lots pour chaque laiterie.

## 1.2 Appréciation qualitative des échantillons testés

Dans cette étude 24% des échantillons de lait cru étaient de qualité non satisfaisante (>$10^3$ UFC/ml), 4% étaient acceptables (<$10^2$ UFC/ml) et 72% était de qualité satisfaisante **(Figure 30)**.

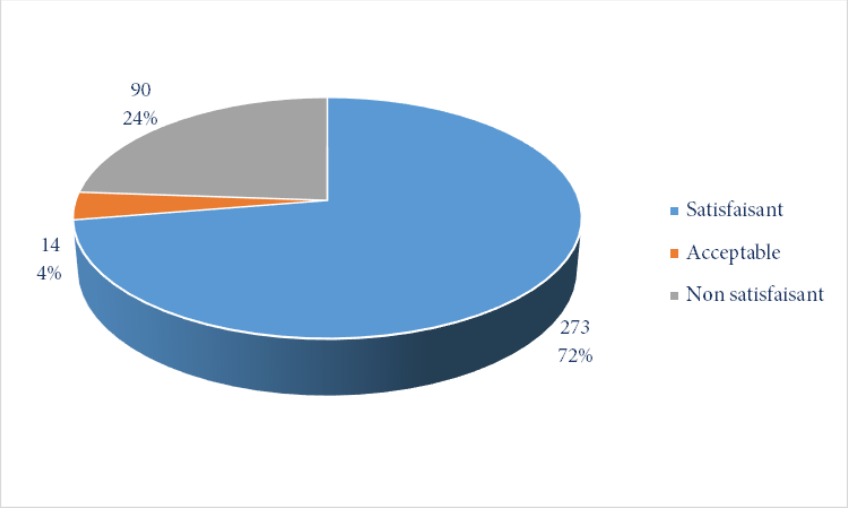


**Figure 30 :** Appréciation qualitative des échantillons testés.

# 2 Taux de contamination en SCP en fonction d'un seul facteur de variation

## 2.1 Etude de l'influence du site de prélèvement sur le taux de contamination par les SCP et sur la qualité du lait

### *2.1.1 Effet du site de prélèvement sur le taux de contamination par les* SCP

Les résultats de dénombrements des SCP dans les échantillons de lait de citerne, de tank, et de lait pasteurisé n'a révélé aucune différence significative *(P*>0,05) enregistrant des moyennes de contamination respectives de 2 ,88 1,55 $10^2$± UFC/ml, 5,01 ±3,8010$^2$ UFC/ml, 2,82±1,5510$^2$ UFC/ml soit, la moyenne la plus élevée est celle du lait de tank **(figure 31)**.

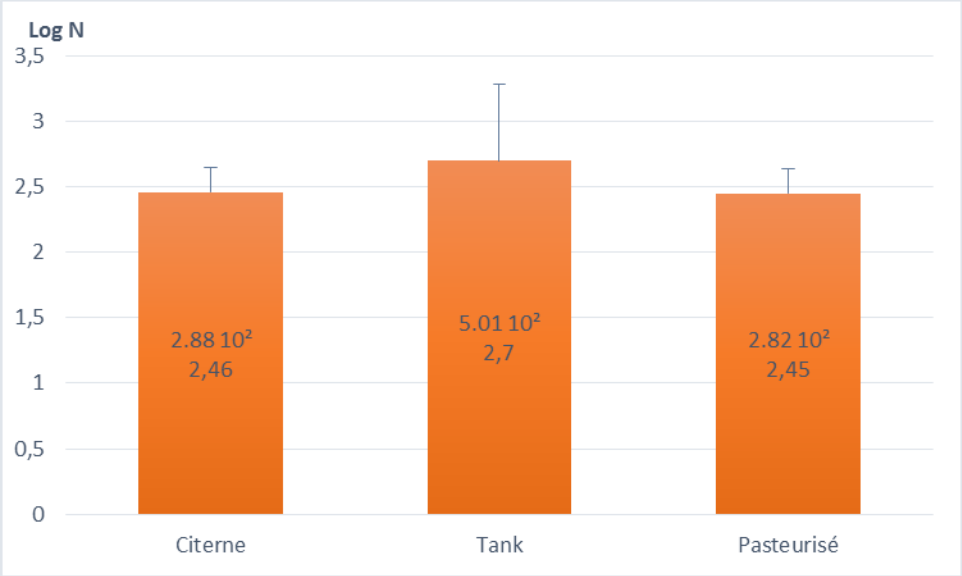


**Figure 31** : Taux SCP en fonction du site de prélèvement.

### *2.1.2 Effet du site de prélèvement sur la qualité du lait*

Sur les 313 échantillons de lait de citerne testés, 84 (26,84%) étaient supérieurs à la norme et classés comme non satisfaisants, 10 (3,19%) étaient acceptables et 69,97%(219/313) de qualité satisfaisante. Le lait de tank était représenté par 21,43% (6/28) d'échantillons de qualité non satisfaisante, 7,14% (2/28) acceptables et 71,43% (20 /28) étaient satisfaisants. Pour le lait pasteurisé aucun échantillon n'était de qualité non satisfaisante, 5,56% (2/36) acceptables et 94,44% (34/36) satisfaisants **(figure 32).** La différence entre la qualité des trois sites de prélèvement était significative (*P<0,05)*

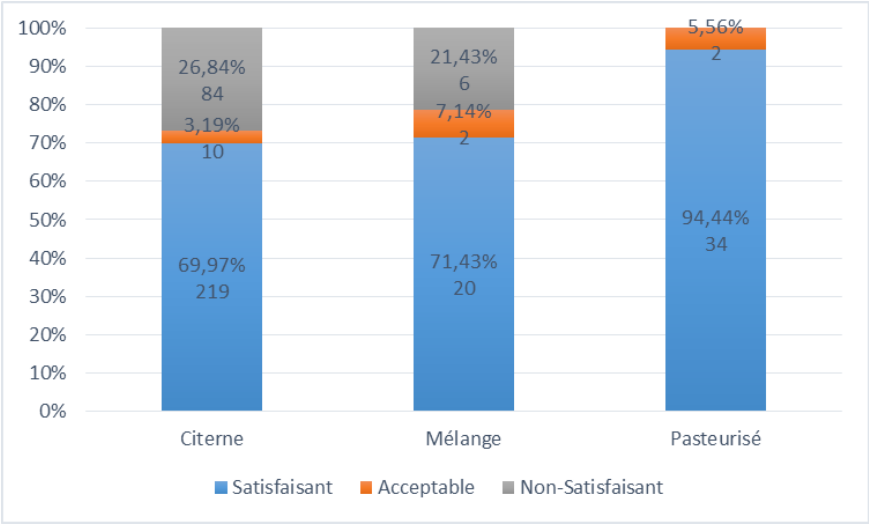


**Figure 32:** Effet du site de prélèvement sur la qualité du lait

## 2.2 Etude de l'influence des saisons sur le taux de contamination par les SCP et sur la qualité du lait

### 2.2.1 Effet des saison sur le taux de contamination par les SCP

A l'étude de la contamination par saison nous remarquons que les saisons du printemps et de l'hiver présentent la charge microbienne la plus élevée avec une même moyenne de 4,27±1,9110$^2$ UFC/ml vient ensuite l'été avec une moyenne de 2,69±2,2410$^2$UFC/ml et enfin l'automne présente la moyenne la moins élevée 7,94± 2,82 10 UFC/ml **(figure 33)**. Aucune différence significative n'a était notée.

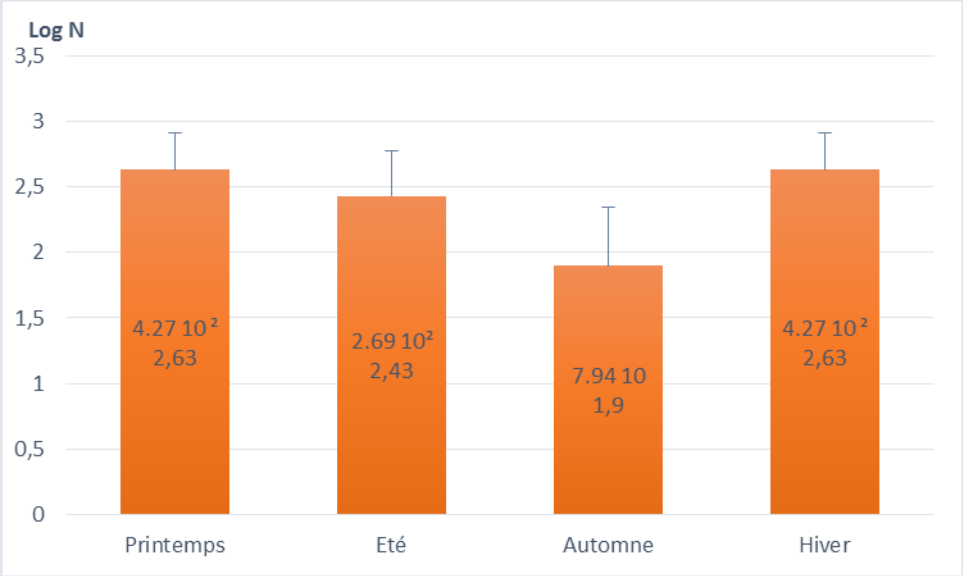


**Figure 33 :** taux de SCP en fonction des saisons.

### *2.2.2 Effet des saisons sur la qualité du lait*

A l'étude par saison,le taux d'échantillons non satisfaisant le plus élevé a été retrouvé au printemps(31,41%) suivi par l'été (22,54%) en suite l'automne (17,91% ) et enfin l'hiver (15,66%).Pour les échantillons acceptables c'est l'hiver qui présentait le taux le plus élevé(6,02 %),suivie par l'été (04 ,23%),ensuite l'automne et le printemps avec les taux réspectifs de 2,99%, 2,56 % **(figure 34)**. L'application du test Khi² n'a montré aucune différence significative

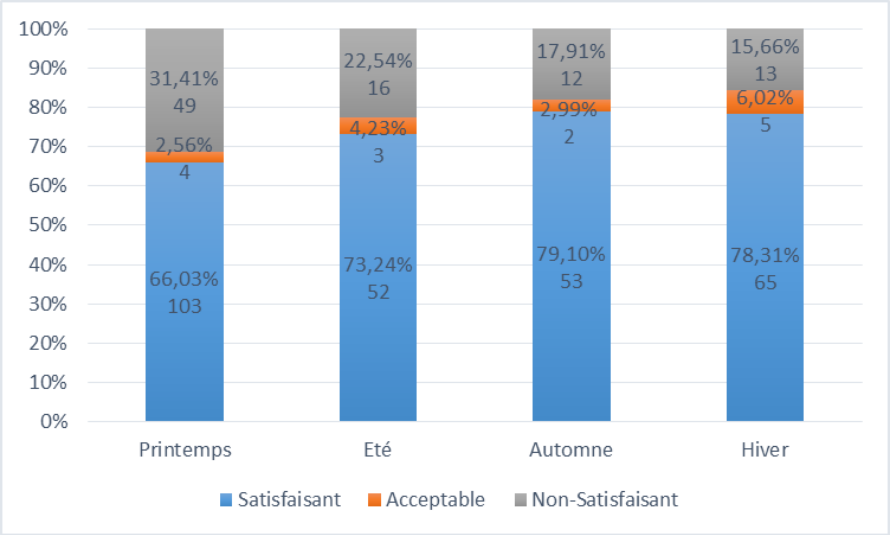


**Figure 34 :** Effet des saisons sur la qualité du lait

## 2.3 Etude de l'influence des laiteries sur le taux de contamination par SCP et sur la qualité du lait

### *2.3.1 Effet des laiteries sur le taux de contamination*

Aucune différence significative ($P$>0,05) n'a été observée à la comparaison entre la contamination des trois laiteries étudiées. La moyenne de contamination la plus élevée a été observée au niveau de la laiterie C (6,46 ±1,6610$^2$ UFC/ml) suivit de la laiterie A (1,70±4,6810$^2$ UFC/ml)) et ensuite de la laiterie B (1,41±1 ,9510$^2$ UFC/ml) **(figure 35)**.

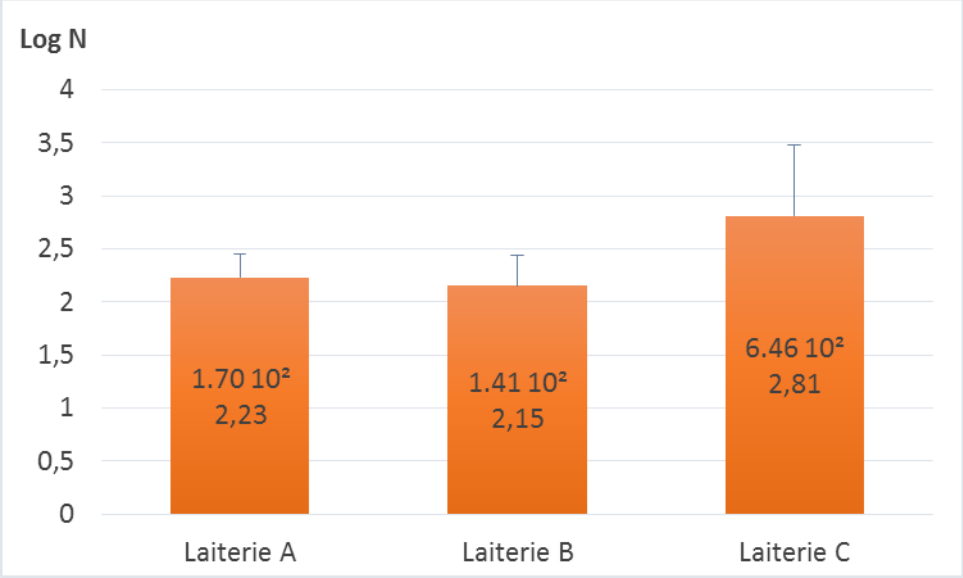


**Figure 35 :** *Taux de* SCP *en fonction des laiteries*

### *2.3.2 Effet des laiteries sur la qualité du lait*

Concernant la qualité du lait en fonction des laiteries ,c'est la laiterie C (N=126) qui présente le plus grand nombre d'échantillons non satisfaisants 48/137 soit 35,04 %,suivie par la laiterie B(N=197)avec un nombre de 40 échantillon (20,30%) et en dernier la laiterie A avec un nombre de 2/43 échantillons non satisfaisants soit 4,65%.Le test de khi² a révélé une différence très significative entre les laiteries ($P$<0.05).Concernant les échantillons acceptables, le même ordre de classement des laiteries est maintenu, à savoir : la laiterie C (N= 137),la laiterie B(N=197)et la laiterie A(N=43) avec les taux respectifs de 5 ,11%, 2,54%, 4,65% **(figure 36)**.

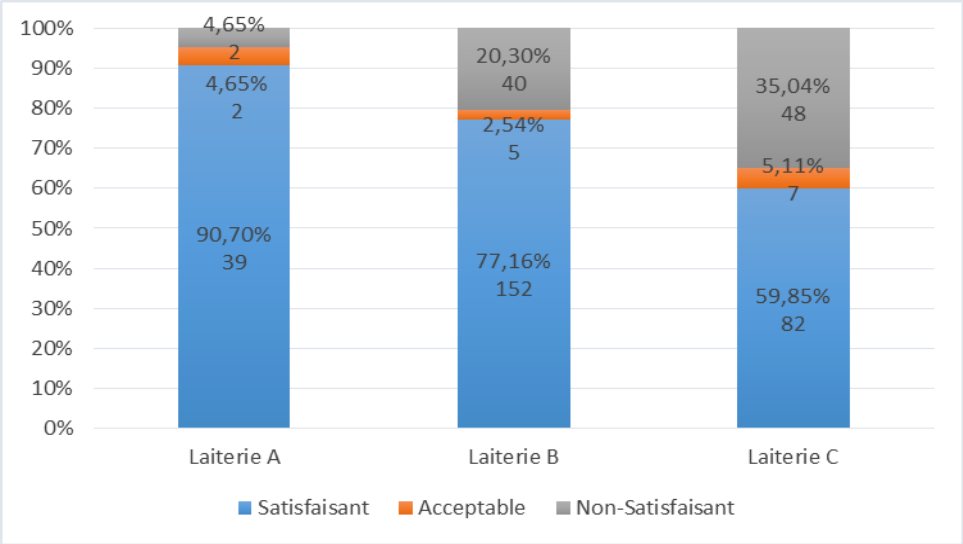


**Figure 36 :** *Effet des laiteries sur la qualité du lait*

## 3 Taux de contamination en SCP en fonction de deux facteurs de variation

### 3.1 Etude de l'influence des laiteries et du site de prélèvement sur le taux de contamination par les SCP et sur la qualité du lait

#### 3.1.1 Effet des laiteries et du site de prélèvement sur le taux de contamination par SCP

La comparaison entre la contamination en *S. aureus* des 3 laiteries en fonction du site de prélèvement n'a révélé aucune différence significative ($P$>0,05). Cependant, la moyenne la plus élevée est retrouvée au niveau de la laiterie C pour le lait de citerne suivit de la laiterie A et ensuite de la laiterie B avec les moyennes respectives de : 6,17±1,70 $10^2$ UFC/ml ,1,51±11,4810$^2$UFC/ml ,1,35±2,0410$^2$UFC/ml .Pour le lait de tank, c'est toujours la laiterie C qui est en tête vient ensuite la laiterie B suivit de la laiterie A avec les taux respectifs de :1,23±9,33 $10^3$ UFC/ml, 2,88±11,75 $10^2$ UFC/ml,$10^2$ UFC/ml La contamination du lait pasteurisé est marquée par son absence au niveau de laiterie C, par contre la moyenne la plus

haute a été enregistrée au niveau de la laiterie A avec un taux de contamination de 4,3710$^2$UFC/ml suivit de la laiterie B avec un taux de 1,82 10$^2$ UFC/ml **(figure 37)**.

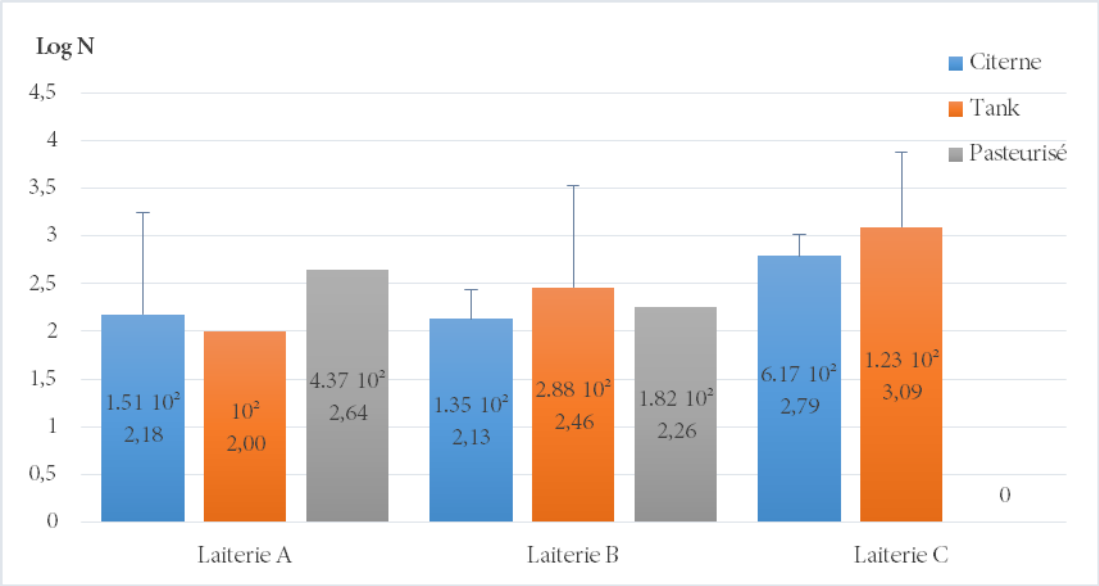


**Figure 37 :** taux de SCP en fonction du site de prélèvement selon les laiteries

### 3.1.2 Effet des laiteries et du site de prélèvement sur la qualité du lait

L'étude de la contamination par les SCP par laiterie et par site de prélèvement a montré que pour la laiterie A (N=43), seul le lait de citerne (N=22) a présenté des échantillons non satisfaisants avec un taux de 9,09% (2/22), il n'a par contre présenté aucun échantillon acceptable contrairement au lait de tank (N=10) qui a montré un taux de 10% (1/10) presque similaire à celui du lait pasteurisé 9,09% (1/11). Pour la laiterie B (N=197), le taux d'échantillons non satisfaisants est presque similaire pour le lait de citerne (N=173) et le lait de tank (N=10) : 21,97% (38/173) et 20% (2/10) respectivement. Concernant les échantillons acceptables le taux le plus élevé a été observé au niveau du tank 10% (1/10) suivi par le lait pasteurisé (1/14) et le lait de citerne (3/173) avec les taux de 7,14% et 1,73 respectivement. En dernier lieu, au niveau de la laiterie C (N=137) le lait de tank (N=8) a montré plus d'échantillons non satisfaisants soit 50% (4/8) par rapport au lait de citerne (37,29%), le lait pasteurisé n'a montré aucun échantillon non satisfaisant. Seul le lait de citerne (N=118) a présenté des échantillons de qualité acceptable avec un taux de 5 ,93% (7/118) **(figure 38)**.

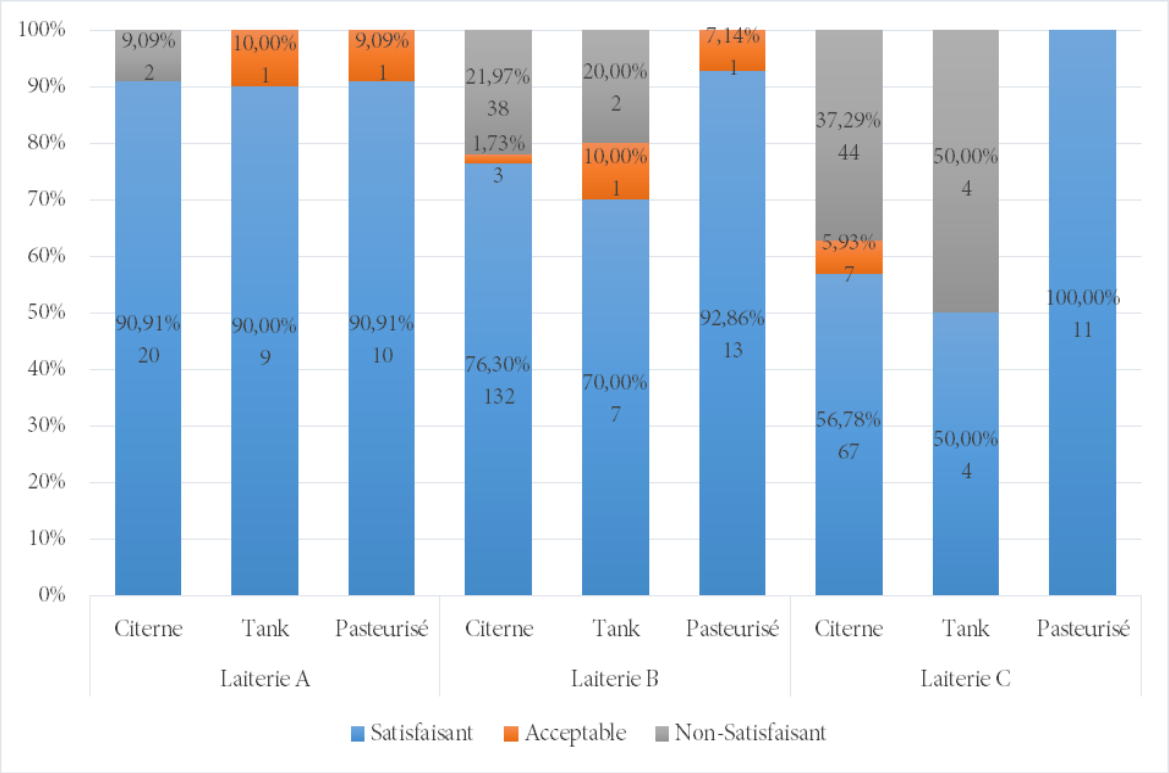


**Figure 38 :** *Effet des laiteries et du site de prélèvement sur la qualité du lait*

## 3.2 Etude de l'influence des laiteries et des saisons sur le taux de contamination par SCP et sur la qualité du lait

### 3.2.1 Effet des laiteries et des saison sur le taux de contamination par SCP

La contamination en fonction des laiteries et des saisons a montré que : (i) pour le printemps c'est la laiterie A qui a pris les devants avec une moyenne de contamination de 2, 52 $10^3$UFC/ml suivit de la laiterie B 4,68±2,75 $10^2$UFC/ml vient ensuite la laiterie C 3,63±2,34 $10^2$UFC/ml .Aucune différence significative n'a été enregistrée pour cette saison ($P$>0,05). (ii) pour l'été c'est la laiterie C qui présentait la charge la plus élevée 2,75±2,34 $10^3$ UFC/ml, suivit de la laiterie A 9,77±5,8910 UFC/ml et puis de la laiterie B 1,51±4,07 10 UFC/ml .Il est à noter que la différence entre la laiterie C et la laiterie B était très significative ($P$< 0,05). (iii) concernant les résultats obtenus à l'automne, la laiterie A ne présentait aucune contaminations alors que la différence de contamination était significative entre la laiterie C et B avec une charge plus élevée au niveau de la laiterie C 9,33±2,5710$^2$ UFC/ml et plus basse pour la laiterie B 5,75±5,25 10 UFC/ml. (iv) pour l'hiver la laiterie A encore une fois marque son absence tandis que la valeur la plus élevée était enregistrée au niveau de la laiterie B 5,25±2,29 $10^2$UFC/ml; vient ensuite la laiterie C avec une moyenne de 3,24±2,29 $10^2$ UFC/ml. Aucune différence significative n'était observée entre ces deux dernières ($P$>0,05).

Concernant l'évolution de la contamination de chaque laiterie au fil des saisons, la laiterie A semble n'être contaminée que durant le printemps et l'été avec les charges respectives de : 2,52 $10^3$UFC/ml ; 9,77±5,8910 UFC/ml. Pour la laiterie B, une différence de contamination significative ($P< 0,05$) était observée à la comparaison entre la saison du printemps et de l'automne avec les charges respectives de : 4,68 ±2,7510$^2$UFC/ml; 5,75±5,25 10 UFC/ml et entre l'été et l'hiver avec les charges respectives de : 1,51±4,07 10 UFC/ml ; 5,25±2,29 $10^2$UFC/ml. Et enfin entre l'automne et l'hiver avec les charges respectives de : 5,75±5,25 10 UFC/ml ; 5,25±2,2910$^2$UFC/ml. La contamination de la laiterie C ne présente aucune différence significative entre les saisons ($P>0,05$). Toutefois, il semble que l'été est la saison la plus contaminée avec une charge de 2,75±2,34 $10^3$UFC/ml suivit de l'automne 9,33±2,57 $10^2$UFC/ml et en suite le printemps puis l'hiver avec les moyennes de 3,63±2,3410$^2$ UFC/ml ; 3,24±2,29 $10^2$ UFC/ml respectivement **(figure 39)**.

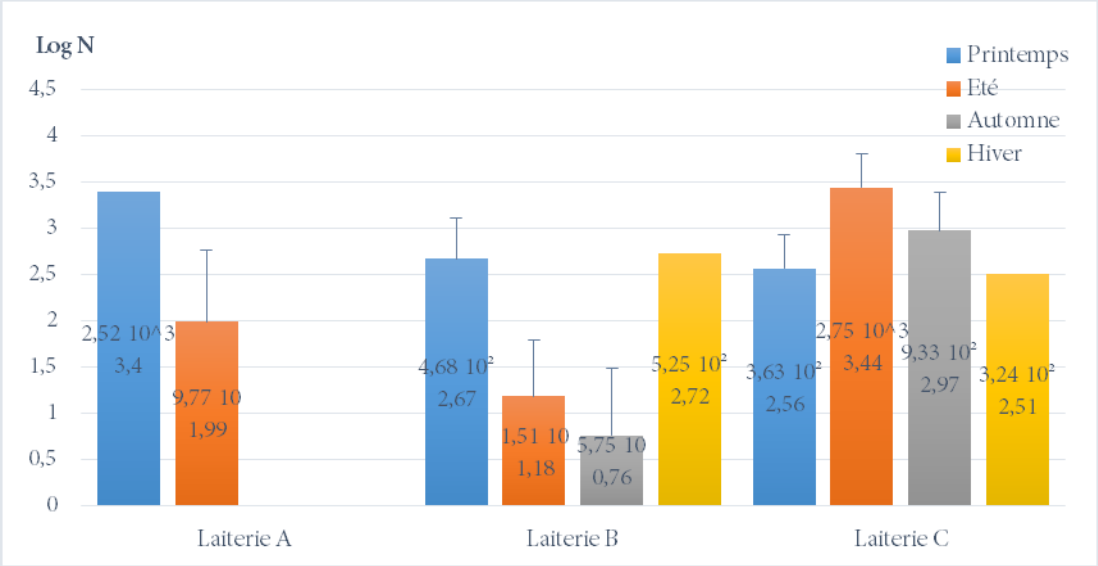


**Figure 39 :** taux de contamination en SCP des laiteries en fonction des saisons.

### 3.2.2 Effet des laiteries et des saisons sur la qualité du lait

Le nombre d'échantillons non satisfaisants était variable d'une laiterie à une autre et pour chaque saison. La figure 40 montre que pour la laiterie A (N=43), il y avait 8,33% (1/12) d'échantillons non satisfaisants au printemps, 12,50% (1/8) pour l'été et aucun échantillon non satisfaisant pour l'automne et l'hiver. Pour les échantillons acceptables, le printemps n'a présenté aucun cas. L'été par contre a présenté 25%(2/8) d'échantillons acceptables, l'automne et l'hiver n'ont montré aucun échantillon de qualité acceptable. Pour la laiterie B(N=197) le printemps a montré le taux d'échantillons non satisfaisant le plus élevé 31,32% (26/83) suivi par l'hiver 17,02 % (8/47) ,ensuite l'automne 9,09% (3/33) et enfin l'été 8,82% (3/34). Les taux le plus élevé pour le lait de qualité acceptable a été observé en hiver (6,38%) suivi par le printemps (7,69%). L'été et l'automne n'ont présenté aucun échantillon acceptable. Pour la laiterie C (N=137), l'automne et l'été ont montré un taux d'échantillons non satisfaisants presque similaire : 39,13% (9/23) et 41,38% (12/29) respectivement, suivi par le printemps 36,07% ( 22/61) et en dernier lieu, l'hiver avec un taux 20,83% (5/24). Le taux d'échantillons acceptable le plus élevé a été observé au automne 08,70 % (2/23) suivi par l'hiver 8,33% (2/24), ensuite l'été 3,45%( 1/29) et enfin le printemps 3,28%(2/61) **(figure 40).**

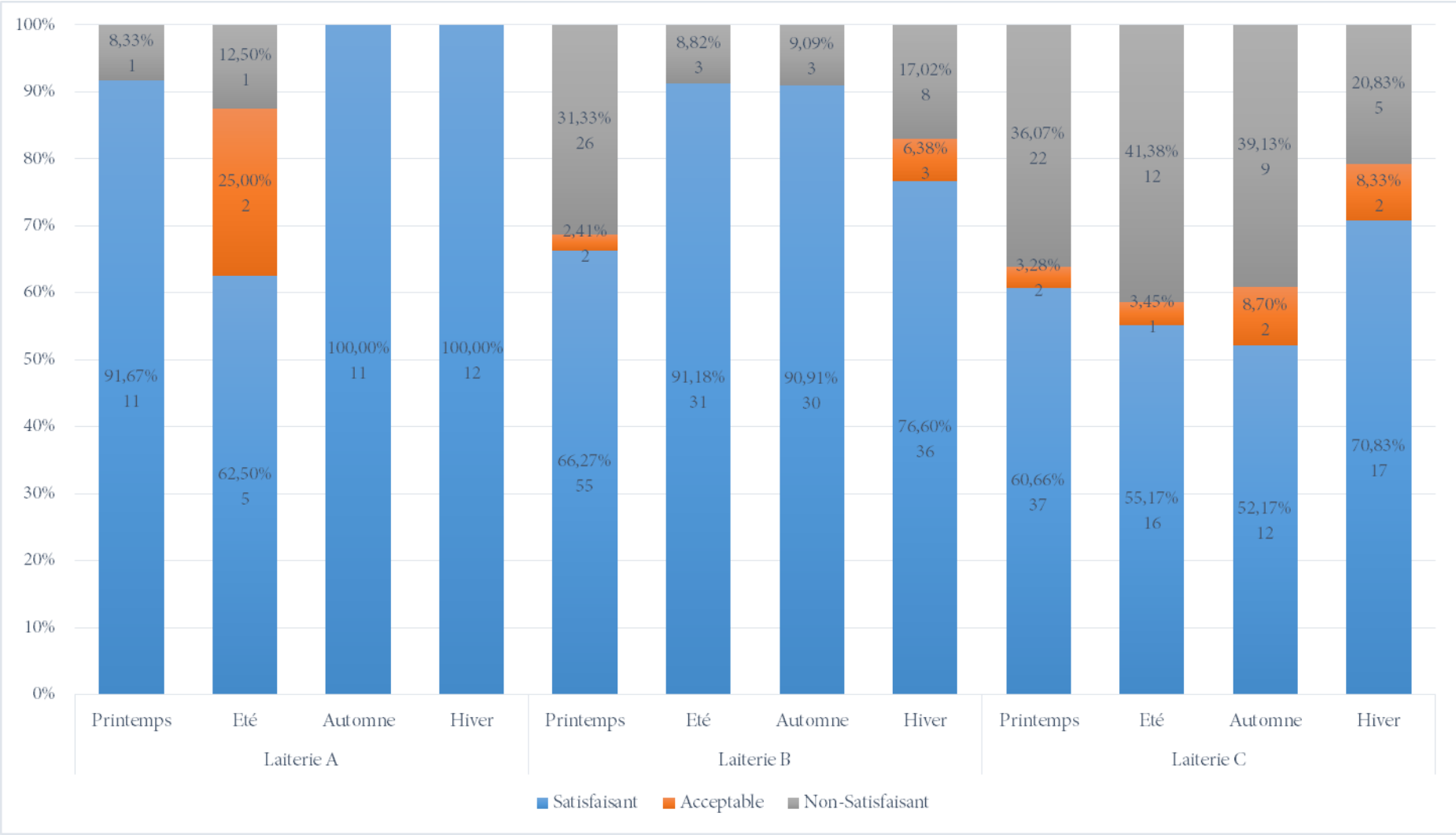


**Figure 40 :** Effet des laiteries et des saisons sur la qualité du lait

# Discussion 2 : Dénombrement des SCP

Concernant l'étude de l'évolution de la contamination en fonction des sorties effectuées durant notre étude, une différence significative notable a été observée entre la sortie numéro 1 de toutes les laiteries avec une charge moyenne de1, 86 ±2 $10^4$ UFC/ml et le reste des sorties qui ont présenté une moyenne de charge en SCP de 1,74 ±1,55 $10^2$UFC/ml. Il est à noter que les laiteries B et C étaient impliquées dans cette différence. Cela pourrait être expliqué par des mesures d'hygiène prises soit par les collecteurs (ou éleveurs) soit au niveau des laiteries après notre passage. Elle pourrait aussi être due aux imperfections des gestes techniques de l'opérateur et de la difficulté de créer des automatismes de prélèvements afin d'assurer une asepsie correcte au-dessus des camions citernes des collecteurs. Surtout lorsque l'opérateur travaille seul (désinfection et prélèvement).

A l'étude de la contamination de nos échantillons au cours de nos 11 sorties pour chaque laiteries, nous avons remarqué que la laiterie A n'a montré de contamination qu'à la 3-4-5$^{ème}$visite ce qui est concomitant avec le début des fortes températures (fin du printemps, été) favorables au développement et à la multiplication de beaucoup de bactéries notamment *S.aureus*. En effet, *S.aureus* est une bactérie capable de se développer à des températures très variables allant de 10 à 42°C avec une température optimum de 37°C **(Le Loir, 2003).** Températures largement atteintes dans notre pays durant la saison estivale.

L'évolution de la contamination au niveau des laiteries B et C peut s'expliquer par la fluctuation des mesures d'hygiènes au niveau des élevages, des citernes de collecte ou même au niveau des laiteries elles-mêmes. Effectivement, au cours de notre étude nous avons remarqué que le lait de certains collecteurs était régulièrement plus contaminé que celui des autres. Ce qui témoigne du non-respect de l'hygiène au niveau des élevages ou lors de la traite par les machines à traire ou les mains des trayeurs **(Bonfoh, 2003).**Cet état des lieux pourrait nous renseigner sur la gestion des laiteries quant à la contamination aux *S. aureus.* En effet, l'absence d'analyses microbiologiques du lait de citerne et même du lait pasteurisé pour certaines laiteries est le reflet d'une maitrise insuffisante parfois même absente du système HACCP.

Le dénombrement de SCP a montré un taux de contamination plus important au niveau du lait de tank par rapport aux autres laits, néanmoins aucune différence significative n'a été observée. Par manque de recherches s'intéressant aux laits de tanks des laiteries et afin de pouvoir comparer nos résultats, nous nous sommes intéressés aux auteurs ayant effectué leurs prélèvement à partir des tanks de stockages situés au niveau des élevages. La charge moyenne retrouvée au niveau du lait de tank (5,01 $10^2$ UFC/ml) était légèrement supérieure à celle retrouvée dans le lait prélevé à partir des tanks de stockage de différents élevages situés dans la région de Tiaret par **Ghazi *et al.* (2011)** (2 $10^2$UFC/ml).Par contre, elle était légèrement inférieure à celle retrouvée dans le lait de tank d'une laiterie située à l'ouest algérien par **Aggad *et al.* (2009)** avec une charge moyenne de35.$10^2$UFC/ml et celle retrouvée par **Bachtarzi *et al.* (2015)**dans le tank d'une laiterie située dans la région de Constantine avec une charge de 37,5.$10^2$UFC/ml. Nos résultats sont aussi légèrement inférieurs à ceux de **Baazize-Ammi *et al*. (2019)** dans la région centre d'Algérie avec une moyenne de contamination de 8,7±0,9 $10^2$UFC/ml. Cette contamination était nettement inférieure aux valeurs observées par **Ouazzani *et al.* (2014)** dans la région du Gharb au Maroc avec un taux de 2,15 $10^4$UFC/ml. **Hamiroune *et al.* (2016)** ont aussi retrouvé une contamination supérieure à la nôtre dans la région de Blida et de Jijel avec une charge moyenne de **2,6 $10^4$** UFC/ml. Nos résultats sont aussi inférieurs à ceux retrouvé au Kenya au niveau des tanks de stockage des laiteries par **kouamé-Sina *et al*. (2010)** en côte d'Ivoire avec un taux **7**,1 $10^3$ UFC/ml.

La contamination plus élevé du lait de tank peut s'expliquer par l'effet additif de certains laits de mauvaise qualité. En effet, *S. aureus* est présente dans 90% des fermes laitières **(Kadja, 2010).** Cette bactérie est aussi dotée d'une capacité à former des biofilms lui permettant de survivre et de résister aux désinfectants **(Tremblay *et al*.,2014)** sachant que les tanks ne sont nettoyés et désinfectés qu'après le passage du dernier collecteur permettant ainsi à la bactérie de mieux adhérer à la paroi du tank.

La contamination de la mamelle ainsi que le non-respect des mesures d'hygiène au niveau des étables et au moment de la traite contribuent à la contamination du lait des citernes des collecteurs qui était de l'ordre de 2,88 $10^2$ UFC/ml (2,46 $Log_{10}$ UFC/ml).En effet, la contamination bactérienne du lait cru dépend non seulement de l'hygiène de la traite, mais aussi de la température de stockage et du temps s'écoulant entre la traite et la collecte **(O'connell *et al.*, 2016; Knight-Jones *et al.*, 2016).** La grande dispersion des élevages laitiers ainsi que l'absence de moyens de réfrigération au niveau des camions citernes

contribuent à la multiplication bactérienne se traduisent par la non-conformité microbiologique du lait **(Boumghar, 2000).** La contamination pourrait aussi provenir de l'ouverture répétée du « Trou d'homme » (ouverture située dans la partie supérieure de la citerne de collecte) que ce soit pour nos prélèvements ou pour les prélèvements de routine destinés aux analyses physicochimiques de l'usine.

Nos résultats sont inférieurs à ceux observés par **Shamila-Syuhada *et al.* (2016)** en Malaisie avec une contamination variant de 2,88 à 3.41 $Log_{10}$ UFC/ml et supérieure à ceux de **Kaouche *et al.* (2014)** avec une charge moyenne de 7,2 $10^1$ UFC/ml. Bien que le nombre d'échantillons de lait pasteurisé contaminé par *S.aureus* soit réduit (2/36), le taux de contamination en SCP reste élevée (2,82 $10^2$ UFC/ml).Nos résultats sont inférieurs à ceux observés par de **Oliveira *et al.* (2011)** au Brésil qui ont retrouvé un taux de 3,510³UFC/ml. Ils sont légèrement supérieurs à ceux retrouvés par **Aggad *et al.* (2009)** avec un taux de 2,18 $10^2$UFC/ml. La persistance de la bactérie dans le lait pasteurisé représente un réel danger pour le consommateur car cette dernière à la capacité de produire des entérotoxines responsables de toxi-infections alimentaires dont la sévérité dépend du statut sanitaire des individus.

L'absence de différences significatives entre la charge bactérienne du lait cru et du lait pasteurisé est le témoin d'un processus de pasteurisation défaillant (non-respect du couple température/temps) et/ou de la formation d'un biofilm résistant à la température. En effet, **Montanari *et al.* (2015)** ont déclaré que le mécanisme de formation de biofilms par *S.aureus* au moment du traitement thermique ou juste avant la rendait très résistante aux températures élevées.

A l'appréciation qualitative de nos échantillons, les taux les plus élevés d'échantillons dépassant le seuil fixé par la norme ($10^3$ UFC/ml) étaient ceux du lait de citernes (26,84%). Le même constat de contamination a été relevé lors de notre étude de la prévalence de S.aureus. En effet, un dénombrement élevé en SCP peut être à l'origine de toxi-infections alimentaires qui peuvent provenir de la mamelle lors de mammites et/ou du matériel de traite souillé. Selon l'anses(2011) dans les produits alimentaire S.aureus représente la majorité des SCP **(ANSES., 2011)**. Malencontreusement, la réglementation ne prévoit pas la recherche de SCP dans le lait pasteurisé car ce dernier ne devrait pas y être.

Concernant l'effet de la saison sur la charge bactérienne du lait, l'absence de différence significative montre qu'il n'y avait aucun effet saison sur la charge en SCP de nos échantillons durant l'année de notre étude. Néanmoins, nous avons remarqué que l'hiver et

le printemps présentaient une même charge de contamination légèrement plus élevée que celle de l'été (4,27 $10^2$ UFC/ml). Ces résultats sont différents de ceux observés par **Mennane *et al* (2007)** au Maroc avec une charge moyenne de 3,8 $10^5$UFC/ml pour l'hiver et aucune contamination pour le printemps. Notre recherche a montré une charge moyenne de contamination pour l'été et l'automne de 2,69 $10^2$UFC/ml, 7,94 10UFC/ml respectivement ce qui est nettement inférieur aux résultats observés par **Mennane *et al.* (2007)** ayant enregistré une charge bactérienne moyenne de 2,5 $10^4$ UFC/ml et 2,26 $10^6$ UFC/ml.

Les niveaux de contamination plus élevés durant le printemps et l'hiver peuvent être expliqués par le pic de mammites à *Staphylococcus aureus* et *E. coli* durant le printemps (**Schukken *et al.*, 1988).** Généralement, c'est les jeunes femelles, plus sensibles aux conditions de traite, qui sont mises en causes dans ce pic **(De Cremoux *et al.*, 2008)**. Les mamelles, plus souvent lésées et souillées durant l'hiver (promiscuité) sont propices aux infections **(Tillard E, 2001).**

La comparaison avec la réglementation a montré qu'il n y avait pas de différence significative entre les saisons et que c'est le printemps qui a présenté le plus grand taux d'échantillons non satisfaisants ce qui concorde parfaitement avec la prévalence de S.aureus en fonction des saisons. Ceci est probablement dû aux températures ressenties à cette saison. Le plus souvent, en Algérie, le printemps est réputé comme étant aussi chaud que l'été ce qui favoriserait le développement et la multiplication des bactéries notamment les SCP.

Contrairement à l'étude de la prévalence, la comparaison par laiteries n'a montré aucune différence significative entre le niveau de contamination des trois laiteries étudiées. La laiterie C a montré aussi bien une prévalence qu'une charge bactérienne plus élevée par rapport aux autres laiteries. Cela pourrait encore une fois être expliqué par la fréquence de collecte de cette laiterie (toute la journée) et le long séjour du lait à des températures ambiantes propices à la multiplication des SCP ainsi qu'à la libération des entérotoxines staphylococciques. Sachant que la majorité des collecteurs ne possèdent pas de citernes munies d'un système de refroidissement et qu'il fallait attendre les résultats des analyses physicochimiques pour pouvoir déverser leur lait dans le tank. Étonnamment, malgré la faible prévalence en *S.aureus* de la laiterie A (13,95%), elle présentait une charge microbienne similaire aux autres laiteries. Notant que cette laiterie n'est desservie que par un seul collecteur dont l'état d'hygiène conditionne la qualité du lait, ce qui laisse penser que la contamination proviendrait soit des fermes des quelles il est approvisionné soit de la

citerne elle-même. Cette dernière est uniquement rincée sans l'utilisation d'aucun produit désinfectant.

Concernant la contamination par laiterie selon le site de prélèvement, la différence n'était pas significative pour les trois types de laits. Néanmoins, nous avons noté l'absence de contamination du lait pasteurisé de la laiterie C tandis que celui de la laiterie A présentait la charge microbienne la plus élevée. Ce qui laisse penser que la charge initiale du lait en SCP était très élevée et/ou que le processus de pasteurisation au niveau des laiteries A et B était défaillant sachant que la laiterie A utilisait le lait de collecte pour la fabrication de leben et que des épidémies staphylococciques ont été associés à une acidification insuffisante et lente du caillé **(Le Loir etGautier, 2010).**

L'étude de la contamination des laiteries par saison n'a montré aucune différence significative pour le printemps. Néanmoins, c'est la laiterie A qui occupait la première place du point de vu charge bactérienne alors qu'elle occupait la dernière place à la prévalence. Ce qui est relativement inquiétant car la faible prévalence de contamination par *S.aureus* de cette laiterie laisserait penser que les règles d'hygiènes sont respectées alors que la charge microbienne montre le contraire.

Pour l'été une différence significative a été notée entre la charge bactérienne de la laiterie C, qui était la plus contaminée, et la laiterie B, qui était la moins contaminée. Aucune différence n'a été observée entre les laiteries A et C ce qui laisse remarquer que malgré le fait que la laiterie A ne soit desservie que par un seul collecteur dont le lait est rapidement déversé dans le tank, cette laiterie est aussi contaminée que la laiterie C qui elle était desservie par plusieurs collecteurs qui attendaient leurs tours pour déverser le lait dans le tank de mélange sachant que durant la saison estivale les températures dans notre pays sont très élevées.

A l'automne la laiterie A n'a présenté aucune contamination tandis que la différence était significative entre la laiterie C et B avec une charge plus élevée au niveau de la laiterie C. Cette différence serait encore une fois le résultat des différences de pratiques d'une laiterie à l'autre. Pour l'hiver, aucune différence n'a été observée entre les laiteries B et C, la laiterie A par contre n'a présenté aucune contamination. Durant cette saison où les températures sont clémentes, ce n'est pas les pratiques au niveau des laiteries qui sont les plus incriminées mais plutôt la promiscuité entre les animaux dans les étables **(Milojevic *et al.*, 1988)** ou encore l'utilisation d'une litière souillée **(Hamiroune *et al.*, 2014)**, néanmoins l'absence de contamination de la laiterie A durant l'automne et l'hiver reste inexpliquée.

A l'étude de l'évolution de la contamination en fonction des saisons, les variations de températures ne semblent pas influencer la contamination du lait par *les SCP* au niveau de la laiterie A car on note une baisse de la contamination entre le printemps et l'été.

Par contre l'absence totale de contamination dans les échantillons prélevés durant l'automne et l'hiver laisse penser qu'il y ait eu éventuellement un changement de fermes laitières à partir des quels le collecteur de cette laiterie s'approvisionnait et qu'elles seraient plus soucieuses du respect des regèles d'hygiène.

Pour la laiterie B, la forte charge de collecte durant le printemps (attentes au niveau des laiteries) ainsi que la promiscuité entre les animaux au niveau des élevages semblent plus influencer la multiplication de *S.aureus* que les températures élevées durant la saison estivale.

La laiterie C par contre semble être sous l'influence des variations de températures, effectivement nous avons noté une plus grande charge bactérienne durant l'été, suivie de l'automne car dans notre pays les températures tardent à baisser après la saison estivale

et l'automne se caractérise par une faible disponibilité fourragère (liée à la pluviométrie) et par développement saisonnier de certains parasites. Dans ces conditions, les animaux seront exposés à la malnutrition réduisant ainsi leur immunité générale, les rendant plus fragiles et favorables à l'apparition des mammites. Surtout, lorsque à cela s'ajoute une mauvaise gestion de la lactation. Un tarissement court ou très long favorise l'apparition des mammites sub-cliniques **(Ball et Peters, 2007)**, le printemps et l'hiver semblent moins contaminés.

Cette variation est aussi le témoin que la contamination de cette laiterie est en relation avec les multiples allés retours des collecteurs ainsi que des longues heures passés au niveau de la laiterie.

Lors de la comparaison de nos résultats avec la règlementation c'est toujours la laiterie C qui occupe la première place ce qui conforte encore une fois notre hypothèse que chaque laiterie s'individualise par ses pratiques et que la fréquence de collecte étalée sur toute la journée au niveau de la laiterie C faisait cette différence. Cette laiterie a montré un nombre d'échantillons non satisfaisant aussi bien pour le lait de citerne que pour le lait de tank, elle a montré aussi un plus grand nombre d'échantillons non satisfaisants durant les saisons les plus chaudes (le printemps, l'été et l'automne). Elle semble encore une fois influencée par la température ,en effet les allés retours tout au long de la journée des collecteurs ainsi que la rareté du lait durant l'été et l'automne font que les collecteurs sont obligés de parcourir

parfois plusieurs kilomètres pour pouvoir collecter le lait augmentant ainsi l'exposition du lait aux températures ambiantes.

La laiterie B quant à elle a montré un taux d'échantillons positifs presque similaire pour les deux types de laits (citerne, tank), elle semble être influencée par le mélange de laits de plusieurs provenances rendant ainsi le control de l'hygiène du lait plus difficile. Elle semble aussi être influencée par les saisons où les mammites sont plus élevées (printemps et été) ainsi que par la promiscuité des animaux en hiver.

Concernant la laiterie A seul le lait de citerne a montré des échantillons non satisfaisants, le lait de tank n'as montré que des acceptables ce qui pourrait être expliqué encore une fois par la méthode de prélèvement différente entre la citerne (homogénéisation) et le tank (robinet).

Elle semble être influencée par les températures estivales propices au développement bactérien, néanmoins aucune contamination n'a été observée pour l'automne et l'hiver, ce qui nous laisse penser que le collecteur aurait éventuellement changé d'élevage ou qu'il ait pris conscience de la nécessité d'un bon nettoyage régulier.

# Résultats 3

## Antibiogramme des isolats

# RESULTATS 3 : Antibiogramme des isolats

## 1 Antibiogramme des isolats

### 1.1 sensibilité des souches isolées aux antibiotiques

Après avoir répondu positivement aux tests de la catalase, la coagulase et le test d'agglutination (Pastorex), 603 isolats ont été considérés comme étant des *Staphylocoques aureus*, 560 ont été isolés à partir du lait de citerne des collecteurs, 35 des tanks de stockages des laiteries et 8 du lait pasteurisé. En fonction de la disponibilité des disques d'ATB, l'antibiogramme n'a pu être effectué sur les 603 isolats, nous avons réduit le nombre de souches testées à 100 souches. Toutefois, en gardant la même proportionnalité des trois effets de notre étude (nature du lait, saison, provenance) en s'appuyant sur un outil statistique : la réduction stratifiée des échantillons ou des données. Cinq (05) isolats n'ont pas pu être récupérés, nous avons alors testé 95 isolats. Sur les 95 isolats 39 étaient sensibles à tous les antibiotiques soit un taux de 41,05%,52 ont présenté des résistances à un ou plusieurs antibiotiques (54,73%) et 7 une résistance intermédiaires à certains antibiotiques (7,36%) **(Figure 41).**

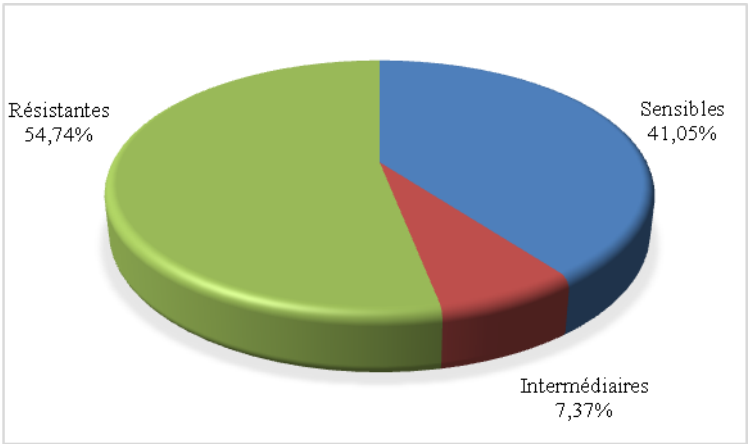


**Figure 41 :** sensibilité des isolats aux antibiotiques.

### 1.2 Taux de sensibilité des isolats aux antibiotiques

L'étude par antibiotique a montré les taux de résistance suivants : pénicilline (49,47%), tétracycline (5,26%), érythromycine (5,26%), néomycine (3,15%), céfoxitine (2,10%), clindamycine (2,10%), ofloxacine (1,05%), et l'oxacilline (2,10%). Aucune résistance n'a été observée pour la Vancomycine, la gentamycine, Triméthoprime+Sulfamethoxazole, et

le chloramphénicol. Une résistance intermédiaire a été observée pour 07 isolats 01 à la clindamycine (1,05%), 01 à la néomycine (1,05%),01 à l'association Triméthoprime+Sulfamethoxazole et à l'ofloxacine (1,05%) et 05 à l'association Triméthoprime+Sulfamethoxazole seule (5,26%) **figure 42**.

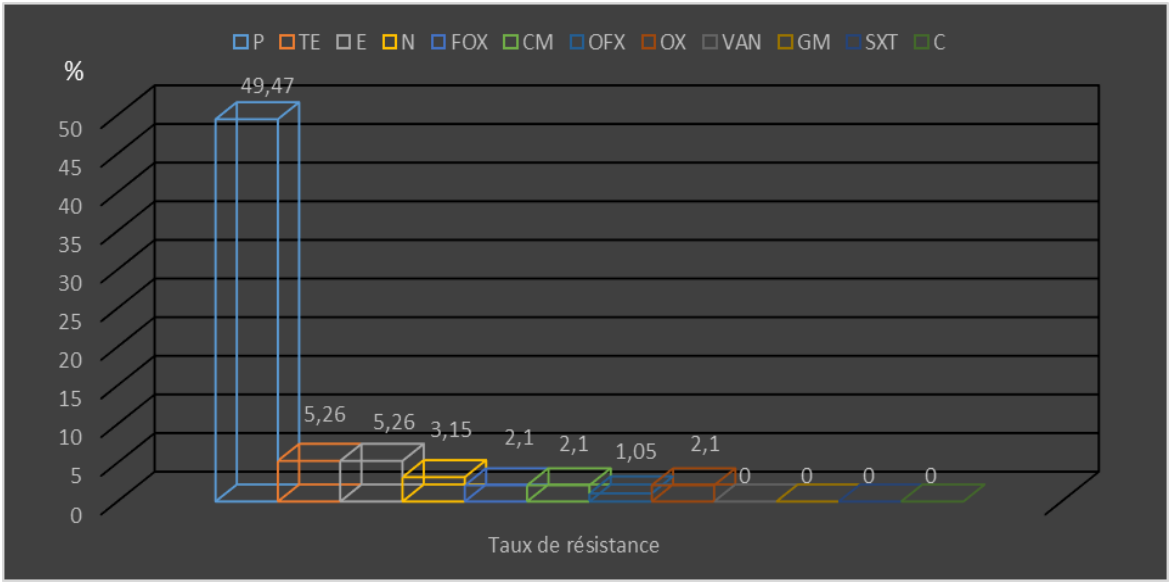


***Figure 42 :*** *Taux de sensibilité des isolats aux antibiotiques.*
**P** : Pénicilline ;**TE** :Tétracycline, **E** :Erythromycine ,**N** :Néomycine, **FOX** :Céfoxitine, **CM** :Clindamycine, **OFX** :ofloxacine,**OX** :oxacilline, **VAN** :Vancomycine, **GM** :Gentamycine, **SXT** : Triméthoprime+Sulfamethoxazole, **C** :Chloramphénicol.

## 1.3 profils de résistance aux antibiotiques des isolats

Parmi les 52 isolats qui ont présenté des résistances : 44/52 ont présenté une résistance à un seul antibiotique (84,61%),05/52 une double résistance(9,61%),02/52 une résistance à quatre antibiotiques (3,84%) et 01/52 une résistance à cinq antibiotiques (1,92%) **figure43**.

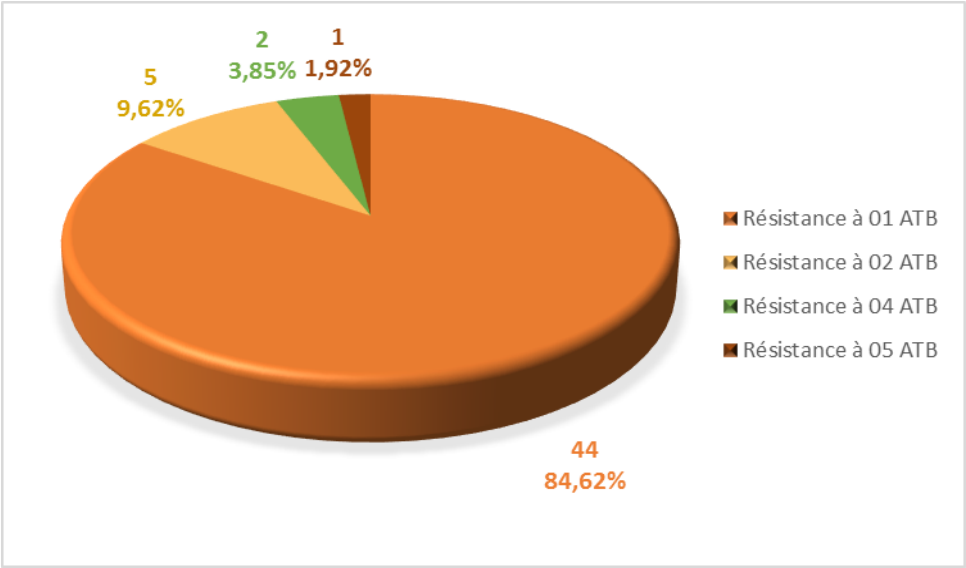


**Figure 43 :** Profils de résistance des isolats aux antibiotiques.

## 1.4 Résistance à un antibiotique

Sur les 44 isolats qui ont montré une résistance à un seul antibiotique, 88,63% étaient résistants à la pénicilline(39/44),6,82% résistants à l'érythromycine(3/44), 2,27% à l'ofloxacine (1/44) et 2,27% à la tétracycline(1/44) **figure 44.**

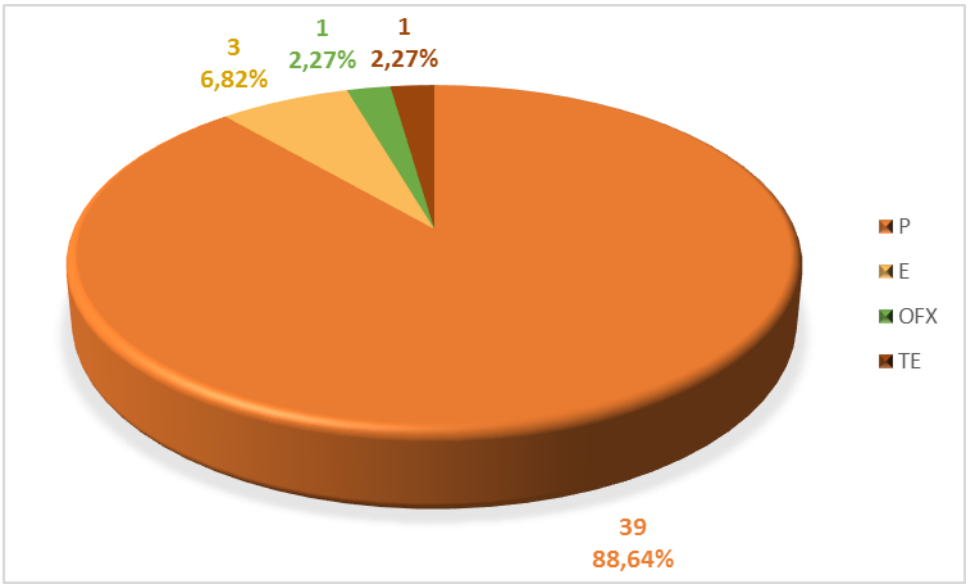


***Figure 44 :*** *Profil de résistance des isolats à un antibiotique.*

### 1.4.1 Effet du site de prélèvement sur la résistance à la pénicilline

39 isolats ont montré une résistance à la pénicilline parmi lesquels 32 (82,05%) ont été isolés à partir du lait des collecteurs, 7,69% du lait de tank et 10,25% du lait pasteurisé **figure 45**.

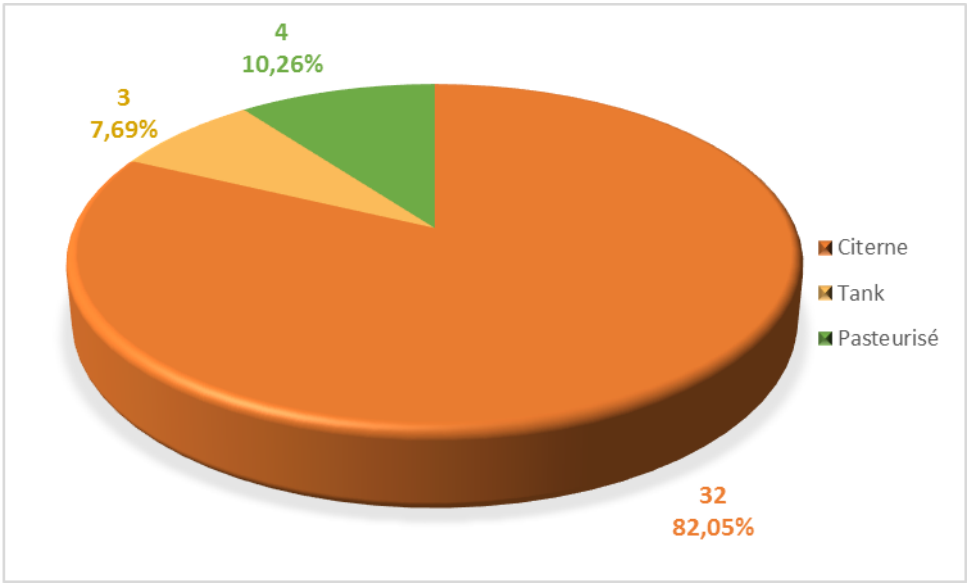


**Figure 45 :** Profil de résistance à la pénicilline en fonction site de prélèvement.

### 1.4.2 Effet des saisons sur la résistance à la pénicilline

Concernant la résistance des isolats à la pénicilline en fonction des saisons (N=39). C'est le printemps qui a présenté le taux le plus élevé 51,28% suivi par l'été 20,51% ensuite l'automne 10,26% enfin l'hiver 17,94% **figure 46**.

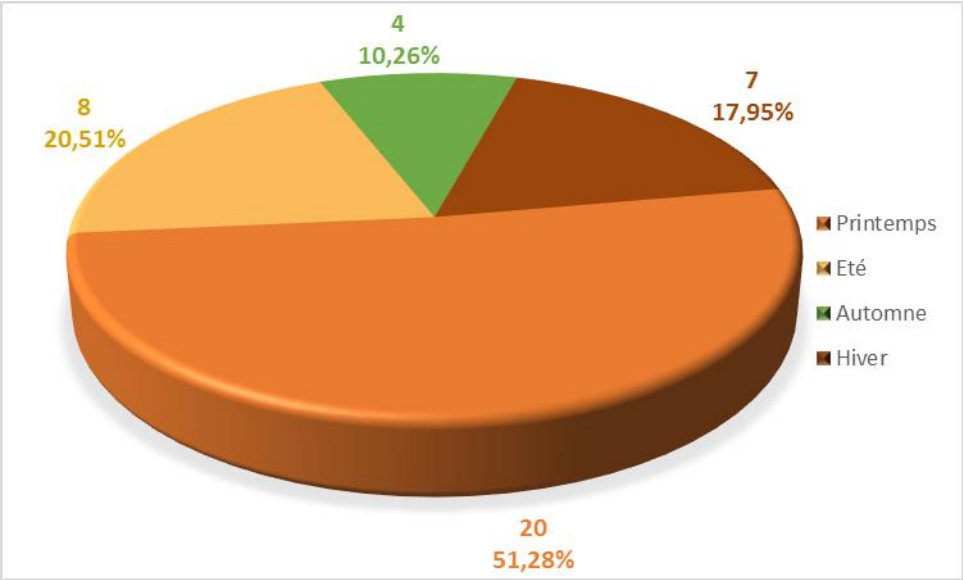


**Figure 46** : Profil de résistance à la pénicilline en fonction des saisons.

### 1.4.3 Effet des laiteries sur la résistance à la pénicilline

A l'étude de la résistance en fonction de la provenance, c'est la laiterie C qui a montré le taux de résistance le plus haut 56,41%, suivie par la laiterie B 38,46% et en dernier la laiterie A avec un taux de 5,13% **figure 47.**

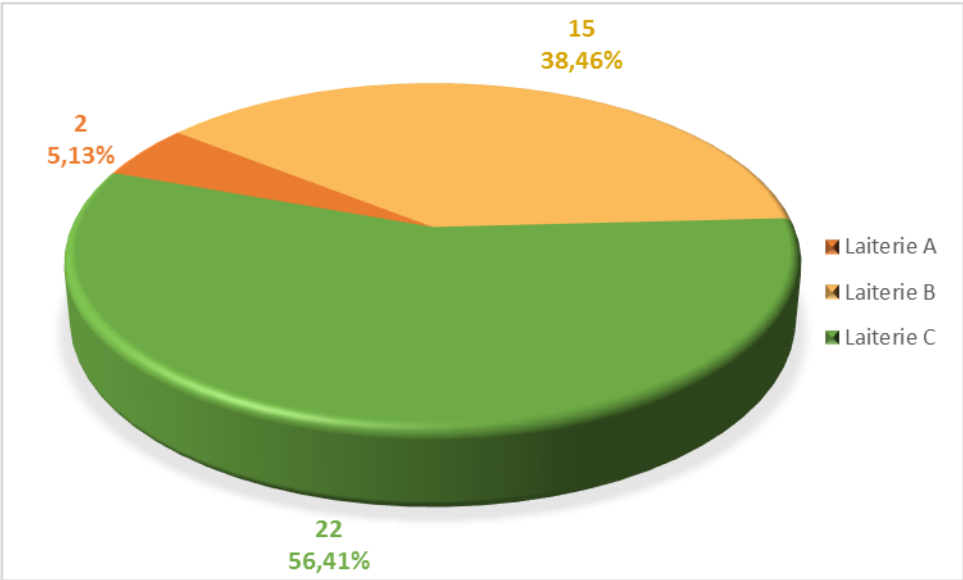


**Figure 47 :** Profil de résistance à la pénicilline en fonction des laiteries.

## 1.5 Résistance à deux antibiotiques

Parmi les 05 isolats résistants à deux antibiotiques, 02 ont été isolés à partir du lait de citerne d'un même collecteur (laiterie B) à deux saisons différentes (printemps et hiver) ont présenté une résistance à la pénicilline et à la néomycine (40%) (N=5), 20%(1/5) ont présenté une résistance à la; céfoxitine + pénicilline, tétracycline+ pénicilline, oxacilline + pénicilline **figure 48.**

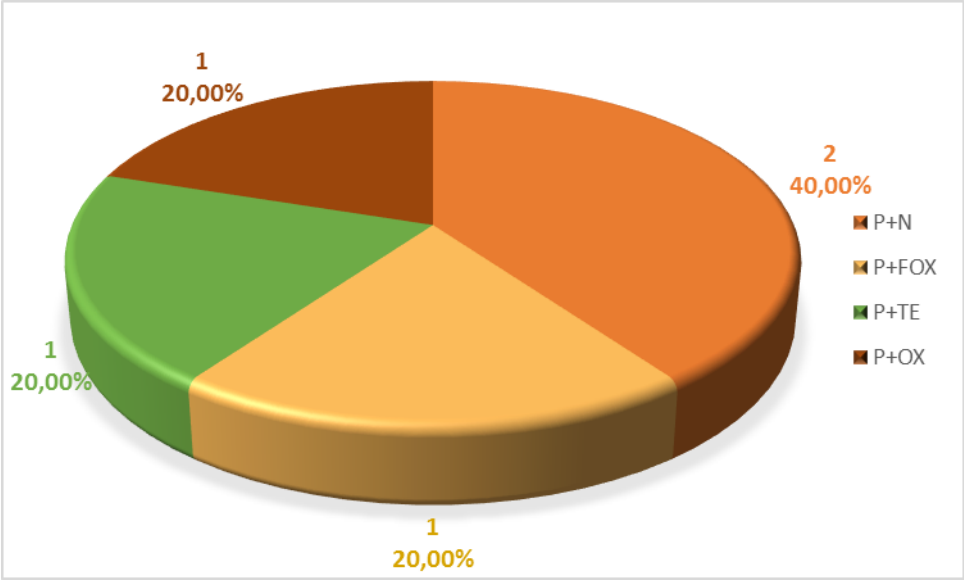


Figure 48 : Profil de résistance des isolats à deux antibiotiques.

## 1.6 Résistance à quatre Antibiotiques

Deux (02) isolats ont montré un même profil de résistance à quatre antibiotiques à savoir la tétracycline, l'érythromycine, la clindamycine, et la pénicilline. Ces deux isolats provenaient d'un même collecteur (laiterie B) et isolées à deux saisons différentes (été et hiver) **(Tableau 9).**

## 1.7 Résistance à cinq antibiotiques

Un seul isolat a présenté une résistance à cinq antibiotiques, à savoir : La pénicilline, néomycine, la céfoxitine, oxacilline et la tétracycline. Ce dernier provient du lait de citerne appartenant à la laiterie B **(Tableau 9).**

Tableau 9 : résistance des isolats à plusieurs antibiotiques.

| Antibiotiques | Nombre d'isolats résistants |
|---|---|
| **Résistance à 2 ATB** | |
| P+N | 2 |
| P+FOX | 1 |
| P+TE | 1 |
| P+OX | 1 |
| **Résistance à 4 ATB** | |
| P+TE+E+CM | 2 |
| **Résistance à 5 ATB** | |
| P+N+FOX+OX+TE | 1 |

# DISCUSSION 3 : Antibiogramme des isolats

Notre étude a montré que 49,47% des souches étudiées étaient résistantes à la pénicilline et 5,26% à la tétracycline. Nos résultats sont inférieurs à ceux observés en Algérie par **Belmamnoun *et al* (2016)** dans la région de Sidi Bel Abbes avec des taux de 80,95% pour la pénicilline et 71,43 % pour la tétracycline. Cette différence serait due probablement, au fait que ces derniers aient analysé du lait provenant de mammites sub-cliniques éventuellement traitées par ces antibiotiques. Ils sont également inférieurs à ceux notés par **Thaker *et al.* (2013)** notamment pour la pénicilline (100%). Toutefois, nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Shamila-Syuhada *et al.* (2016)** en Malaisie pour la pénicilline (23,3%) mais similaires pour la tétracycline (5,0%), la gentamycine (0%), le chloramphénicol (0%) ; et inférieurs pour la céfoxitine (15%), la clindamycine (10%) et l'érythromycine (8,3%). **Liu *et al.* (2017)** ont observé des résistances supérieures aux nôtres pour la clindamycine (35,2%), l'association sulfamethoxazole-triméthoprime (20,4%), l'érythromycine (46,3%), le chloramphénicol (7,41%). Selon **Jamali *et al.*, (2014)** les taux élevés de résistances à la pénicilline pourraient être dues à un contact au préalable avec ces antibiotiques notamment lors de traitements des mammites dans les fermes laitières **(Jamali *et al.*, 2014).**

En Algérie, les bêta-lactamines y compris la pénicilline G sont largement utilisés dans le traitement des mammites sans aucun test de sensibilité de la souche bactérienne vis-à-vis de ces antimicrobiens **(Belmamnoun *et al.*, 2016)**. La dissémination des bactéries résistantes entre les différents hôtes peut se produire par contamination de la nourriture, de l'air ou de l'eau. Lorsqu'elle atteint un nouvel hôte, la bactérie peut le coloniser ou l'infecter. Elle peut alors disséminer ses gènes de résistance aux autres bactéries mais également recevoir elle-même des gènes de résistance présents chez d'autres bactéries **(Swann *et al.*, 1969).** Parmi les isolats résistants (84,61%) ont montré une résistance à un seul antibiotique, ce taux est supérieure à celui observé par **Chaalal *et al* . (2016)** qui ont noté une mono résistance de 5,3%.Ce taux élevé de mono résistance observé au cours de notre étude était majoritairement représenté par la résistance à la pénicilline (88,63%). Cette dernière serait la conséquence d'une production de bêta-lactamase, enzyme qui inactive la pénicilline **(Tessema, 2016).**

Au cours de notre étude 82,05% des isolats présentant une mono résistance provenaient des citernes des collecteurs ce taux pourrait être le résultat du mélange de laits de plusieurs provenances favorisant ainsi l'émergence et la persistance de souches de plus en plus résistantes. Selon certains auteurs, la résistance est exacerbée par l'usage abusif et systématique des injections intra-mammaires, surtout pendant la période de tarissement **(Kateete *et al.*, 2013)**. La présence de résistance aux antibiotiques dans le lait cru a pour conséquence d'affaiblir l'efficacité de l'antibiotique dans le traitement des infections dues à *S.aureus* chez le consommateur.

Nous avons aussi noté une persistance voir même une augmentation de la résistance dans le lait pasteurisé par rapport au lait de tank (10,25%) ce qui représente une réelle menace pour la santé humaine sachant que ces bactéries résistantes auraient éventuellement pu former un biofilm à l'intérieur du tank de pasteurisation engendrant ainsi la contamination du lait par ces bactéries résistante. En ce qui concerne l'effet de la saison sur cette mono résistance à la pénicilline, c'est au printemps que les isolats étaient les plus résistants. Ce qui étaye l'hypothèse de l'utilisation abusive des ATB en cette saison. En effet, les mammites, surtout, sub-cliniques sont plus fréquentes conduisant ainsi à des traitements plus fréquents et souvent moins règlementés.

Dans notre étude c'est la laiterie C qui a montré le taux le plus élevé de résistance à la pénicilline (56,41%)sachant que c'est cette laiterie qui a présenté la plus haute prévalence de contamination par *S.aureus.* Ceci pourrait s'expliqué par un taux élevé de mammites mal-soignées dans cette région (région est d'Alger) notant qu'en plus de leur effet thérapeutique, les antibiotiques peuvent être utilisés comme promoteur de croissance ou en prévention de certaines pathologies ce qui engendre une sélection des bactéries résistante ainsi que la propagation des gènes de résistance **(Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001).** Concernant la résistance à deux antibiotiques, nous avons remarqué que deux isolats ont présenté une double résistance aux mêmes antibiotiques (pénicilline et néomycine) et qu'ils provenaient du même collecteur (laiterie B) à deux saisons différentes. Ce qui est la preuve d'une utilisation inappropriée voir même abusive de ces deux antibiotiques.

Cependant, les doubles résistances qui ont le plus attiré notre attention c'était la résistance à la pénicilline+céfoxitine et pénicilline +oxacilline ces profils sont la preuve de l'émergence de nouvelles souches résistantes à la méthiciline qui ne peuvent être négligées par les autorités sanitaires. Concernant la résistance à 4 et à 5 antibiotiques, nous avons remarqué encore une fois que deux isolats présentant le même profil de résistance à quatre antibiotiques à savoir : la tétracycline, l'érythromycine, la clindamycine, et la pénicilline provenait d'un même collecteur à deux saisons différentes et un isolat présentant une résistance à cinq antibiotiques dont la céfoxitine et l'oxacilline provenant d'un autre collecteur. Il semblerait que contrairement à la région est où la mono-résistance à primé, la région ouest d'Alger présente des profils de résistance à deux ou à plusieurs antibiotiques notamment l'oxacilline et la céfoxitine. Cela reflète l'usage abusif de ces antibiotiques par des personnes non qualifiées.

# CONCLUSION

# CONCLUSION

La consommation du lait à l'état cru est préférée chez beaucoup de personnes qui pensent que sa valeur nutritive est plus importante que celle du lait pasteurisé (**Sudhanthiramani *et al.*, 2015)**, or sa richesse en nutriment en fait un aliment de choix pour les microorganismes notamment pour les *S.aureus* **(Soomro *et al.*, 2003; Zakary *et al.*, 2011)** grâce à son pH neutre et son AW (activity of Water) **(Claeys *et al.*, 2013).**

Dans notre présent travail, parmi les 377 échantillons prélevés 45,09% étaient contaminés par S.aureus. C'est le lait cru provenant des citernes des collecteurs qui a montré le pourcentage de contamination le plus élevées 49,84%.Le dénombrement de SCP a montré que 24% des échantillons dépassaient le seuil de $10^3$ UFC/ml fixé par la réglementation.

- Le dénombrement de SCP selon le type de lait a montré une charge plus élevé dans le lait de tank, alors que la comparaison avec la réglementation a montré le que le lait de citerne présentait plus d'échantillons non satisfaisants. La contamination du lait des collecteurs renseigne sur l'état sanitaire des vaches laitières et d'une hygiène insuffisante dans les fermes d'élevage ou lors de la traite ;
- La capacité de cette bactérie à former un biofilm la rend résistante au nettoyage classique des tanks au niveau des laiteries ;
- La charge bactérienne similaire du lait cru et du lait pasteurisé devrait attirer l'attention afin de palier à ce problème qui pourrait vite devenir un danger pour la santé publique ;
- Il semblerait que le développement de *S.aureus* dans le lait cru soit influencé par les températures élevées durant les saisons chaudes dans notre pays. Effectivement, les taux les plus élevés ont été observés au printemps et en été, périodes propice aux infections mammaires. Par contre il n'y avait pas de différence significative pour le dénombrement de *SCP* durant les quatre saisons. C'est la preuve que les températures élevées dans notre pays et les épisodes d'élévation de la température, ainsi que la stabulation entravée permanente pendant toute la période hivernale, n'ont pas d'influence significative sur le développement de *S. aureus*. Notre étude a révélé une grande disparité entre les laiteries en termes de qualité microbiologique, spécialement en SCP et *S.aureus* : En effet, à l'étude de la contamination par laiterie, c'est la laiterie C qui a présenté un taux plus important en *S.aureus* ainsi que le taux le plus élevé d'échantillons non satisfaisants par rapport aux autres

laiteries. Sans doute due aux pratiques différentes dans cette laiterie, exposant ainsi le lait à des conditions favorables au développement de *S.aureus* telle que la température ambiante durant une longue période et le rendant très fragile. Bien que la laiterie A aie présenté une faible prévalence en *S.aureus,* elle se classe en deuxième position après la laiterie C pour le dénombrement des SCP. La comparaison avec la norme a monté un taux faible d'échantillons non satisfaisants ;

- L'état d'hygiène des collecteurs influence activement les niveaux de contamination des laiteries ;
- La persistance de la contamination au niveau du lait pasteurisé est le témoin d'un processus de pasteurisation défaillant ;
- Bien que l'effet de la saison sur la contamination en SCP et *S.aureus* soit marqué dans les laiteries prises individuellement, il n'est pas uniforme au niveau de toutes les laiteries : Toutefois, la laiterie A était celle qui présentait le taux de *S.aureus* ainsi que le taux d'échantillons non satisfaisants le moins élevé pour le printemps elle a présenté la charge bactérienne la plus haute 2,52 $10^3$ UFC/ml. En été, elle est aussi classée en dernier pour les prévalences mais en deuxième position pour le dénombrement. Nous avons remarqué l'absence totale de contamination de cette laiterie pour l'automne et l'hiver. Cette différence peut être expliquée par un éventuel changement d'élevages (élevage moins contaminé) par le collecteur ou bien une irrégularité dans le nettoyage de la citerne et des ustensiles de la traite rajoutée à cela les températures élevées observées aux printemps et en été ;
- notre travail aussi tire l'alarme des instances compétentes sur l'usage abusif et irrationnel des antibiotiques : Cela représente un réel problème aussi bien pour la santé humaine que pour la santé animale. La persistance de ces bactéries résistantes dans le lait pasteurisé aura pour conséquence de diminuer l'efficacité de l'antibiothérapie ainsi que de transmettre les gènes de résistance au consommateur. L'alarme doit être tirée suite à la résistance de deux isolats à la céfoxitine et l'oxacilline, antibiotiques témoins de l'émergence de souches résistantes à la méthiciline.

# Perspectives & Recommandations

# Perspectives et Recommandations :

**Perspectives**

Dans le cadre de la continuité et de l'amélioration de cette étude plusieurs perspectives peuvent être émises :

- Ce travail mérite d'être élargi sur un grand nombre d'échantillons et de laiteries dans le territoire national ;
- Prolonger la durée d'étude sur au moins 3 ans afin de mieux estimer l'influence de la saison sur le développement de *S.aureus* ;
- Communiquer les résultats de notre travail aux autorités compétentes et aux vétérinaires praticiens afin de les renseigner sur les profils émergents de résistances aux antibiotiques notamment ceux à la méthiciline ;
- Commencer l'étude à partir des élevages jusqu'à la pasteurisation et même jusqu'aux points de vente pour définir le réel maillon faible de la chaine de pasteurisation ;
- Définir le profil phylogénétique des isolats récoltés par l'utilisation de la biologie moléculaire ;
- Identifier et rechercher les gènes codants pour les entérotoxines par PCR ou d'autres méthodes afin de connaitre le vrai danger de la contamination de nos échantillons surtout ceux du lait pasteurisé ;
- Rechercher les gènes de résistance de nos isolats par l'utilisation de la biologie moléculaire.

Afin de fournir aux consommateurs un lait de bonne qualité microbiologique, Nous recommandons l'intervention au niveau :

- **Des élevages** : en s'assurant :
  - De la bonne santé des vaches laitières par un suivi sanitaire régulier et efficace en dépistant les porteurs sains de *S.aureus* et en éliminant les vaches présentant des mammites récidivantes ;
  - Que les pratiques de traite n'entrainent pas de contamination du lait en :
    - ∴ Jetant le lait des animaux malade ou sous traitement ;
    - ∴ Veillant à ce que les ustensiles de traite soient correctement lavés et désinfectés ;

∴ Lavant et désinfectant les mamelles de chaque vache avant la traite ;

∴ S'assurant de la qualité de l'eau utilisée pour le nettoyage et le rinçage ;

∴ S'assurant de la propreté du lieu de la traite ;

∴ Assurant une maintenance régulière des machines à traire ;

- De mettre en place un système de refroidissement rapide du lait après la traite.

❖ **Des collecteurs :** en s'assurant

- Du nettoyage et de la désinfection régulière des citernes et des tanks de collecte ;
- De mettre en place un système de refroidissement des citernes.

❖ **Des laiteries** : en

- Désinfectant régulièrement les tanks de stockage ;
- Prenant en charge les laits refoulés pour leur éviter une autre destination ;
- Mettant en place les bonnes pratiques d'hygiène (BPH).
- Procédant à une vérification régulière du système de pasteurisation.
- Veillant au respect de la température de transport et de stockage du lait exigée par la règlementation.

❖ **Des points de vente** : en assurant :

- Un entreposage du lait dans une enceinte frigorifique ;
- Un lavage et une désinfection régulière des ustensiles en contact avec le lait.

❖ **Des consommateurs** : en évitant :

- La consommation du lait l'état cru ;
- La consommation de lait issue d'élevages méconnus.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

# Références Bibliographiques


1. **Aarestrup, F. M., H. D. Larsen, N. Eriksen, C. S. Elsberg, and N. E. Jensen. 1999.** Frequency of haemolysin in Staphylococcus aureus of bovine and human origin. APMIS. 107:425-430.

2. **Abebe, R., H. Hatiya, M. Abera, B. Megersa, and K. Asmare. 2016**. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of Staphylococcus aureusin dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. BMC Veterinary Research. 12:270.

3. **Abera, T., L. Yoseph, M. Behar, and U. Befekadu. 2016**. Bacteriological quality of raw camel milk along the market value chain in Fafen zone, Ethiopian Somali regional state. BMC Res Notes. 9(289).

4. **Achek, R., H. El-Adawy, H. Hotzel, H. Tomaso, R. Ehricht, T. M. Hamdi, O. Azzi, and M. S. 2020**. Short communication:Diversity of staphylococci isolated from sheep mastitis in northern Algeria. J. Dairy Sci. 103:890-897.

5. **Adak, G. K., S. Meakins, M., H. Yip, B. A. Lopman, and S. J. O'Brien. 2005**. Disease risks from food, England and Wales1996-2000. Emerg Infect. 11(3):365-372.

6. **Adesiyun, A. A., L. A. Webb, and H. T. Romain. 1998**. Prevalence and characteristics of Staphylococcus aureus strains isolated from bulk and composite milk and cattle handlers. J. Food Prot. 61(5):629-632.

7. **Afif, A., M. Faid, F. Chigr, and M. Najimi. 2008**. Survey of the microbiological quality of the raw cow milk in the Tadla area of Morocco. International Journal of Dairy Technology ;61(4).

8. **Aggad, H., Mahouz, F., Ahmed Ammar ,Y.,, Kihal M. 2009.** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'Ouest Algérien. Revue Med. Vet., 160(12): 590-595

9. **Aiello, S. E. 2002**. Le manuel vétérinaire Merck,deuxième édition française. Whithouse station USA ed. Merck and co. pp: 1391-1392 et 1949-1950.

10. **Akers, R.M. 2002**. Lactation and the Mammary Gland . Iowa State Press, Ames, Iowa, USA283 pp.

11. **Akkou, M., K. Antri, M. A. Bachtarzi, M. Bes, A. Tristan, O. Dauwalder, Kaidi.R, H. Meugnier, M. Tazir, J. Etienne, F. Laurent, and N. Ramdani-Bouguessa. 2016**. Phenotypic and genotypic characterization of Staphylococcus aureus strains associated with bovine mastitis and nasal carriage of workers in contact to animals in Algeria. Pak Vet J. 36(2):184-188.

12. **Alais, C. 1975**. Science du lait - Principes des techniques laitières. 3 ed. Société d'édition et de publicité agricoles industrielles et commerciales.807p.

13. **Anand Paul, D., A. Anishaparvin, and C. Anandharamakrishnan. 2011**. Computational fluid dynamics studies on pasteurisation ofcanned milk. International Journal of Dairy Technology. 64(2):305-313.

14. **Andrews, A. H., R. Blowey, H. Boyd, and R. Eddy. 2008**. Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle. John Wiley & Sons. ed.1332p

15. **Anonyme 01. 1993**. Arrété interministériel , Safar 1414.

16. **Anonyme 02. 1993**. Journal officiel de la république algerienne n°69

17. **ANSES. 2011**. Staphylococcus aureus et entérotoxines staphylococciques Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments

18. **ANSES. 2018**. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des protocoles d'échantillonnage des laits et fromages morbier et mont d'or en vue de réduire le risque épidémique de salmonellose.

19. **Arbuthnott , J. P., D. C. Coleman, and J. S. de Azavedo. 1990.** Staphylococcal toxins in human disease. Soc Appl Bacteriol Symp Ser. 19:101S-107S.

20. **Ayele, Y., Gutema, F. D., Edao, B .M., Girma,R. , Tufa, T. B., Beyene, T. J., Tadesse ,F., Geloye, M., Beyi, A. F.,2017**. Assessment of Staphylococcus aureus along milk value chain and its public health importance in Sebeta, central Oromia, Ethiopia. BMC Microbiology. ; 17:141.

21. **Baazize-Ammi, D., Gharbi, I., Dechicha , A.S., Kebbal, S., Guetarni, D.2019**. Qualité bactériologique et sanitaire du lait cru de bovins des circuits direct et indirect dans la région centre de l'Algérie. Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. 7 (2): 267-272.

22. **Bacha, D. 2015**. Gestion des toxi-infections en milieu militaire. RM de l'HMRUO. 2(1):62.

23. **Bachtarzi, N ., Amourache, L. , Dehkal, G.2015**. Qualité du lait cru destiné à la fabrication d'un fromage à pâte molle type Camembert dans une laiterie de Constantine (Est algérien). International Journal of Innovation and Scientific Research. 17 :34-42.

24. **Ball P. J. H., Peters A. R. 2007.** *Reproduction in Cattle*. 3ème ed, pp. 242.

25. **Barkema, H. W., M. J. Green, A. J. Bradley, R. N. Zadoks , 2009**. the role of contagious disease in udder health. J. Dairy Sci. 92 : 4717-4729.

26. **Bayles, K. W. and J. J. Iandolo. 1989**. Genetic and molecular analyses of the gene encoding staphylococcal enterotoxin D. J Bacteriol .171:4799-4806.

27. **Baym, M., L. K. Stone, and R. Kishony. 2016**. Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance. . Science; 351:aad3292.

28. **Bebell, L. M. and A. N. Muiru. 2014.** Antibiotic use and emerging resistance: how can resource- limited countries turn the tide? Global heart; 9(3):347 - 358.

29. **Beech, I. B., J. A. Sunner, and K. Hiraoka. 2005**. Microbe-surface interactions in biofouling and biocorrosion processes. Int. Microbiol. 8:157-168.

30. **Belmamoun A R, BereksiReguig K, Bouazza S, Dif Mustapha M . 2016**. Subclinical mastitis on the raw milk as a risk factor for the transmission of Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci, multidrug resistance in Sidi Bel Abbes, Algeria A E N S I ; 10(6) Pages: 1-11.

31. **Bendahon,A. ,Lebbadi, M. , Ennanei, L., Essadqui , F. Z., Abdin ,M.,2008**. Characterization of Staphylococcus spe¬cies isolation from raw milk and milk products (iIben and jben) in North Marocco. J. Infect. Dev. Ctries; 2: 218-225.

32. **Benito, D., P. Gómez, C. Aspiroz, M. Zarazaga, C. Lozano, and C. Torres. 2016**. Molecular characterization of Staphylococcus aureus isolated from humans related to a livestock farm in Spain, with detection of MRSA-CC130 carrying mecC gene: a zoonotic case. Enferm Infecc. Microbiol. Clin; 34(5):280-285.

33. **Benkerroum, N. 2017**. Staphylococcal enterotoxins and enterotoxin-like toxins with special reference to dairy products: An overview. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. **58(12):1943-1970.**

34. **Betley, M. J. and J. J. Mekalanos. 1985**. Staphylococcal enterotoxins A is encoded by phage . Science .229:185-187.

35. **Bhakdi, S. and J. Tranum-Jensen. 1991**. Alpha-toxin of Staphylococcus aureus. Microbiol. Rev. 55:733-751.

36. **Bhatia, A. and S. Zahoor. 2007**. S. aureus enterotoxins. J. Clin. Diag. Res. 1:188-197.

37. **Bitrus., A. Athliamai, Z. Z., S. K. Bejo, and S. Othman. 2016.** Persistence of antibacterial resistance and virulence gene profile of Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) isolated From humans and animals. Pak Vet J. 36(1):77-82.

**38. Bodén, M. K. and J. I. Flock. 1989.** Fibrinogen-binding protein/clumping factor from Staphylococcus aureusInfect Immun. 57(8):2358-2363.

**39. Bokarewa, M. I., T. Jin., Tarkowski, A. 2006**. Staphylococcus aureus: StaphylokinaseInt Jof Biochem Cell Biol. 38(4):504-509.

**40. Bonfoh , B. , Roth, C., Traore, A.N.,Fane, A.,Simbe, C.F.,Alfaroukh, I.O ., Nicolet, J., Farah, Z., Zinsstag ,J.2006.** Effect of washing and disinfecting containers on the microbiological quality of fresh milk sold in Bamako (Mali). Food Control 17 :153–161.

**41. Boss, R., A. Cosandey, M., Luini, K. Artursson, M. Bardiau, F. Breitenwieser, and H. U. Graber. 2016**. Bovine Staphylococcus aureus: Subtyping, evolution, and zoonotic transfer. Journal of Dairy Science. 99(1):515-528.

**42. Boumghar ,M. 2000.** La filiere lait en Algerie: une production largement insuffisante. Agro ligne, 3: 8-9.

**43. Bradley, A. J. 2002.** Bovine mastitis: An Evolving Disease. Vet J .164:116-128.

**44. Brisabois, A., V. Lafarge, A. Brouillaud, M. L. De Buyser, C. Collette, B. Garin-Bastuji, and M.-F. Thorel. 1997**. Les germes pathogens dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. Rev. Sci.Tech. Off. Int. Epiz. 16(1):452-471.

**45. Brooks, G., J. Butel, and S. Morse. 2004.** Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology McGraw-Hill Publishing Co. 23rd edition.

**46. Bryan, F. L., J. Guzewich, and E. Todd. 1997.** Surveillance of Foodborne Disease II. Summary and Presentationof Descriptive Data and Epidemiologic Patterns;Their Value and Limitations. J Food Prot. 60(5):567-578.

**47. Bukowski, M., B. Wladyka, and G. Dubin. 2010.** Exfoliative Toxins of Staphylococcus aureus. . Toxins . 2:1148-1165.

**48. Calsolari, R. A. O., V. C. P. Pereira, J. P. AraújoJúnior, and M. L. R. S. Cunha. 2011**. Determination of toxigenic capacity by reverse transcription polymerase chain reaction in coagulase-negative staphylococci and Staphylococcus aureusisolated from newborns in Brazil. Microbiol. Immunol. 55:394-407.

**49. Capurro, A., C. Concha, L. Nilsson, and K. Ostensson. 1999**. Identification of coagulase positive Staphylococciisolated from bovine milk. Acta Vet. Scand. 40:315-321.

**50. Carle, S. 2009**. La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important! Pharmactuel .42.

**51. Casin, I. and E. Collatz. 1997.** Mécanismes de résistance aux aminosides. Med Therapeut. 3:86-96.

**52. Cervinkova, D., H. Vlkova, I. Borodacova, J. Makovcova, V. Babak, A. Lorencova, I. Vrtkova, D. Marosevic, and Z. Jaglic. 2013**. Prevalence of mastitis pathogens in milk from clinically healthy cows. Veterinarni Medicina . 58(11):567-557.

**53. Chaalal ,W,.Aggad, H., Zidane, K., Saidi, N., Kihal, M.,2016**. Antimicrobial Susceptibility Profiling of Staphylococcus aureus Isolates from Milk.BMRJ;13(3): 1-7.

**54. Chang, S. C., Y. C. Chen, K. T. Luh, and W. C. Hsieh. 1995.** Macrolide resistance of common bacteria isolated from Taiwan. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 23:147-154.

**55. Chapaval, L., Moon, D. H., Gomes, J. E., Duarte, F. R., Tsai, S. M .2010**. Efeito da temperature sobre a produção de enterotoxina estafilocócica em leite. (Effect of temperature on production of staphylococcal enterotoxin in milk). Hig. aliment 24:180-181

**56. Chavakis, T., K. Wiechmann, k. T. Preissner, and M. Herrmann. 2005**. Staphylococcus aureus interaction with the endothelium :the role of bacterial "secretable expanded repertoire adhesive molecules"(SERAM)il disturbing host defence systems. Thromb Haemost. 94(2):278-285.

**57. Cheng, Q., M. C. Yu, A. R. Reeves, and A. A. Salyers. 1995**. Identification and characterization of a Bacteroidesgene, csuF, which encodes an outer membrane protein that is essential for growth on chondroitin sulfate. Journal of Bacteriology. 177(13):3721-3727.

**58. Cheung, A., J. Koomey, C. Butleur, S. Porjan, and V. A. Fischetti. 1992**. Regulation of Exoprotein Expression in staphylococcus aureus by a locus (sar) Distinct From agr. PNAS. 89:6462-6466.

**59. Chillet, P. 2011**. Opérations unitaires en génie biologique : Tome 2, La pasteurisation. b i o l o g i e t e c h n i q u e.110p

**60. Claeys, W. L., S. Cardoen, G. Daube, J. De Block, K. Dewettinck, K. Dierick, L. De Zutter, A. Huyghebaert, H. Imberechts, and P. Thiange. 2013.** Raw or heated cow milk consumption: review of risks and benefits. Food Control. 31(1):251-262.

**61. CNIS. 2015.** Statistiques des Douanes Algériennes. Alger : CNIS. www.douane.gov.dz La Douane. 2013, 2014,2015.

62. **Connell, S. R., C. A. Trieber, G. P. Dinos, E. Einfeldt, D. E. Taylor, and K. H. Nierhaus. 2003.** Mechanism of Tet(O)-mediated tetracycline resistance. EMBO J. 22:945-953

63. **Courvalin, P., R. Leclercq, and E. Bingen. 2006**. Antibiogramme. Eska.693p.

64. **Cremonesi, P., M. Luzzana, B. M., S. Morandi, R. Lodi, C. Vimercati, D. Angellini, G. Caramenti, P. Moroni, and B. Castiglioni. 2005**. Development of a multiplex PCR assay for the identification of Staphylococcus aureusenterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products. Mol Cell Probes. 19:299-305.

65. **Cribier, G., G. Prevost, P. Couppie, V. Finck-Barbancon, E. Grosshans, and Y. Piemont. 1992.** Staphylococcus aureusleukocidin: a new virulence factor in cutaneous infection? An epidemiological and experimental study. Dermatology. 185:175-185.

66. **Crossley, K., B. and G. Archer. 1997.** The Staphylococci in Human Disease. Churchill Livingstonepp:.106-119.

67. **De Buyser, M. L. 1996**. Les staphylocoques. In Microbiologie alimentaire. Vol. Tome 1. Technique et documentation Lavoisier ed., Paris.

68. **De Buyser, M. L., B. Dufour, M. Maire, and V. Lafarge. 2001**. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. International Journal of Food Microbiology .67(1-2):1-17.

69. **De Cremoux, R .2008.** Caractérisation et entérotoxigénicité des souches de S.aureus en filière caprine, identification des risques, de contamination et étude d'outils de contrôle en vue de leur maîtrise : de la production à la transformation. Institut de l'élevage. Compte rendu n°150838016;

70. **De Oliveira, L. P., L. S. S. Barros, V. C. Silva, and M. G. Cirqueira. 2011**. Study of Staphylococcus aureus in raw and pasteurized milk consumed in the Reconcavo area of the State of Bahia, Brazil. . J. Food Process. Technol. 2(6):1-5.

71. **Debry, G. 2001**. Lait,nutrition et santé. Tec and Doc.566p.

72. **DeFranco, A. L., M. Robertson, R. M. Locksley, and R. Cunin. 2009**. Immunité : la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoiresBruxelles ; [Paris] : De Boeck.238p.

**73. Delmas, G., A. Gallay, E. Espie, S. Haeghebaert, N. Pihier, F. X. Weill, H. De Valk, V. Vaillant, and J. C. Desenclos. 2006.** Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005. Bilans réguliers de surveillance - Maladies infectieuses. BEH. 51-52:418-422.

**74. DeMarco, C., E., L. Cushing, A., E. Frempong-Manso, S. Seo, M., T. A. A. Jaravaza, and G. W. Kaatz. 2007**. Efflux-related resistance to norfloxacin, dyes, and biocides in bloodstream isolates of Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother. 51(9):3235-3239.

**75. Denis, F., M. M. Ploy, C. Martin, and V. Cattoir. 2016**. BACTERIOLOGIE MEDICALES.TECHNIQUES USUELLES,3ème édition entièrement refondue. Elsevier Masson .557p;

**76. Denis, F., M. C. Poly, C. Martin, E. Bingen, and R. Quentin. 2007**. Bacteriologie médicale: techniques usuelles. Edition Elsevier Masson.573p.

**77. De Oliveira, L. P., E Barros, L. S. S.,Carneiro Silva, V., Cirqueira, M.G .2011**. Study of Staphylococcus aureus in raw and pasteurized milk consumed in the Reconcavo area of the State of Bahia, Brazil. J Food Process Technol .; 2:128

**78. DeVita, M. D., R. K. Wadhera, M. L. Theis, and S. C. Ingham. 2008**. Assessing the potential of Streptococcus pyogenes and Staphylococcus aureustransfer to foods and customers via a survey of hands, hand-contact surfaces and food-contact surfaces at foodservice facilities. J. Foodserv. 18:76-79.

**79. Diliello, L. R. 1983**. Methods in Food and Dairy Microbiology. Avi Publishing Co Inc.,U.S.140p .

**80. Dinges, M. M., P. M. Orwin, and P. M. Schlievert. 2000**. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin. Microbiol. Rev. 13(1):16-34.

**81. Doery, H. M., B. J. Magnusson, J. Gulasekharam, and J. E. Pearson. 1965**. The properties of phospholipase enzymes in staphylococcal toxins. J. Gen. Microbiol. 40:283-296.

**82. Doyle, M. P., L. R. Beuchat, and T. J. Montville. 2001**. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2ed ed. ASM Press.872p.

**83. Drougka, E., A. Foka, C. K. Koutinas, E. Jelastopulu, N. Giormezis, O. Farmaki, S. Sarrou, E. D. Anastassiou, E. Petinaki, and I. Spiliopoulou. 2016**. Interspecies spread of Staphylococcus aureus clones among companion animals and human close contacts in a veterinary teaching hospital. A cross-sectional study in Greece. Prev Vet. Med. 126(4):190-198.

**84. Duran, N., B. Ozer, G. G. Duran, Y. Onlen, and C. Demir. 2012**. Antibiotic Resistance Genes and Susceptibility Patterns in Staphylococci. Indian J Med Res. 135(3):389-396.

**85. Durel, L., G. Guyot, and L. Théron. 2011**. Mammites Bovines. MED'COM.270p

**86. Duval, J. 1985.** Evolution and epidemiology of MLS resistance. J. Antimicrob. Chemother. 16(Suppl. A):137-149.

**87. Dwokin, M., S. Falkow, E. Rosenberg, K. Schkeufer, and E. Stackebrandt. 2006.** The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. Vol. 4. 3eme éd, New-York.

**88. Easman, C. S. F. and C. Adlam. 1983**. Staphylococci and Staphylococcal infections. Academic Press.

**89. EFSA. 2006.** The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2005. EFSA Journal .94:1-236.

**90. Evenson, M. L., M. W. Hinds, R. S. Bernstein, and B. M. S. 1988.** Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. Int J Food Microbiol. 7(4):311-316.

**91. FAO/OMS. 1960**. Comité mixte FAO/OMS d'experts de l'hygiène du lait. Page 60.

**92. Fagundes ,H. , Barchesi, L. , Filho, A. N. , Ferreira, L. M. , Oliveira, C. A. F . 2010.** Occurrence of staphylococcus aureus in raw milk produced in dairy farms in sãopaulo state, brazil .Braz. J. Microbiol.; 41 (2): 376-380

**93. Feble, A. T., C. Scott, K. Kadlec, R. Ehricht, S. Monecke, and S. Schwarz. 2010.** Characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus ST398 from cases of bovine mastitis. J. Antimicrob. Chemother. 65(4):619-625.

**94. Federighi, M. 2005**. BACTERIOLOGIE ALIMENTAIRE, Compendium d'hygiène des aliments. . econmica ed.Feinberg, M. W., Z. Cao, A. K. Wara, M. A. Lebedeva, S. SenBanerjee, and M. K. Jain. 2005. Kruppel-like Factor 4 Is a Mediator of Proinflammatory Signaling in Macrophages. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. 280(46):38247-38258.

**95. Fetsch, A. 2018**. Staphylococcus aureus. ACADEMIC PRESS.298p.

**96. Fitzgerald, J. R., S. R. Monday, T. J. Foster, G. A. Bohach, P. J. Hartigan, W. J. Meaney, and C. J. Smyth. 2001**. Characterization of a putative pathologenicity island from bovine sataphylococcus aureus encoding multiple superantigens. J Bacteriol .183:63-70.

**97. Fleischer, B. 1994**. Superantigens. APMIS. 102:3-12.

**98. Flores-Díaz, M., L. Monturiol-Gross, C. Naylor, A. Alape-Girón, and A. Flieger. 2016**. Bacterial Sphingomyelinases and Phospholipases as Virulence Factors. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 80:597-628.

**99. Foster, T. J. 1991**. Potential for vaccination against infections caused by Staphylococcus aureus. vacccine. 9(4):221-227.

**100. Foster, T. J. 2005**. immune evasion by staphylococci. Nat Rev Microbiol. 3(12):948-958.

**101. Foster, T. J. and D. McDevitt. 1994**. Surface-associated proteins of Staphylococcus virulence. . FEMS Microbiology Letters. 118:199-206

**102. Freemane-Cook, L. and K. Freemane-Cook. 2006**. Deadly diseases and epidemics Staphylococcus aureus.infections. Chelsea House Publishers.182p.

**103. Freitas, J. A, Oliveira, J. P., Galinda, G. A. R,.2005**. Avaliação da qualida de higiênicosanitária do leit eexposto ao consumona região metropolitana de Belém-PA (Evaluation of milk exposed to consumption in Northern Brazil) Rev Inst Adolfo Lutz; 64: 212-218.

**104. Freney, J., F. Renaud, W. Hansen, and C. Bollet. 2000**. Précis de bactériologie clinique. ESKA,Paris.1692p.

**105. Gabriel, G., J. C., and L. F. 2002**. Variabilité de la charge en levures et moisissures dans le lait et l'environnement des animaux : comparaison entre l'élevage biologique et conventionnes. Renc. Rech. Ruminants. 9:230.

**106. Ghazi,K., Niar,A.2011**. Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie). TROPICULTURA. 4 :193-196.

**107. Gao, J., M. Ferreri, F. Yu, X. Liu, L. Chen, S. J., and B. Han. 2012**. Molecular types and antibiotic resistance of Staphylococcus aureusisolates from bovine mastitis in a single herd in China. Vet J. 192:550-552.

**108. Garcıa, P., R. Benıtez, M. Lam, A. M. Salinas, H. Wirth, C. Espinoza, T. Garay, M. S. Depix, J. Labarca, and A. M. Guzma. 2004**. Coagulase-negative staphylococci: clinical,microbiological and molecular features to predict true bacteraemia. Journal of Medical Microbiology. 53:67-72.

**109. Genigeorgis, C. A. 1989**. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. Int. J. Food Microbiol. 9:327- 360.

**110. Gillet, Y., B. Issartel, P. Vanhems, J. C. Fournet, G. Lina, M. Bes, F. Vandenesch, Y. Piémont, N. Brousse, D. Floret, and J. Etienne. 2002**. Association between Staphylococcus aureus strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patientsThe Lancet. 359(9308):753-759.

**111. Girish, K. S. and K. Kemparaju. 2007**. The magic glue hyaluronan and its eraser hyaluronidase: A biological overview. Life Sciences. 80:1921-1943.

**112. Gomes, F. and M. Henriques. 2016**. Control of bovine mastitis: Old and recent therapeutic approaches. Curr. Microbiol .72:377-382.

**113. Gourreau, J. M. and F. Bendali. 2008**. Maladies des Bovins. 4e ed. France Agricole.797p

**114. Gravet, A., D. A. Colin, D. Keller, R. Girardot, H. Monteil, and G. Prévost. 1998**. Characterization of a novel structural member, LukE-LukD, of the bi-component staphylococcal leucotoxins family. FEBS Lett. 436(2):202-208.

**115. Grontvedt, C. A., P. Elstrøm, M. Stegger, R. L. Skov, P. Skytt Andersen, K. W. Larssen, A. M. Urdahl, O. Angen, J. Larsen, S. Åmdal, S. M. Lotvedt, M. Sunde, and J. V. Bjornholt. 2016**. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus CC398 in humans and pigs in Norway: a "One Health" perspective on introduction and transmission. Clin. Infect. Dis. 63(11):1431-1438.

**116. Grumann, D., U. Nübel, and B. M. Bröker. 2014**. Staphylococcus aureus toxins-Their functions and genetics. Infect. Genet. Evol 21:583-592.

**117. Guillemot, D. 2006**. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Page 214.

**118. Guiraud, J. P. 1998**. Microbiologie alimentaire des principaux produits alimentaires. Ed. Dunod, Paris, 625 p.

**119. Hamiroune, M., Berber, A., Boubekeur,S.2016.** Evaluation of the bacteriological quality of raw cow's milk at various stages of the milk production chain on farms in Algeria. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 35 (3)

**120. Hamiroune, M., A. Berber, and S. Boubekeur. 2014**. Contribution à l'étude de la contamination du lait bovin par les staphylocoques dans certaines fermes de la région d'Alger et son impact sur la santé humaine. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 33(3):1027-1034.

**121. Harraghy, N., M. Hussain, A. Haggar, T. Chavakis, B. Sinha, M. Herrmann, J. I. Flock. 2003**. The adhesive and immunomodulating properties of the multifunctional Staphylococcus aureus protein Eap. MICROBIOLOGY. 149(10).

**122. Harris, L. G., S. J. Foster, and R. G. Richards. 2002**. An introduction to Staphylococcus aureus, and techniques for identifying and quantifying S. aureus adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. European cells & materials. 4:39-60.

**123. Harrison, E. M., G. K. Paterson, M. T. Holden, J. Larsen, M. Stegger, A. R. Larsen, A. Petersen, R. L. Skov, J. M. Christensen, A. Bak Zeuthen, O. Heltberg, S. R. Harris, R. N. Zadoks, J. Parkhill, S. J. Peacock, and M. A. Holmes. 2013**. Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolates with the novel mecA homologue mecC. EMBO Mol. Med. 5(4):509-515.

**124. Hartleib, J., N. Köhler, R. B. Dickinson, G. S. Chhatwal, J. J. Sixma, O. M. Hartford, T. J. Foster, G. Peters, B. E. Kehrel, and M. Herrmann. 2000** Protein A is the von Willebrand factor binding protein on Staphylococcus aureus. Blood. 96(6):2149-2156.

**125. Harvey, J et A. Gilmour. 2000**. Staphylococcus aureus. . Academic Press:2066- 2071.

**126. Haveri, M., M. Hovinen, A. Roslof, and S. Pyorala. 2008.** Molecular types and genetic profiles of Staphylococcus aureus strains isolated from bovine intramammary infections and extramammary sites. J. Clin. Microbiol .46:3728-3735.

**127. Hawryluk, T. and I. Hirshfield. 2002**. A super antigen bioassay to detect staphylococcal enterotoxin A. J. Food Prot. 65(7):1183-1187.

**128. Hennekinne, J. A., M. L. De Buyser, and S. Dragacci. 2012**. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol. Rev. 36:815-836.

**129. Hermier, J., J. Lenoir, and F. Weber. 1992**. Les groupes microbiens d'interet laitier .Edition CEPIU, paris, pp. 62-88.

**130. Holmberg, S. D. and P. A. Blake. 1984**. Staphylococcal food poisoning in the United States: new facts and old misconceptions. JAMA. (J. Am. Med. Assoc.) 251:487-489.

**131. Hovinen, M. and S. Pyörälä. 2011**. Invited review:Udder health of dairy cows in automatic milking J. Dairy Sci. 94 (2).

**132. INSP (**Institut National de Santé Publique). **2015**. Situation épidémiologique de l'année 2015 sur la base des cas déclarés à l'INSP.Relevés épidémiologique Mensuel. Institut National de Santé Publique XXVI.

**133. INVS (Institut National de veille Sanitaire). 2009**. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives Données de la déclaration obligatoire, 2008

**134. INVS. 2012**. Enquête nationale de prévalencedes infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012

**135. INVS. 2019.** surveillance des toxi-infectionsalimentaires collectives (tiac).données de la déclaration obligatoire, 2018.

**136. Holm, C., Jespersen, L. A,.2004**. A flow cytometric technique for quantification and differentiation of bacteria in bulk tank milk J Appl Microbiol. 2004;97(5):935-41.

**137. Jamali, H., M. Paydarb, B. Radmehrc, I. Salmah, and A. Dadrasniaa. 2015.** Prevalence and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus isolated from raw milk and dairy products. . Food Control. 54:383-388.

**138. Jamali, H., B. Radmehrc, and I. Salmah. 2014**. Prevalence and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolated from bovine clinical mastitis. J Dairy Sci. 97:2226-2230.

**139. Janzon, L. and S. Arvidson. 1990**. The role of the delta-lysin gene (hld) in the regulation of virulence genes by the accessory gene regulator (agr) in Staphylococcus aureus. EMBO J.9(5):1391-1399.

**140. Jarraud, S., M. A., Peyrat, A., Lim, A., Tristan, M., Bes, C., Mougel, J., Etienne, F., Vandenesch, M., Boneville,G. Lina. 2001**. Egc,A Highly Prevalent Operon Of Enterotoxin Gene,Froms A Putative Nursery Of Superantigens in Staphylococcus aureus . J Immunol .166:669-677.

**141. Jorgensen, H. J., T., Mork, L. M., Rorvik. 2005.** The Occurrence of Staphylococcus aureus on a Farm with Small-Scale Production of Raw Milk Cheese. J Dairy Sci .88:3810-3817.

**142. Jupin, C., S., Anderson, C., Damais, J. E., Alouf, M., Parant. 1988**. Toxic shock yndrome toxin 1 as an inducer of human tumor necrosis factors and gamma interferon. J. Exp. Med. 167:752-761.

**143. Kadja, M. C. 2010**. Etude des mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers en Afrique de l'Ouest, cas du Sénégal et du Bénin. Thèse de doctorat Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 156 pages.

**144. Kaouche , S., Bouguerra, N., Mesbahi S. 2014** .Prevalence of some pathogenic bacteria of raw milk in Algeria . Archives of Biomedical Sciences; 2 (2): 30-33

**145. Katayama, Y., T. Baba, M. Sekine, M. Fukuda, and K. Hiramatsu. 2013**. Beta-emolysin promotes skin colonization by Staphylococcus aureus. J. Bacteriol. 195:1194-1203.

**146. Kateete, D. P., Kabugo ,U., Baluku, H., Nyakarahuka, L., Kyobe, S., Okee, M., Najjuka ,C. F. ,Joloba, M. L. 2013**. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from milkmen and cows with clinical mastitis in and around kampala, uganda.PloS one, 8(5): e63413

**147. Kawabata, S., T. Morita, S. Iwanaga, and H. Igarashi. 198**5. Staphylocoagulase-Binding Region in Human ProthrombinThe Journal of Biochemistry. 97( 1):325-331.

**148. Kiranmayi, C., N. Krishnaiah, and E. Mallika. 2010.** Escherichia coli O157:H7-An Emerging Pathogen in Foods of Animal Origin. Vet. World .3:382-389.

**149. Knight-Jones, T.J.D., Bernard Hang'ombe, M., Songe, M.M., Sinkala, Y., Grace D. 2016.** Microbial Contamination and Hygiene of Fresh Cow's Milk Produced by Smallholders in Western Zambia. Int. J. Environ.Res. Public Health 13: 737.

**150. Korpysa-Dzirba, W. and J. Osek. 2011**. Identification Of Genes Encoding Classical Staphylococcal Enterotoxins In Staphylococcus Aureusisolated From Raw Milk . Bull Vet Inst Pulawy. 55:55-58.

151. **Kouamé-Sina ,S.M., Bassa, A., Dadie, A., Makita ,K., Dje, M., Bonfoh ,B. 2010**. Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). Revue Africaine de Santé et de Productions Animales, 8(5): 8p.

152. **Kulhankova, K., J. King, and W. Salgado-Pabón. 2014.** Staphylococcal toxic shock syndrome: Superantigen-mediated enhancement of endotoxin shock and adaptive immune suppression. Immunol. Res. 59:182-187.

153. **Ladhani, S., C. L., Joannou, D. P., Lochrie, R. W.,Evans, S. M. Poston. 1999.** Clinical, microbial, and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndromeClin Microbiol Rev .12(2):224-242.

154. **Lammers, A., C. J. V. Vorstenbos, J. H. F. Erkens, and H. E. Smith. 2001**. The major bovine mastitis pathogens have different cell tropisms in cultures of bovine mammary gland cells. Veterinary microbiology. 80(255-265).

155. **Larpent, J. P. 2004**. Listeria. 3e édition ed. Tec & Doc Lavoisier.

156. **Le Loir, Y et Gautier,M. 2010**. Staphylococcus aureus TEC et DOC ed.283p.

157. **Le Minor, L. and M. Véron. 1984**. Bactériologie médicale 2ed.Science Flammarion.773p.

158. **Le Mens,P.,Lefrileux, Y ., Tormo,H.,Vernozy-Round, C .1999**. Staphylococcus aureus's growth in the raw milk and goat cheeses Renc. Rech. Ruminants,6 :299-302

159. **Lee, J. C. 1996.** The prospects for developing a vaccine against Stapphylococcus aureus. 4(4):162-166.

160. **Leonard, F. C. and B. K. Markey. 2008.** Meticillin-resistantStaphylococcus aureus in animals: A review. The Veterinary Journal .The Journal of Biochemistry. 175:27-36.

161. **Levy, S. B., L. M. McMurry, T. M. Barbosa, V. Burdett, P. Courvalin, W. Hillen, M. C. Roberts, J. I. Rood, and D. E. Taylor. 1999**. Nomenclature for new tetracycline resistance determinants. Antimicrob. Agents Chemother. 43:1523-1524.

162. **Liebana, E., A. Carattoli, T. M. Coque, H. Hasman, A. P. Magiorakos, D. Mevius, L. Peixe, L. Poirel, G. Schuepbach- Regula, and K. Torneke. 2012.** The public health risks of enterobacterial isolates producing extended- spectrum β- lactamases (ESBL) or AmpC β-lactamases in food and food - producing animals: an EU perspective of epidemiology, analytica l methods, risk factors and control options. Clinical Infectious Diseases:cis1043.

**163. Lina, G., A. Quaglia, M. E. Reverdy, R. Leclercq, F. Vandenesch J. Etienne. 1999.** Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. Antimicrob Agents Chemother. 43:1062-1066.

**164. Liu, D. 2014**. Manual of Security Sensitive Microbes and Toxins. CRC Press.884p.

**165. Liu, H., S. Li, L. Meng, L. Dong, S. Zhao, X. Lan, J. Wang, and N. Zheng. 2017**. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of Staphylococcus aureusisolated from dairy herds in northern China. J. Dairy Sci. 100:1-8.

**166. Long, J. P., J. Hart, W. Albers, and F. A. Kapral. 1992**. The production of fatty acid modifying enzyme (FAME) and lipase by various staphylococcal species. J. Med. Microbiol. 37:232-234.

**167. Lowy, F. D. 1998**. Staphylococcus aureus Infection. N Engl J Med .339:520-532.

**168. Lowy, F. D. 2003** Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus. J Clin Invest. 111(9):1265-1273.428p.

**169. MADRP. 2017**. Ministre de l'Agriculture et du Développement rural et de la Pêche.

**170. MADR .2017.** Base de données – Direction des Statistiques Agricoles et des Systèmes d'Informations - www.minagri.dz

**171. Magni, M. V. 2010**. Detection of Bacteria, Viruses, Parasites and Fungi: Bioterrorism Prevention. Springer; 2010e édition

**172. Malek, F. 2019**. Bactéries sporulées et biofilms : un problème récurrent dans les lignes de production de lait reconstitué ou recombiné pasteurisé. Can. J. Microbiol. 65:1-16.

**173. Mamache, B., S. Rabehi, and T. Meziane. 2011**. Antibacterial susceptibility profiles of sub-clinical mastitis pathogens isolated from cows in Batna and Setif Governorates (East of Algeria). Vet. World. 4(12):537-541.

**174. Marimuthu, M., F. F. J. Abdullah, K. Mohammed, D. Sangeetha, O. S. Poshpum, L. Adamu, A. Y. Osman, Y. Abba, and A. Tijjani. 2014**. Prevalence and antimicrobial resistance assessment of subclinical mastitis in milk samples from selected dairy farms. American Journal of Animal and Veterinary Sciences. 9(1):65.

**175. Marth, E. H. 1969**. Salmonellae and Salmonellosis Associated with Milk and Milk Products. A Review. J. Dairy Sci. 52(3):283-315.

**176. Martin, M. C., J. M. Fueyo, J. M. Gonzales-Hevia, and M. C. Mendoza. 2004**. Genetic procedure for identification of enterotoxigenic strains of Staphylococcus aureusfrom three food poisoning outbreaks. J Food Microbiol .94:279-286.

**177. Mc Cormick, J. K., J. M. Yarwood, and P. M. Schleivert. 2001**. Toxic shock syndrome and bacterial superantigenes:an update. Annu Rev Microbiol. 55:77-104.

**178. McKlauchlin, J., G. L. Narayann, V. Mithani, and G. Oneill. 1999.** The detection of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin genes in S. aureusby PCR. J Food Protect. 63:479-488.

**179. Mennane, Z., Ouhssine, M., Khedid , K., El Yachioui ,M. 2007**. Hygienic Quality of Raw Cow's Milk Feeding from Domestic Waste in Two Regions in Morocco. Int. J. Agri. Biol.9( 1).

**180. Menestrina, G., M. D. Serra, and G. Prevost. 2001**. Mode of action of beta-barrel pore -forming toxins of the staphylococcal alpha- hemolysine family. Toxicon. 39(11):1661-1672.

**181. Menzies, B. E. 2003**. The role of fibronectin binding proteins in the pathogenesis of Staphylococcus aureus infectionsCurr Opin Infect Dis. 16(3):225-229.

**182. Miles, G., L. Jayasinghe, and H. Bayley. 2006**. Assembly of the Bi-component Leukocidin Pore Examined by Truncation MutagenesisJ Biol Chem. 281(4):2205-2214.

**183. Milojevic, Z., M. Siradovic, D. Marovic, D. Sandor, R. Micic, S. Kojevic, M. Ismailovic, and S. Filipovic. 1988**. Effect of various management systems on udder infections and the occurence of mastitis. . Nauka u Praski .18(2):231-236.

**184. Montanari, C., Serrazanetti , D. I., Pelis, G., Torriani, S., Tabanelli, G., Lanciotti , R., Gardini, F. 2015.** New insights in thermal resistance of staphylococcal strains belonging to the species Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus lugdunensis and Staphylococcus aureus. Food Cont. 605- 612

**185. Munson, S. H., M. T. Tremaine, M. J. Betley, and R. A. Welch. 1998**. Identification and Characterization of Staphylococcal Enterotoxin Types G and I from Staphylococcus aureus. Infect Immun. 66(7):3337-3348.

**186. Murray, R. J. 2005**. Recognition and management of Staphylococcus aureustoxin-mediated disease. Intern Med J .35:S106- S119.

**187. Mustafa, H. S. I. 2014**. Staphylococcus aureus Can Produce Catalase Enzyme When Adding to Human WBCs as a Source of H2O2Productions in Human Plasma or Serum in the Laboratory. Open Journal of Medical Microbiology .4:249-251.

**188. Navarre, W. W. and O. Schneewind. 1999.** Surface proteins of Gram-positive bacteria and mechanisms of their targeting to the cell wall envelope. . Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63:174-229.

**189. Nazari,R. ,Godarzi, H., RahimiBaghi, F.,Moeinrad,M.,2014**. Enterotoxin gene profiles among Staphylococcus aureus isolated from raw milk . IJVR,; 15( 4):409-412

**190. Novick, R. P. and R. Skurry. 1990.** Molecular Biology of the Staphylococci. VCH.Ono, H. K., O. K. I., Y. Iwakabe, D. L. Hu, H. Kato, N. Saito, A. Nakane, T. Uchiyama, and K. Shinagawa. 2008. Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins, types S and T. Infect Immun. 76(11):4999-5005.

**191. O'Connell,, A., Ruegg P. L., Jordan ,K., O'Brien ,B., Gleeson ,D. 2016**. The effect of storage temperature and duration on the microbial quality of bulk tank milk. J. Dairy Sci., 99: 3367 3374.

**192. Ouazzani Taybi, N., Arfaoui , A., Fadli , M. 2014.**Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru dans la région du Gharb, Maroc .international journal of innovation and scientific research. 9 (2) :487-493

**193. Osaili, T. M. A.-N., A. A., A. N. Olaimat, R. R. Shaker, M. Taha, and R. A. Holley. 2014**. Survival of Escherichia coli O157: H7 during manufacture and storage of white brined cheese. J. Food Sci .79:1750-1755.

**194. Otto, M. 2014.** Staphylococcus aureus toxins. . Curr. Opin. Microbiol .17: 32-37.

**195. Patti, J. M., T. Bremell, D. Krajewska-Pietrasik, A. Abdelnour, A. Tarkowski, C. Ryden, and M. Hook. 1994**. The Staphylococcus aureus collagen adhesin is a virulence determinant in experimental septic arrthritis. Infect. Immun. 62:152-161.

**196. Patti, J. M., H. Jonsson, B. Guss, L. M. Switalski, K. Wiberg, M. Lindberg, and M. Hook. 1992.** Molecular characterisation and expression of a gene encoding Staphylococcus aureus collagen adhesin. J. Biol. Chem. 267:4766-4772.

**197. Pesavento, G., B. Ducci, N. Comodo, and A. Lo Nostro. 2007**. Antimicrobial resistance profile ofStaphylococcus aureusisolated from raw meat: A research for methicillin resistant Staphylococcus aureus(MRSA). Food Control. 18:196-200.

198. **Pinheiro, L., C. Ivo Brito, A. de Oliveira, P. Y. F. Martins, V. C. Pereira, and M. de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha. 2015.** Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus haemolyticus:Molecular Detection of Cytotoxin and Enterotoxin Genes. Toxins. 7:3688-3699.

199. **Pinto, B., E. Chenoll, and R. Aznar. 2005**. Identification and typing of food-borne Staphylococcus aureus by PCR based techniques. Syst Appl Microbiol. 28:340-352.

200. **Plassot, L., J. Marly, J. L. Vigier, J. L. Menard, P. Pardon, A. Vallet, and V. Heuchel. 1997**. Contamination du lait de vache par les salmonelles : Etude des conditions d'hygiine et de la contamination des lisiers dans 95 troupeaux livrant un lait non contaminé, étude de I'excrétion mammaire et fécale de salmonelles dans 3 élevages livrant un lait régulierement contaminé Renc. Rech. Ruminants. 4:351 - 354.

201. **Potter, M. E., A. Kaufmann, F., P. A. Blake, and R. A. Feldman. 1984.** Unpasteurized milk:the hazards of a health fetish.. JAMA. 252:2048 - 2052.

202. **Prescott, J. F., J. D. Baggot, and R. D. Walker. 2000.** Antimicrobial drug resistance and its epidemiolog. Iowa State University Press.796p.

203. **Quincampoix, J. C. and J. L. Mainardi. 2001**. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Réanimation. 10:267-275.

204. **Rainard, P. 2005.** Tackling mastitis in dairy cows .Nat Biotechnol .23(4):430-432.

205. **Rajagopal, M., M. J. Martin, M. Santiago, W. Lee, V. N. Kos, T. Meredith, M. S. Gilmore, and S. Walker. 2016.** Multidrug intrinsic resistance factors in Staphylococcus aureusidentified by profiling fitness within high-diversity transposon libraries. MBio .7:e00950-00916.

206. **Ren, K., J. D. Bannan, V. Pancholi, A. L. Cheung, J. C. Robbins, V. A. Fischetti, Z. B., and :. 1994.** Characterization and biological properties of a new staphylococcal enterotoxin. J. Exp. Med. 180:1675- 1683.

207. **Ren, Q., G. Liao, Z. Wu, J. Lv, and W. Chen. 2020**. Prevalence and characterization of Staphylococcus aureusisolates from subclinical bovine mastitis in southern Xinjiang, China. J. Dairy Sci. 103( 4).

208. **Rice, K., R. Peralta, D. Bast, J. de Azavedo, and M. J. McGavin. 2001**. Description of Staphylococcus Serine Protease (ssp) Operon in Staphylococcus aureus and Nonpolar Inactivation of sspA-Encoded Serine ProteaseInfect Immun. 69(1):159–169.

**209. Roberson, J., L. Fox, D. Hancock, J. Gay, and T. Besser. 1994**. Ecology of Staphylococcus aureus isolated from various sites on dairy farms. J. Dairy Sci. 77:3354-3364.

**210. Roberts, M., J. Sutcliffe, P. Courvalin, Jensen, L. B., J. Rood, and H. Seppala. 1999.** Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. Antimicrob Agents Chemother. 43:2823-2830.

**211. Robinson, R. K. 1990.** Dairy Microbiology: Microbiology of Milk Vol 1 Chapman and Hall.765p.

**212. Robinson, R. K. 2002**. Dairy microbiology handbook the microbiology of Milk and Milk products. Third edition ed. Wiley- interscience.302p

**213. Rollof, J., J. H. Braconier , C. Söderström, and P. Nilsson-Ehle. 1988.** Interference of Staphylococcus aureus lipase with human granulocyte function Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis. 7(4):505-510.

**214. Rollof, J., E. Vinge, P. Nilsson-ehlet, and J. H. Braconier. 1992**. The Pathological Society of Great Britain and IrelandAggregation of human granulocytes by Staphylococcusaweus lipase. J. Med. Microbiol. 36:52-55.

**215. Rosec, J. P. and O. Gigaud. 2002**. Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. Int J Food Microbiol .77:61-70.

**216. Rowling, J. K., J. F. Ménard, S. Guilloré-Chotard, A. Camus, V. Grimaldi, E. Massonaud, G. Musso, E. Thuillier, and F. Thilliez. 2010**. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. Saunders; 7e édition.4834p.

**217. Ruppitsch, W., A. Indra, A. Stöger, B. Mayer, S. Stadlbauer, G. Wewalka, and F. Allerberger. 2006**. Classifying spa Types in Complexes Improves Interpretation of Typing Results for Methicillin-Resistant Staphylococcus aureusJ Clin Microbiol. 44(7): 2442-2448.

**218. Saana, M. 1994.** Listériose et contamination du lait et des produits dérivés du lait. Point vét. 26:69-78.

**219. Saidi, R., D. Khelef, and R. Kaidi. 2013**. Subclinical mastitis in cattle in Algeria: Frequency of occurrence and bacteriological isolates. Journal of the South African Veterinary Association. 84(1).

220. **Sanchez, M., K. Flint, and R. N. Jones. 1993**. Occurrence of macrolidelincosamide-streptogramin resistances among staphylococcal clinical isolates at a university medical center. Is false susceptibility to new macrolides and clindamycin a contemporary clinical and in vitro testing problem? Diagn.Microbiol. Infect. Dis. 16:205-203.

221. **Sabour, P. M., J. J. Jill, D. Lepp, J. C. Pacan, R. Ahmed, R. Dingwell, K. Leslie. 2004.** Molecular typing and distribution of Staphylococcus aureus isolates in eastern Canadian dairy herds. J. Clin. Microbiol. 42:3449–3455

222. **Schmitz, F. J., M. Steiert, B. Hofmann, J. Verhoef, U. Hadding, H. P. Heinz, and K. Köhrer. 1998.** Development of multiplex-PCR for direct of genes for enterotoxin B and C, and toxic shock syndrome toxin-1 in Staphylococcus aureusisolates. J. Med. Microbiol. 47(4):335-340.

223. **Schukken ,Y.H., Erb, H.N., Sears, P.M., Smith, R.D. 1988**. Ecologic study of the risk factors for environmental mastitis in cows. Am. J. Vet. Res. 49 : 766-771.

224. **Schwarz, S. et Chaslus-Dancla, E . 2001**.Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. J. Vet. Res. 32:201-225.

225. **Scott Mc Vey, D., M. Kennedy, and m. m. Changappa. 2013.** Veterinary Microbiologie,Third Edition. WILEY-BLACKWELL ed.

226. S**eegers, H., C. Fourichon, and F. Beaudeau. 2003**. Production effects relatedto mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. Vet Res. 34:475-491.

227. **SFM, C. 2009**. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

228. **Shafer, W. M. and J. J. Iandolo. 1978**. Chromosomal locus for staphylococal enterotoxin B. Infect immun. 20:273-278.

229. **Shalita, Z., I. Hertman, and S. Sarid. 1977.** Isolation and characterization of a plasmid involved with enterotoxin B production in Staphylococcus aureus. . J Bacteriol .129:317-325.

230. **Shamila-Syuhada, A. K., G. Rusul, W. A. Wan-Nadiah, and L. O. Chuah. 2016.** Prevalence and antibiotics resistance of Staphylococcus aureus isolates isolated from raw milk obtained from small-scale dairy farms in Penang, Malaysia. Pak Vet J. 36(1):98-102.

**231. Sharma, L., A. K. Verma, A. Kumar, A. Rahat, N. Nigam, and R. Nigam. 2015**. Incidenceand Pattern of Antibiotic Resistance of Staphylococcus aureusIsolated from Clinical and Subclinical Mastitis in Cattle and Buffaloes. Asian J. Anim. Sci .9(3):100-109.

**232. Sheagren, J. N. 1984**. Staphylococcus aureus te persistent pathogen. New Engl.J.Med. 310(21):1368-1373.

**233. Shirtliff, M., J. T. Mader, and A. K. Camper. 2002**. Molecular Interactions in Biofilms. Cell Chemical Biology. 9(8):859-871.

**234. Shopsin, B., M. Gomez, S. O. Montgomery, D. H. Smith, M. waddington, D. E. Dodge, D. A. Bost, M. Riehman, S. Naidich, and B. N. Kreiswirth. 1999**. Evaluation of Protein A Gene Polymorphic Region DNA Sequencingfor Typing of Staphylococcus aureus Strains. Journal Of Clinical Microbiology. 37(11):3556–3563.

**235. Singh, S. 2014**. Dairy Technology Milk and Milk processing. Vol. 1. new india publishing agency.289p.

**236. Sipka, M., S. Zakulas, I. Kovinic, and B. Stajner, 1974,. 1974**. Secretion of Listeria monocytogenes in cows milk and its survival in white brined cheese. in Int. Diary Congr. Proc. 19th IE: 157.

**237. Smith, T. C., W. A. Gebreyes, M. J. Abley, A. L. Harper, B. M. Forshey, M. J. Male, H. W. Martin, B. Z. Molla, S. Sreevatsan, S. Thakur, M. Thiruvengadam, and P. R. Davies. 2013.** Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pigs and farm workers on conventional and antibiotic-free swine farms in the USA. PLoS One. 8(5):e63704.

**238. Smith, J. L., Buchanan ,R. L., Palumbo, S. A, 1982**. Effect of food environment on staphylocaccal enterotoxin synthesis: review. J Food Protection; 46: 545-555.

**239. Song, L., M. R. Hobaugh, C. Shustak, S. Cheley, H. Bayley, and E. J. Gouaux. 1996.** Structure of staphylococcal alpha-hemolysin, a heptameric transmembrane pore. Science. 274:1859-1866.

**240. Soomro, A. H., M. A. Arain, M. Khaskheli, and B. Bhutto. 2003**. Isolation of Staphylococcus aureus from milk products sold at sweet meat shops of Hyderabad. Online J. Biol.Sci. 3(1):91-94.

**241. Sospedra, I., J. Mañes, and J. M. Soriano. 2012**. Report of toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) from Staphylococcus aureusisolated in food handlers and surfaces from food service establishments. Ecotoxicol Environ Saf. 80:288-290.

**242. Srey, S., I. K. Jahid, and S. Ha. 2013.** Biofilm formation in food industries: a food safety concern. Food Control .31:572-585.

**243. Stern, R. and M. J. Jedrzejas 2006**. Hyaluronidases: their genomics, structures, and mechanisms of action. Chemical Reviews. 106( 3):818-839.

**244. Su, Y. C. and A. C. Wong. 1995**. Identification and purification of a new staphylococcal enterotoxin, H. Appl Environ Microbiol. 61(4):1438-1443.

**245. Sudhanthiramani, S., C. S. Swetha, and S. Bharathy. 2015**. Prevalence of antibiotic-resistant Staphylococcus aureusfrom raw milk samples collected from the local vendors in the region of Tirupathi, India. Veterinary World. 8(4):478-481.

**246. Surgalla, M., M. S. Bergdoll, and G. M. Dack. 1953.** Some observations on the assay of staphylococcal enterotoxin by the monkey feeding test. Lab Clin Med. 41(5):782,788

**247. Sutra, L., M. Federighi, and J.-L. Jouve. 1998**. Manel de Bactériologie Alimentaire. POLYTECHNICA .308p.

**248. Sutra, L. and B. Poutlrel. 1994** .Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to Staphylococcus aureus. J. Med. Microbiol. 40:79-89.

**249. Swann, M. M., Baxter, K. L., Field, H. I. , Howie, J.W., Lucas, I.A.M., Millar, E.L.M., Murdoch, J.C., Parsons, J.H., White, E.G, 1969**. Report of the Joint Committee on the Use of Antimicrobials in Animal Husbandry and Veterinary Medicine. CMND. 4190. Published by HMSO.

**250. Tallent, S., J. Hait, R. W. Bennett, and G. A. Lancette. 2016.** BAM Chapter 12: Staphylococcus aureus. in Bacteriological Analytical Manual. USA Food and Drug Administration. Aoac Intl consulté le 31/12/2020, depuis https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus [Google Scholar].

**251. Tarekgne, E. K., T. Skjerdal, S. Skeie, K. Rudi, D. Porcellato, B. Felix, and J. A. Narvhus. 2016.** Enterotoxin Gene Profile and Molecular Characterization of Staphylococcus aureus Isolates from Bovine Bulk Milk and Milk Products of Tigray Region, Northern Ethiopia. Journal of food protection. 79(8):1387-1395.

**252. Taylor, P. R., S. Gordon., L. Martinezpomares. 2005**. The mannose receptor: linking homeostasis and immunity through sugar recognition. TRENDS in Immunology. 26(2):104-110.

253. **Tebaldi, V. M. R. , Oliveira, T .L. ,Boari, C . C. A., Piccoli, R. H., 2008.** Isolamento de coliformes, estafilococose enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeraçã oporexpans ã ocomunitários: identificação, açãolipolítica e proteolítica (Isolation of coliforms, staphylococci, and enterococci in raw milk from communitarian expansion refrigeration tanks: identification, lipolytic and proteolytic action).Ciênc Tecnol. Aliment., Campinas ; 28(3): 753-760.

254. **Thaker, H .C., Brahmbhatt, M. N., Nayak, J. B.,2013**.Isolation and identification of Staphylococcus aureus from milk and milkproducts and their drug resistance patterns in Anand , Gujarat, Vet World;6(1):10-13.

255. **Tessema, F. 2016.** Prevalence and Drug Resistance Patterns of Staphylococcus Aureus in Lactating Dairy Cow's Milk inWolayta Sodo, Ethiopia. EC Veterinary Science. 226-230.

256. **Thaker, H. C., M. N. Brahmbhatt, and J. B. Nayak. 2013**. Isolation and identification of Staphylococcus aureus from milk and milk products and their drug resistance patterns in Anand, Gujarat. Vet. World. 6(1):10-13.

257. **Thakker-Varia, S., W. D. Jenssen, L. Moon-McDermott, M. P. Weinstein, and D. T. Dubin. 1987.** Molecular epidemiology of macrolide-lincosamidestreptogramin B resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci. Antimicrob. Agents Chemother. 31:735-743.

258. **Thakker, M., P. J.S., V. Carey, and J. C. Lee. 1998**. Staphylococcus aureus Serotype 5 Capsular Polysaccharide Is Antiphagocytic and Enhances Bacterial Virulence in a Murine Bacteremia Model. Infect Immun. 66(11):5183–5189.

259. **Tillard, E. 2001**.Etude des facteurs de variation de la qualité du lait en élevages bovins laitiers à la Réunion Renc. Rech. Ruminants.8.

260. **Tirado, C. and K. Schmidt. 2001**. WHO surveillance programme for control of food-borne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe. J Infect. 43:80-84.

261. **Titouche,Y., Hakem, A. , Salmi, D. , Yabrir; B., Chenouf,N., Chergui ,A., Chenouf, A., Houali K. ,2016**. Assessment of microbiological quality of raw milk produced at TiziOuzou area (Algeria). Asian Journal of Animal andVeterinary Advances 11 (12): 854-860.

262. **Tortora, G. J., Funke, B.R., Case, C. L. 2004**. .Microbiologia./an introduction. 8. ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, c2004, 898 p.

263. **Tremblay, Y. D.N., Hathroubi, S., Jacques, M. 2014.** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. Can J Vet Res.78(2): 110–116.

**264. Tremaine, M. T., D. K. Brockman., M. J. Betley. 1993.** Staphylococcal enterotoxin A gene (sea)expression is not affected by the accessory gene regulator (agr). Infect Immun. 61:356-359.

**265. van den Eede, A., A. Martens, K. Floré, O. Denis, F. Gasthuys, F. Haesebrouck, A. Van den Abeele, and K. Hermans. 2013**. MRSA carriage in the equine community: an investigation of horse-caretaker couples. Vet. Microbiol. 163(3-4):313-318.

**266. Verraes, C., G. Vlaemynck, S. Van Weyenberg, L. De Zutter, G. Daube, M. Sindicc, M. Uyttendaele, and L. Herman. 2015**. A review of the microbiological hazards of dairy products made fromraw milk. International Dairy Journal. 50:32-44.

**267. Vignola, C. L. 2002**. science et technologie du lait Transformation du lait. Presses Internationales Polytechniques.600p.

**268. Vlkova, H., V. Babak, I. Vrtkova, D. Cervinkova, D. Marosevic, M. Moravkova, and Z. Jaglic. 2017**. Epidemiology of intramammary infections with Staphylococcus aureusand mastitis streptococci in a dairy cattle herd with a history of recurrent clinical mastitis. Polish Journal of Veterinary Sciences. 20(1):133-139.

**269. Wadström, T., I. Eliasson, I. Holder, and A. Ljungh. 2012.**Pathogenesis of Wound and Biomaterial-Associated Infections.Springer Science & Business Media.750p. .

**270. Walther, C. and V. Perreten. 2007.** Methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis in organic milk production. J Dairy Sci. 90:5351.

**271. Wang, W., X. Lin, T. Jiang, Z. Peng, J. Xu, L. Yi, F. Li, S. Fanning, and Z. Baloch. 2018.** Prevalence and Characterization of Staphylococcus aureus Cultured From Raw Milk Taken From Dairy Cows With Mastitis in Beijing, China. Front. Microbiol .9:1123.

**272. Werckenthin, C., M. Cardoso, M. J. L., and S. Schwarz. 2001**. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine Staphylococcus aureus,porcine Staphylococcus hyicus and Staphylococcus intermedius. Vet Res. 32(3-4):341-362.

**273. Wood, S. C. and M. P. Holsapple. 1993**. Direct suppression of superantigeninduced IgM secretion in human lymphocytes by 2,3,7,8-TCDD. Toxicol Appl Pharmacol .122:308-313.

**274. Wright, J. S., III., R. Jin, and R. P. Novick. 2005**. Transient interference with staphylococcal quorum sensing blocks abscess formation. Proc Natl Acad Sci USA. 102 (5):1691-1696.

**275. Yamasaki, O., J. Kaneko, S. Morizane, H. Akiyama, J. Arata, S. Narita, J. I. Chiba, Y. Kamio, and K. Iwatsuki. 2005a.** The Association betweenStaphylococcus aureus Strains Carrying Panton-Valentine Leukocidin Genes and the Development of Deep-Seated Follicular Infection. CID. 40 (381-385).

**276. Yamasaki, O., T. Yamaguchi, M. Sugai, C. Chapuis-Cellier, F. Arnaud, F. Vandenesch, J. Etienne, and G. Lina. 2005b**. Clinical Manifestations of Staphylococcal Scalded-Skin Syndrome depend on serotypes of exfoliative Toxins. J Clin Microbiol. 43(4):1890-1893.

**277. Zaatout, N., A. Ayachi, and M. Kecha. 2019a**. Epidemiological investigation of subclinical bovine mastitis in Algeria and molecular characterization of biofilm-forming Staphylococcus aureus.Trop Anim Health Prod. 52(1):283-292.

**278. Zaatout, N., A. Ayachi, M. Kecha, and K. Kadlec. 2019b**. Identification of staphylococci causing mastitis in dairy cattle from Algeria and characterization ofStaphylococcus aureus. Journal of Applied Microbiology. 127:1305--1314

**279. Zakary, E. M., M. Z. Nassif, G. M. Mohammed, and G. J. B. Biochem. 2011**. Detection of Staphylococcus aureus in bovine milk and its product by real time PCR assay. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry. 6 4(171-177).

**280. Zmantar, T., K. Chaieb, H. Makni, H. Miladi, F. B. Abdallah, K. Mahdouani, and A. Bakhrouf. 2010.** Detection by PCR of adhesins genes and slime production in clinical Staphylococcus aureus. J. Basic Microbiol .48:308-314.

# Annexes

**Annexe 1 :** Tableau pour interprétation des disques d'antibiotique

### Interprétation des disques

Les valeurs critiques des diamètres zones d'inhibition de l'antibiogramme selon le CLSI (clinical and laboratory standards institute)

| | | Diamètres critiques (mm) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Résistant | Intermédiaire | Sensible |
| **β-lactamines :** | | | | |
| Pénicilline | 10 UI | ≤28 | --- | ≥29 |
| Oxacilline* | 5µg | | | ≥20 |
| Cefoxitine | 30µg | ≤19 | --- | ≥20 |
| **Aminosides :** | | | | |
| Gentamicine | 10µg | ≤12 | 13-14 | ≥15 |
| Kanamycine | 30µg | ≤14 | 15-16 | ≥17 |
| **Macrolides :** | | | | |
| Erythromycine | 15µg | ≤13 | 14-22 | ≥23 |
| Lincosamine* | 2µg | ≤14 | 15-20 | ≥21 |
| **Glycopeptides :** | | | | |
| Vancomycine | 30µg | ---- | --- | ≥15 |
| Teicoplanine | 30µg | ≤10 | 15-17 | ≥14 |
| **Quinolones :** | | | | |
| Ofloxacine | 5µg | ≤14 | | ≥18 |
| **Autres :** | | | | |
| Cotrimoxazole | | ≤10 | 11-15 | ≥16 |
| Rifampicine | 15µg | ≤16 | 17-19 | ≥20 |
| Tétracycline | 30µg | ≤14 | 15-18 | ≥19 |
| Fosfomycine | 30µg | ≤12 | 13-17 | ≥18 |
| Acide fusidique* | 10µg | <15 | --- | >22 |

*Ces zones critiques correspondent aux valeurs de la SFM : société Française de microbiologie.
** Ces zones critiques ont été établis selon [**Finaly et al., 1997**].

**Annexe 2 :**Extrait du Journal Officiel relatif à fixation du seuil de contamination du lait cru par les SCP.

| Catégories des denrées alimentaires | Micro-organismes/ métabolites | Plan d'échantillonnage | | Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | n | c | m | M |
| Lait cru | Germes aérobies à 30 °C | 5 | 2 | $3.10^5$ | $3.10^6$ |
| | Staphylocoques à coagulase + | 5 | 2 | $10^2$ | $10^3$ |
| | Coliformes thermotolérants | 5 | 2 | $5.10^2$ | $5.10^3$ |
| | *Salmonella* | 5 | 0 | Absence dans 25 ml | |
| | Antibiotiques | 1 | – | Absence dans 1 ml | |
| | *Listeria monocytogenes* | 5 | 0 | 100 | |
| Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés | Germes aérobies à 30 °C | 5 | 2 | $10^4$ | $10^5$ |
| | Enterobacteriaceae | 5 | 0 | 10 | |
| | *Salmonella* | 5 | 0 | Absence dans 25 ml | |
| Lait UHT et lait stérilisé | Germes aérobies à 30 °C | 5 | 0 | 10/0.1 ml | |
| Lait en poudre et lactosérum en poudre | Enterobacteriaceae | 5 | 2 | 10 | $10^2$ |
| | Staphylocoques à coagulase + | 5 | 2 | 10 | $10^2$ |
| | *Salmonella* | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| Fromages au lait cru | *Escherichia coli* | 5 | 2 | $10^4$ | $10^5$ |
| | Staphylocoques à coagulase + | 5 | 2 | $10^3$ | $10^4$ |
| | *Salmonella* | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| | *Listeria monocytogenes* | 5 | 0 | 100 | |
| Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation | *Escherichia coli* | 5 | 2 | $10^2$ | $10^3$ |
| | Staphylocoques à coagulase + | 5 | 2 | $10^2$ | $10^3$ |
| | *Salmonella* | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| | *Listeria monocytogenes* | 5 | 0 | 100 | |
| Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation | *Escherichia coli* | 5 | 2 | $10^2$ | $10^3$ |
| | Staphylocoques à coagulase + | 5 | 2 | 10 | $10^2$ |
| | *Salmonella* | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| | *Listeria monocytogenes* | 5 | 0 | 100 | |
| Crème au lait cru | *Escherichia coli* | 5 | 2 | $10^2$ | $10^3$ |
| | Staphylocoques à coagulase + | 5 | 2 | $10^3$ | $10^4$ |
| | Salmonella | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| | *Listeria monocytogenes* | 5 | 0 | 100 | |