

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur

et la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



THESE

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

En Sciences Vétérinaires

Thème :

**Isolement et caractérisation des souches de
Staphylococcus aureus (SARM et SASM) isolées
à partir de carcasses de volaille.**

Soutenue le 30/09/2019

Présentée par : **Dr MEBKHOUT Faiza**

Membres du jury :

Ait Oudhia K	Professeur	Présidente	ENSV-Alger
Ramdani- BOUGUESSA Nadjia	Professeur	Directrice	CHU- Mustapha Bacha –Alger
HAMDI Taha Mossadak	Professeur	Co-directeur	ENSV-Alger
EL GROUD Rachid.	MCA	Examineur	U.Constantine
DIB Amira	MCA	Examinatrice	U.Constantine
BOUAYAD Leila	MCA	Examinatrice	ENSV-Alger

Année universitaire : 2018/2019

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur

et la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



THESE

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

En Sciences Vétérinaires

Thème :

**Isolement et caractérisation des souches de
Staphylococcus aureus (SARM et SASM) isolées
à partir de carcasses de volaille.**

Soutenue le 30/09/2019

Présentée par : **Dr MEBKHOUT Faiza**

Membres du jury :

Ait Oudhia K	Professeur	Présidente	ENSV-Alger
Ramdani- BOUGUESSA Nadjia	Professeur	Directrice	CHU- Mustapha Bacha –Alger
HAMDI Taha Mossadak	Professeur	Co-directeur	ENSV-Alger
EL GROUD Rachid.	MCA	Examineur	U.Constantine
DIB Amira	MCA	Examinatrice	U.Constantine
BOUAYAD Leila	MCA	Examinatrice	ENSV-Alger

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Avant tout, je tiens à remercier DIEU de m'avoir donné le courage et la force d'achever ce travail.

Je remercie Pr Ait Aoudia qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.

Je tiens à remercier également Madame BOUAYED LEILA, Madame DIB AMIRA et Monsieur EL GROUD RACHID qui ont accepté de faire partie de notre jury de thèse.

Je remercie mon promoteur : Madame RAMDANI NADJIA BOUGUESSA qui a accepté de m'encadrer.

Je tiens tout particulièrement à remercier mon co-promoteur: Pr. HAMDI TAHA MOSSADDEK, pour son aide, sa patience, sa disponibilité, ainsi que ses encouragements, et son suivi attentif.

Je remercie également Monsieur CANTÉKIN et monsieur ERGUN pour m'avoir accueilli dans le laboratoire de microbiologie à l'Université Mustafa Kemal en Turquie.

Je tiens à remercier vivement Mme MERABTÈNE Samira pour son aide, sa disponibilité et ses conseils, ainsi que tout le personnel de l'Institut Pasteur.

Mes remerciements les plus sincères vont également à mon amie OUA TOUAT FAIZA Pour l'aide précieuse qu'elle m'a apportée, sa disponibilité, ses conseils, son soutien et sa participation judicieuse pour réaliser ce travail.

En guise de reconnaissance, je tiens également à remercier mes amis ZENIA Safia, NOUICHI Sihem, SAIDJ Dhiya, ABDELLAOUI Lynda SID Sihem, Louiza, ABDESSALEM Leila, GUALLACHE Loubna, MEZALI Lynda, MAATALLAH Asma, BOUDJELABA Sofiane, BEHAR Omar, ROMAÏSSA, qui, par leur aide, leurs conseils, leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements les plus sincères et ma profonde gratitude au personnel de la DPCR de l'ENSV et particulièrement aux madame Nora, Madame Hafida, monsieur BOUKARA.

Dédicaces

A mes parents, qu'ils trouvent ici la récompense de tous les efforts consentis pour permettre à leurs enfants de poursuivre de longues études.

A mes frères et mes sœurs

A mes grands parents, mes oncles et tantes.

A mes amies et camarades.

ملخص

في هذه الدراسة , قمنا بتقييم الجودة البكتريولوجية لهياكل الدواجن , و حددنا انتشار و مقاومة المضادات الحيوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة و الكشف عن الجينات المشفرة للسموم المعوية للمكورات العنقودية الكلاسيكية , (A , B , C , D , E) باستخدام سلسلة تفاعل البلمرة المتعدد.

1280 عينة من هياكل الدواجن تم جمعها خلال الفترة الممتدة ما بين (2012-2013) من مؤسسات ذبح مختلفة في منطقة الجزائر . اظهرت النتائج ان نسبة معدل الانتشار الكلي للمكورات العنقودية الذهبية في هياكل الدواجن المذبوحة الطازجة هي 24,45 % مع تعداد $5.57 \log_{10} \text{ UFC / g}$.

كما كشفت نتائج اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية للسلاطات التي تم دراستها عن اعلى نسبة مقاومة للمكورات العنقودية الذهبية للتيتراسيكلين 74.62 % , 62.31 % اريثروميسين , 45.38 % بنسيلين , 41.54 % اوفلوكساسين.

في هذه الدراسة تبلغ نسبة السلاطات ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية 65% , استخدام سلسلة تفاعل البلمرة المتعدد اظهر ان من بين 95 سلالة من المكورات العنقودية الذهبية 82 كانت *fem A* ايجابية (% 86,32) . عند الدجاج كما تم اكتشاف *seb* في 13.33% من السلاطات و *sed* في 1.67% . بينما في سلاطات الديك الرومي تم اكتشاف فقط (*sed*) بنسبة 4.55% .

في الختام تمثل المكورات العنقودية الذهبية المتواجدة في هياكل الدجاج خطر كبير على صحة الانسان . خاصة بوجود سلاطات ايجابية *seb* و نسبة عالية من السلاطات متعددة المقاومة للمضادات الحيوية .

الكلمات المفتاحية : المكورات العنقودية الذهبية , هياكل الدواجن , السموم المعوية للمكورات العنقودية , متعددة المقاومة , الجزائر .

Résumé

Dans cette étude, nous avons évalué la qualité bactériologique des carcasses de volaille, nous avons également déterminé la prévalence et la résistance aux antibiotiques des *Staphylococcus aureus* isolées ainsi que la détection des gènes codants pour les entérotoxines staphylococciques classiques A, B, C, D et E (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* et *see*) en utilisant la multiplex PCR. Un total de 1280 échantillons de peau du cou provenant de carcasses de volaille ont été collectés au cours de la période 2012-2013 à partir de différents établissements d'abattage situés dans la région d'Alger. La prévalence globale de *S.aureus* dans les carcasses de volaille fraîchement abattues était de 24,45%, avec un dénombrement de 5,57 log₁₀ UFC / g. Les résultats de l'antibiogramme des souches étudiées, ont révélé le plus haut pourcentage de résistance de *S.aureus* à la tétracycline (74,62%) érythromycine (62,31%), à la pénicilline (45,38%) et à l'ofloxacine (41, 54%). Dans la présente étude, le pourcentage de souches de résistance multiple est de 65%.

82 souches de *S.aureus* sur 95 (86,32%) étaient *femA* positives. Chez le poulet *seb* a été détecté dans 13,33% des souches et *sed* dans 1,67%, tandis que dans les souches provenant de dinde, seul le *sed* a été détecté (4,55%).

En conclusion, *S.aureus* provenant de carcasses de volaille représente un risque non négligeable pour la santé humaine, notamment par la présence de souches positives au *seb* et un pourcentage élevé de multirésistance des isolats.

Mots-clés: *Staphylococcus aureus*, Carcasses de volailles, Entérotoxines staphylococciques, multirésistance, Alger.

Abstract

In this study, we evaluated the microbiological quality of poultry carcasses, we also determined the prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* on poultry carcasses and determined the presence of classical staphylococcal enterotoxins genes A, B, C, D and E (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* and *see*) using multiplex PCR. A total of 1280 neck skin samples from fresh poultry carcasses were collected during the period 2012-2013 from different slaughterhouses located in the region of Algiers, Algeria. SCP was denombred and *S.aureus* was isolated using selective isolation methods. The overall prevalence of *S.aureus* in freshly slaughtered poultry carcasses was 24.45% with count of 5.57 log₁₀ CFU/g. The antibiogram's results of *S.aureus* poultry strains have revealed the highest percentage of resistance of *S.aureus* isolates to the tetracycline (74,62%) erythromycin (62,31%), penicillin (45,38%) and ofloxacin (41,54%). In the present study, the percentage of multiple resistance strains was 75.6%.

82 out of 95 (86.32%) poultry strains of *S.aureus* isolates were *femA* positive. In chicken *seb* was present in 13.33% of the strains and *sed* in 1.67% of the strains, while in turkey strains, only *sed* was detected (4.55%).

In conclusion, *S.aureus* from poultry carcasses represents a not negligible health risk, especially by the presence of *seb* positive strains and a high percentage of multiresistance of the isolates.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Poultry carcasses, Staphylococcal enterotoxins, multiresistance, Algiers.

Sommaire

	Page
Synthèse bibliographique	
Chapitre I :	
I. Historique	4
II. Taxonomie.....	4
III. Caractères généraux.....	6
III.1. Caractères morphologiques.....	6
III.2. Caractères biochimiques.....	6
III.3. Caractères culturels	7
IV. Habitat et portage chez l'homme et les animaux.....	7
V. Isolement et identification	8
V.1. isolement	8
V.2. Identification.....	9
VI. Pouvoir pathogène.....	9
IV.1. Infections suppuratives staphylococciques.....	10
IV.2. Infections toxiques staphylococciques	10
VII. Maladies et Symptômes chez la volaille.....	10
VII.1. Atteinte articulaire.....	10
VII.2. Septicémie.....	11
VII.3. Omphalite.....	11
VIII. Résistance aux antibiotiques.....	11
VIII.1. Résistance naturelle	11
VIII.2. Résistance acquise.....	12
VIII.2.1. Résistance aux β -lactamines.....	12
VIII.2.2. Résistance à la méticilline.....	13
VIII.2.2.a. Mécanismes de résistance à la méticilline	14
VIII.2.2.b. Support de résistance.....	15
VIII.2.2.c. Détection de la résistance à la méticilline.....	16
VIII.2.2.d. Gènes de résistance utile pour la détection de l'antibiorésistance	17
VIII.2.3. Résistance à la pénicilline G.....	17
VIII.2.4. Résistance à la vancomycine	18
VIII.2.4.a. Mécanismes de la résistance.....	19
VIII.2.5. Résistance aux aminosides.....	20
VIII.2.5.a. Mécanisme de résistance	20
VIII.2.6. Résistance aux fluoroquinolones.....	21
VIII.2.6.a. Mécanisme de résistance	21
VIII.2.7. Résistance aux sulfamides.....	21
VIII.2.7.a. Mécanisme d'action des sulfamides en association ou non	22
avec le triméthoprim ou la pyriméthamine.....	
VIII.2.7.b. Mécanisme de résistance des <i>S.aureus</i> envers la	22
combinaison triméthoprim /sulfaméthaxazole.....	
VIII.2.8. Résistance aux tétracyclines.....	22
VIII.2.8.a. Mécanisme d'action des tétracyclines	23
VIII.2.8.b. Mécanisme de résistance	23
VIII.2.9. Résistance aux rifamycines.....	23
VIII.2.9.a. Mécanisme d'action.....	23
VIII.2.9.b. Mécanisme de résistance.....	24
VIII.2.10. La résistance à la fosfomycine.....	24
VIII.2.10.a. Mécanisme d'action	24
VIII.2.10.b. Mécanisme de résistance	24

VIII.2.11. Résistance à l'acide fusidique.....	24
VIII.2.11.a. Mécanisme d'action.....	25
VIII.2.11.b. Mécanisme de résistance	25
VIII.2.12. Résistance aux macrolides.....	25
VIII.2.12.a. Mécanisme d'action	25
VIII.2.12.b. Mécanisme de résistance	26
Chapitre II	
I. Entérotoxines staphylococciques.....	27
I.1. Croissance de <i>S. aureus</i> et toxinogénèse.....	27
I.2. Caractéristiques des entérotoxines	27
I.3. <i>Staphylococcus aureus</i> et sécurité des aliments	29
I.4. Localisation et régulation des gènes des entérotoxines staphylococciques	31
I.5. Modes d'action des entérotoxines	32
II. Techniques de détection des entérotoxines.....	34
II.1. Techniques biologiques.....	34
II.2. Techniques immunochimiques.....	34
II.3. Techniques de biologie moléculaire.....	35
II.3.1. Rappels sur la PCR	35
II.3.2. Principe de base d'une PCR.....	36
II.3.3. Composantes da PCR.....	36
II.3.3.a. Matrice.....	36
II.3.3.b. Amorces.....	36
II.3.3.c. dNTP (desoxynucleotide triphosphate).....	37
II.3.3.d. Cofacteur.....	37
II.3.3.e. Tampon.....	37
II.3.3.f. Enzyme Taq polymérase.....	37
III. Etapes de l'amplification PCR.....	37
III.1. PCR classique.....	37
III.1.a. Mélange réactionnel et cycles de température.....	37
III.1.a.1. Dénaturation de la matrice.....	37
III.1.a.2. Hybridation des amorces.....	38
III.1.a.3. L'élongation.....	38
III.1.b. Electrophorèse sur gel d'agarose.....	39
III.2. La multiplex PCR pour la détection des gènes codants pour les entérotoxines	40
.....	
Chapitre III	
I. Structures d'abattage.....	42
II. Description du procédé d'abattage des volailles.....	42
II.1. Repos et diète hydrique.....	42
II.2. Accrochage	42
II.3. Étourdissement	42
II.4. La saignée.....	42
II.4.1. Abattage à la main	43
II.4.2 Abattage mécanique	43
II.5. Echaudage	43
II.6. La plumaison.....	43
II.7. Eviscération	43
II.7.1. Eviscération partielle ou effilage	43
II.7.2. Eviscération totale.....	43
II.8. Lavage.....	44

II.9. Ressuage	44
III. Contamination des carcasses de volailles dans les établissements d'abattage	
III.1. Influence des opérations d'abattage sur la contamination des carcasses de volailles par <i>S. aureus</i>	44
III.1.1. Echaudage	44
III.1.2.	45
Plumaison.....	
III.1.3. Eviscération	45
III.1.4. Lavage	45
III.1.5. Refroidissement.....	45
III.1.5.1. Refroidissement dans l'eau à contre-courant.....	46
III.1.5.2 Refroidissement par air ventilé	46
III.1.6. Conditionnement	46
III.2. Contamination post-mortem	46
III.2.1. L'homme	47
III.2.2. Matériels et équipements	47
III.3 Origine endogène	47
III.3.1. Les animaux	47
Partie expérimentale	
I. Description des procédés d'abattage des établissements étudiés	48
1.1 Etablissement d'abattage traditionnel	48
1.2 Etablissement d'abattage industriels et semi industriels.....	49
1.2.a. Réception et accrochage des volailles	49
1.2.b. Abattage.....	49
1.2.c. Plumaison	49
1.2.d. Eviscération.....	50
1.2.e. Récupération des carcasses et ressuage	50
II .Matériels et Méthodes	50
II.1. Cadre de l'étude.....	50
II.1.1. Répartition des établissements d'abattage de la wilaya d'Alger.....	50
II.2. Echantillonnage	51
II.2.1. Sélection des établissements d'abattage.....	51
II.2.2. Visites réalisées.....	53
II.2.3. Distribution de l'échantillonnage.....	54
II.2.3.a) Distribution de l'échantillonnage en fonction de l'activité des établissements.....	54
II.2.3.b) Distribution de l'échantillonnage en fonction de la saison.....	55
II.2.3.c) Distribution de l'échantillonnage par mois.....	56
II.2.4. Questionnaire	57
II.3. Méthode	57
II.3.1.Technique de Prélèvement	57
II.3.1.1. Conservation et transport des prélèvements	57
II.3.2. Matériels d'analyses et milieux de culture	58
II.3.3. Méthodes d'analyses bactériologiques.....	58
II.3.3.1. Préparation des solutions mères et des dilutions décimales	60
II.3.3.2. Recherche et dénombrement des staphylocoques à coagulase positive	60
II.3.3.2.1. Ensemencement	60
II.3.3.2.2. Incubation	60
II.3.3.2.3. Identification des colonies.....	60

11.3.3.2.4. Identification biochimique	61
a) Test de catalase.....	61
b) Test de coagulase.....	61
11.3.3.2.5. Expression des résultats	62
11.3.3.3. Purification des souches	63
11.3.3.4. Identification des <i>S.aureus</i> par le test rapide d'agglutination	63
11.4. Caractérisation des phénotypes de résistance.....	63
11.4.1. Préparation de l'inoculum	63
11.4.2. Ensemencement des boîtes	64
11.4.3. Application des disques d'antibiotiques	64
11.4.4. Lecture	64
11.4.5. Recherche de la résistance des staphylocoques à la méticilline	65
11.4.6. Conservation des souches.....	65
11.5. Caractérisation moléculaire des souches	65
11.5.1. Sélection des souches pour la caractérisation moléculaire	65
11.5.2. Extraction de l'ADN génomique	66
11.5.2.1. Lyse des souches	66
11.5.2.2. Extraction de L'ADN.....	66
11.5.2.3. Précipitation et purification de l'ADN.....	67
11.5.3. Amplification de l'ADN	67
11.5.3.1. Préparation des mélanges réactionnels (Préparation du MIX).....	67
11.5.3.2. Réalisation de l'amplification	69
11.5.3.3. Révélation des fragments amplifiés	70
11.5.3.3.1. Préparation du gel	71
11.5.3.3.2. Dépôts des amplifiants et migration	71
11.5.3.3.3. Révélation des amplifiants	72
11.6. Analyses statistiques	73
Résultat	
I. Résultat de l'enquête.....	74
1.1. Les caractéristiques générales liées aux établissements d'abattage.....	74
1.2. Les caractéristiques liées aux pratiques et procédés existants	76
1.3. Les conditions d'hygiène.....	80
II Résultat du dénombrement de staphylocoques à coagulase positive (SCP) sur les carcasses de volailles fraîchement abattues.....	81
11.1.Taux de contamination globale des carcasses de volailles par les SCP.....	81
11.2. Appréciation qualitative globale des niveaux de contamination des carcasses de volailles.....	82
11.3.Etude des facteurs de variation de la contamination des carcasses de volailles par les SCP.....	83
11.3.1. Facteurs liés à l'espèce animale	83
a) Taux de contamination des carcasses de volailles par espèce animale étudiée.....	83
b) Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles par espèce animale étudiée.....	84
11.3.2. Facteurs liés à la saison.....	85
a) Influence de la saison sur le taux de contamination des carcasses de volailles.....	85
b) Influence de la saison sur la qualité hygiénique des carcasses de volailles.....	86
11.3.3. Facteurs liés aux établissements d'abattage	87

a) Evaluation du taux de contamination des carcasses de volailles par les SCP en fonction de l'activité des établissements d'abattage.	87
b) Appréciation qualitative de contamination des carcasses des volailles en fonction de l'activité des établissements d'abattage	88
II.4. Etude des facteurs de variation de la charge bactérienne chez le poulet de chair.....	89
II.4.1. Variation de la contamination des carcasses de poulet par saison.....	89
a) Evaluation des taux de contamination des carcasses de poulet par saison.....	89
b) Appréciation qualitative de contamination des carcasses de poulet par saison.....	90
II.4.2. Variations de la contamination des carcasses du poulet liées aux établissements d'abattage.....	92
a) Evaluation des taux de contamination des carcasses du poulet par établissement d'abattage.....	92
b) Appréciation de la qualité de contamination des carcasses de poulet par les SCP par établissement d'abattage.....	93
c) Evaluation des taux de contamination des carcasses de poulet par type d'abattage	94
d) Appréciation de la qualité de contamination des carcasses de poulet par les SCP par type d'abattage.....	96
e) Evaluation de taux de contamination des carcasses de poulet par les SCP en fonction de l'activité des établissements d'abattage.....	97
f) Appréciation qualitative de la contamination des carcasses de poulet par les SCP en fonction de l'activité des établissements d'abattage.....	98
II.5. Etude des facteurs de variations de la contamination des carcasses de dinde.....	99
II.5.1. Variation de la contamination des carcasses de dinde par saison.....	99
a) Taux de contamination des carcasses de dinde par les staphylocoques à coagulase positive en fonction de la saison.....	99
b) Appréciation qualitative de la contamination des carcasses de dinde en fonction de la saison.....	100
II.5.2. Variations de la contamination des carcasses de dinde liées aux établissements d'abattage.....	101
a) Taux de la contamination des carcasses de dinde par établissement d'abattage.....	101
b) Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de dinde par les SCP en fonction de l'établissement d'abattage.....	102
c) Evaluation de taux de contamination des carcasses de dinde par les staphylocoques à coagulase positive en fonction de l'activité (mixte ou unique).....	103
d) Appréciation qualitative globale des niveaux de contamination des carcasses de dinde en fonction de l'activité des établissements d'abattage.....	104
III. Résultat de l'étude de la prévalence de <i>S.aureus</i> isolé des carcasses de volailles.	105
III.1. Prévalence globale de la contamination des carcasses de volailles par <i>Staphylococcus aureus</i>	105
III.2. Facteurs de variation de la prévalence de <i>S.aureus</i> dans les carcasses de volailles.....	106

a)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de volailles par <i>S.aureus</i> , en fonction de l'espèce animale.....	106
b)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de volailles par <i>S.aureus</i> en fonction de la saison.....	107
c)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de volailles par <i>S.aureus</i> liées à l'activité des établissements d'abattage.....	108
III.3.	Facteurs de variation de la prévalence de <i>S.aureus</i> dans les carcasses de poulet.....	109
a)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de poulet par <i>S.aureus</i> en fonction de la saison.....	109
b)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de poulet par <i>S.aureus</i> par établissement d'abattage.....	110
c)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de poulet par <i>S.aureus</i> en fonction de l'activité des établissements.....	111
d)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de poulet par <i>S.aureus</i> en fonction de type d'établissement d'abattage.....	112
III.4.	Facteurs de variation de la prévalence de <i>S.aureus</i> dans les carcasses de dinde.....	113
a)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de dinde par <i>S.aureus</i> en fonction de la saison.....	113
b)	Variations de la prévalence de contamination des carcasses de dinde par <i>S.aureus</i> en fonction de l'établissement d'abattage.....	114
IV.	Facteurs de risque liés à la contamination des carcasses de volailles.....	115
a)	Relation entre les prévalences de <i>S.aureus</i> sur les carcasses et les principaux facteurs de risques identifiés.....	115
b)	Relation entre les lots non conformes et principaux facteurs de risques identifiés.....	117
V.	Etude de la sensibilité des souches de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	118
V.1.	Sensibilité des souches de <i>S.aureus</i> isolées à partir de carcasses de volailles.....	118
V.2.	Profils de résistances des souches isolées de carcasses de volailles.....	119
VI .	Résultats de l'étude moléculaire.....	122
VI.1.	Confirmation des souches par PCR.....	122
VI.2.	Caractères toxinogènes des souches de staphylocoques isolées.....	123
VI.2.1.	Toxinogénicité des souches de staphylocoques isolées.....	123
VI.2.2.	Typage moléculaire des entérotoxines.....	124
Discussion		
1.	Les dénombrements des SCP.....	126
2.	Prévalence des <i>S.aureus</i>	128
3.	Etude des facteurs de risque.....	130
3.1.	Facteurs liés aux animaux.....	130
3.2.	Facteurs de risque liés aux procédés d'abattage	130
4.	Sensibilité aux antibiotiques	132
5.	Caractère toxigène des souches de <i>S.aureus</i> isolées	133
6.	Typage des enterotoxines	134
Conclusion	136
Perspectives		137

Liste des tableaux	Page
Tableau 1 : Classification des espèces et sous-espèces des Staphylocoques	5
Tableau 2: Caractéristiques biochimiques importantes communes à <i>Staphylococcus aureus</i> et à d'autres espèces de staphylocoques	7
Tableau 3 : Oligonucléotides de détection des gènes de résistance	17
Tableau 4 : Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse de <i>S.aureus</i>	27
Tableau 5 : Propriétés des entérotoxines A à J de <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Tableau 6 : Doses d'entérotoxines staphylococciques ayant induit une réaction émétique dans des cas de TIAC ou d'essais sur animaux	31
Tableau 7: Support génétique de certaines entérotoxines staphylococciques	31
Tableau 8: Activité des établissements d'abattage retenus.	52
Tableau 9 : Nombre de visites fixées par établissement d'abattage pour les prélèvements du poulet.	53
Tableau 10 : Nombre de visites fixées par établissement d'abattage pour les prélèvements de la dinde	53
Tableau 11: Distribution de l'échantillonnage par activité des établissements.	54
Tableau 12 : Distribution de l'échantillonnage par saison.	55
Tableau 13: Distribution de l'échantillonnage par mois	56
Tableau 14: Propriétés des amorces utilisées dans cette étude.	68
Tableau15 : Mix pour amplification des gènes codants pour les entérotoxines	68
Tableau 16: Caractéristiques des établissements d'abattage	74
Tableau 17 : Description des étapes de procédés d'abattage	77
Tableau 18 : Les conditions d'hygiène des établissements étudié.	80
Tableau 19: Moyenne des dénombrements des SCP dans les carcasses de volailles	81
Tableau 20: Appréciation qualitative globale des niveaux de contamination des carcasses de volailles par les SCP	82
Tableau 21: Moyennes générales en \log_{10} UFC/g des dénombrements des SCP chez le poulet et la dinde	83
Tableau 22 : Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles par espèce animale	84
Tableau 23: Charges moyennes des carcasses de volailles par les SCP par saison	85
Tableau 24: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles par les SCP par saison	86
Tableau 25 : Charges moyennes des carcasses de volailles par les SCP en fonction des établissements d'abattage	87
Tableau 26: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles par les SCP en fonction de l'activité de l'établissement d'abattage	88
Tableau 27 : Moyennes générales des dénombrements des SCP chez le poulet en fonction de la saison	90
Tableau 28: Appréciation des classes de contamination des carcasses de poulet par saison	90
Tableau 29: Taux de contamination des carcasses de poulet par les SCP par établissement d'abattage en $\text{Log}_{10}\text{UFC/g}$.	92
Tableau 30: Appréciation des classes de contamination des carcasses de poulet de chair par établissement d'abattage	93
Tableau 31 : Charges moyennes des carcasses de poulet liées au type d'abattage	95

Tableau 32 : Appréciation des niveaux de la contamination des carcasses de poulet en fonction du type d'abattage	96
Tableau 33: Moyennes générales des dénombrements des SCP chez le poulet en fonction de l'activité de l'établissement.	97
Tableau 34: Appréciation qualitative des niveaux de la contamination des carcasses de poulet en fonction de l'activité des établissements d'abattage	98
Tableau 35: Comparaison des moyennes des niveaux de contamination des carcasses de dinde selon les saisons	99
Tableau 36: Appréciation qualitative de la contamination des carcasses de dinde par les SCP en fonction de la saison	100
Tableau 37: Comparaison des moyennes de dénombrement des SCP dans les carcasses de dinde par établissement d'abattage.	101
Tableau 38: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de dinde par établissement d'abattage.	102
Tableau 39: Comparaison des moyennes de dénombrement des SCP dans les carcasses de dinde en fonction de l'activité des établissements d'abattages	103
Tableau 40: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de dinde en fonction de l'activité des établissements d'abattage	104
Tableau 41 : Prévalence globale de <i>Staphylococcus aureus</i> isolé sur les carcasses de volailles	105
Tableau 42: Prévalences moyennes de contamination des carcasses de volailles par espèce animale	106
Tableau 43 : Prévalences moyennes de contamination des carcasses de volailles par saison.	107
Tableau 44 : Prévalence de <i>S.aureus</i> dans les carcasses de volailles en fonction de type d'établissement d'abattage	108
Tableau45 : Prévalences moyennes de contamination des carcasses de poulet par <i>S.aureus</i> en fonction de la saison	109
Tableau 46: Prévalences moyennes de contamination des carcasses de poulet par les staphylocoques en fonction des établissements d'abattage	110
Tableau 47: Prévalence moyenne de contamination des carcasses de poulet en fonction de l'activité des établissements d'abattage	111
Tableau N° 48: Prévalence moyenne de contamination des carcasses de poulet par <i>S.aureus</i> en fonction du type d'établissement d'abattage	112
Tableau 49: Prévalence des <i>S.aureus</i> dans les carcasses de dinde par saison	113
Tableau 50: Prévalences moyennes de contamination des carcasses de dinde par <i>S.aureus</i> en fonction des Daïras	114
Tableau 51 : Facteurs significativement associés à la présence de <i>S. aureus</i> sur les carcasses du poulet	116
Tableau 52 : Facteurs associés à la contamination des carcasses de poulet	117
Tableau 53: Représentation de la résistance globale des souches isolées à partir de carcasses de volailles	118
Tableau 54 : Profils de résistance des souches isolées à partir de carcasses de volaille	120
Tableau 55: Confirmation des isolats par multiplex PCR	122
Tableau 56: Caractères toxigènes des souches de <i>S. aureus</i> confirmées par PCR	123
Tableau 57: Distribution des entérotoxines classiques des <i>S.aureus</i> d'origine aviaire	124

Liste des figures

Figure 1 : Coques de <i>Staphylococcus aureus</i> disposées en grappes de raisins ; micrographie électronique à balayage	6
Figure 2 : Bases génétiques et biochimiques de la résistance de <i>S. aureus</i> à la méticilline	16
Figure 3: Illustration schématique de la PCR	39
Figure 4: Réaction PCR	
Figure 5 : Répartition géographique des établissements d'abattage étudiés	51
Figure 6: Distribution de l'échantillonnage par activité des établissements	54
Figure 7 : Distribution de l'échantillonnage par saison	55
Figure 8: Distribution de l'échantillonnage par mois	56
Figure 9 : Diagramme d'échantillonnage des carcasses	58
Figure10: Diagramme de la méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive	59
Figure 11 : Lyse des souches	66
Figure12 : Préparation des souches pour l'extraction de l'ADN	66
Figure13: ADN récupéré	67
Figure 14: Séchage des tubes	67
Figure 15: Préparation des mélanges réactionnels	69
Figure 16 : Amplification de l'ADN	70
Figure 17 : Préparation du gel d'agarose	71
Figure 18: Étapes de l'électrophorèse sur gel d'agarose	72
Figure 19 : Visualisation des amplifiants	72
Figure 20 : Moyenne générale des dénombrements des SCP dans les carcasses de volaille	81
Figure 21 : Appréciation globale de la qualité bactériologique des lots de volailles	82
Figure 22: Taux de contamination des carcasses de volaille par les SCP en fonction de l'espèce	83
Figure 23: Appréciation globale de la qualité bactériologique des lots de poulet et de dinde	84
Figure 24 : Appréciation globale de la qualité bactériologique des lots de volailles par saison	85
Figure 25: Appréciation des taux de la contamination globale des carcasses de volailles par les SCP par saison	86
Figure 26: Evaluation globale de la qualité bactériologique des lots de volailles en fonction de l'activité	87
Figure 27 : Charges moyennes des carcasses de volailles par les SCP en fonction de l'activité d'établissement d'abattage	89
Figure 28 : Evaluation globale de la qualité bactériologique des lots de poulet en fonction de la saison	90
Figure 29: Appréciation des classes de contamination des carcasses de poulet par saison	91
Figure 30: Evaluation de la contamination de poulet par établissement d'abattage	92
Figure 31: Qualité bactériologique des lots de carcasses de poulet par établissement	94
Figure 32 : Charges moyennes des carcasses de poulet liées au type d'abattage	95
Figure 33: Appréciation des niveaux de la contamination en fonction de type d'abattage	96

Figure 34 : Charges moyennes des carcasses de poulet en fonction de l'activité de l'établissement	97
Figure 35 : Appréciation des niveaux de la contamination des carcasses de poulet en fonction de l'activité des établissements d'abattage	98
Figure 36 : Charges moyennes des carcasses de dinde en fonction de l'activité de la saison	99
Figure 37: Appréciation qualitative de la contamination des carcasses de dinde par les SCP en fonction de la saison	100
Figure 38: Taux globaux (moyennes) des dénombrements des SCP par établissement d'abattage	101
Figure 39: Appréciation de la qualité bactériologique des lots de carcasses de dinde par établissement d'abattage	102
Figure 40: Taux de contamination moyenne des carcasses de dinde par SCP en fonction des l'activité des établissements d'abattage.	103
Figure 41: Niveaux de contamination des carcasses de dinde en fonction de l'activité des établissements d'abattage	104
Figure 42: Prévalence globale de <i>S. aureus</i> dans les carcasses de volailles	105
Figure 43 : Prévalence de <i>S.aureus</i> et des SCP par espèce animale	106
Figure 44 : Comparaison de la prévalence de <i>S.aureus</i> par saison	107
Figure 45 : Prévalence de <i>S.aureus</i> dans les carcasses de volailles en fonction du type d'établissement d'abattage	108
Figure 46: Prévalence moyenne de staphylocoques dans les carcasses de poulet par saison	109
Figure 47: Prévalence des staphylocoques dans les carcasses de poulet par établissement d'abattage	110
Figure 48: Prévalences moyennes de staphylocoques isolés sur les carcasses de poulet liées à l'activité des établissements	111
Figure 49 : Prévalence moyenne de staphylocoques dans les carcasses de poulet en fonction du type d'établissement	113
Figure 50: Prévalence des <i>S.aureus</i> sur les carcasses de dinde par saison	114
Figure 51: Prévalence des <i>S.aureus</i> sur les carcasses de dinde par établissement d'abattage	115
Figure 52: Sensibilité aux antibiotiques des souches isolées à partir de carcasses de volaille	119
Figure 53: Profils de résistance des souches de <i>S.aureus</i> isolées à partir de carcasses de volaille	121
Figure 54: Confirmation par PCR des souches isolées à partir de carcasses de volaille	122
Figure 55: Agarose gel electrophoresis patterns showing multiplex PCR	123
Figure 56: Caractère toxigène des souches de <i>S.aureus</i> confirmées par PCR	124
Figure 57: Distribution des entérotoxines classiques des <i>S.aureus</i> d'origine aviaire	125

Liste des Abréviations

%	Pour cent
(c)	Concentration
µg/kg	Micro gramme /kilogramme
µg/ml	Micro gramme /millilitre
µm	Micrometre
AAC	Aminoside N-acétyltransférase
ADN	Acide DesoxyriboNucléique
Agr	Accessory gene regulator
agr	Accessory gene regulator
ANT	Aminoside nucléotidyltransférase
APH	Aminoside O-phosphotransférase
APH(3)III	Phospho-transfèrase
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ARNt	Acide ribonucléique de transfert
ATCC	American Type Culture Collection
AW	Activity Water
BET	Bromure d’Ethidium
BMR	Bir Mourad Rais
BORSA	Borderline Oxacilline Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
C	Chromosome,
C°	Celsius
CA-MRSA	Community acquired methicillin resistant <i>S.aureus</i>
CASFM	Comité de l’antibiogramme de la société française de microbiologie
CA-SFM	Comité de l’antibiogramme de la société Française de microbiologie
CLfa	Protéine de liaison au fibrinogène
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CO2	Dioxyde de carbone
DEB	Dar El Beida
DGAL/SDSSA	Direction générale de l’alimentation / Sous direction de la sécurité sanitaire des aliments

DHFR	Dihydrofolate réductase
DHPS	Enzyme dihydroptéroate synthétase
DNase	Désoxyribonucléase
dNTP	Desoxynucleotide triphosphate
DO	Densité optique
EA	Etablissement D'abattage
EA	Etablissement d'abattage
EAD	Etablissement d'abattage à activité unique dinde
EAM	Etablissement d'abattage à activité mixte
EAP	Etablissement d'abattage à activité unique poulet
EbpS	Protéine de liaison à l'élastine
EFSA	European Food Safety Authority
egc	Enterotoxin gene cluster
ELFA	Enzyme Linked Fluorescent Assay
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.
EN	European Norm
erm	Erythromycin resistance methylase
FAO	Food & Agriculture Organisation
FC	Clumping factor
Fc	Fragment cristallisable
FnBP	Protéine de liaison à la fibronectine
g	Gramme
GC	Guanine Cytosine
GISA	Glycopeptides Intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
h	Heur
H2O	Eau
H2O2	Eau oxygénée
hétéro-VISA	Heterogeneouslyresistant VRSA
HIDAOA	Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaire d'Origine Animal
IgG	Immunoglobuline de type G
ISO	International Organization for Standardization
J.O.R.A	Journal Officiel de la République Algérienne
kb	Kilobase

KCl	Chlorure de potassium
kDa	Kilodalton
Kg	Kilogramme
Km²	Kilomètre carré
log₁₀ UFC/g	Unité logarithmique de micro-organismes par gramme
M³	Mètre cube
Mc Farland	Norme pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes
MDR	Multi Drug Resistance
mec C	Gène de résistance à la méticiline
mecA	Gène de résistance à la méticilline
Mg	Magnésium
mg/l	Milligramme par litre.
MH	Gélose Mueller Hinton
min	Minute.
ml	Millilitre
MLST	Multilocus sequence typing
mm	Millimètre
mM	Millimolaire.
mn	Minute
N	Nombre de prélèvement réalisé
NaCl	Chlorure de sodium
Nd	Non déterminé.
NF	Norme Française
ng	Nanogramme
OF	Ofloxacin
OMS	Organisation mondiale de la santé.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P	Plamide
PAB	Acide para-aminobenzoïque
Pb	Paire de base.
PCR	Polymérase Chain Reaction
pH	Potentiel d'Hydrogène.
PLP	Protéines liant la pénicilline

RF	Facteur d'affinité pour la fibrinogène
RPLA	Reverse Passive Latex Agglutination
RV	Rappaport Vassiliadis
S	<i>Staphylocoque</i>
sar	Staphylococcal accessory regulator
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SARM ou MRSA	Staphylococcus aureus méticillino-résistante
SCCmec	Staphylococcal chromosomal cassette
SCN	Staphylocoques à coagulase négative
SCP	Staphylocoques à coagulase positif
SDS	Sodium dodécyl sulfate
SE	Entérotoxine staphylococcique
Sea	Entérotoxine staphylococcique A
Seb	Entérotoxine staphylococcique B
Sec	Entérotoxine de type C
Sed	Entérotoxine de type D
See	Entérotoxine de type E
SEI	Staphylococcal enterotoxinlike
Sel- Ags	Staphylococcal Enterotoxin-like Superantigens
Sna	Protéine de liaison au collagène
spa	Gène de la protéine A
SSTT	Système de sécrétion de type trois
TAE	Tris Acétate EDTA
Taq ADN	ADN polymérase thermostable isolé à partir de <i>Thermus aquaticus</i>
TE	Tris EDTA.
TE	Tétracycline
Tet	Protéines tétracycline
TIAC	Toxi-infections alimentaires collectives
tr/min	Tours par minute.
Tris-HCl	Hydroxyméthyl aminométhane hydrochloride
TSST	Toxines du syndrome de choc toxique
TSST-1	Toxic shock syndrome toxin-1
U/ µl	Unité/microlitre

UFC	Unité formant colonie
ufc/g	Unité Formant une Colonie/ gramme
UV	Ultra-violet
V	Volt
v	variable
VISA	Vancomycin-Intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA/GRSA	Vancomycin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
µl	Microlitre.

INTRODUCTION

Introduction

La volaille représente une source majeure de viande dans le monde (Nader et al., 2016), près de 85% de la production mondiale est représentée par le poulet; suivi par la dinde (Huart et al., 2004). Ses faibles coûts de production et ses prix de vente peu élevés, ont contribué à faire de la volaille une viande de choix pour les producteurs et les consommateurs des pays en développement.

En Algérie, la filière avicole «chair» a connu un développement notable depuis 1980. Durant les trois dernières décennies, cette filière a connu l'essor le plus spectaculaire parmi les productions animales. L'offre en viandes blanches est passée de 95 000 à près de 300 000 tonnes entre 1980 et 2010, soit une progression de 212 % en 30 ans (MADRP, 2011). Ceci a permis d'améliorer la ration alimentaire moyenne en protéines animales de près de 35 millions d'algériens. L'Algérie est arrivée à des consommations de 7,7 kg par habitant et par an en 1990 et 8 kg par habitant en 2012 (Meziane et al., 2013).

Du point de vue nutritionnel, la viande de volaille est indispensable pour une ration alimentaire équilibrée, elle permet un apport protéique avec une teneur faible en matières grasses; elles apportent également les acides aminés essentiels ainsi que des vitamines. Cependant et en raison de ses mêmes qualités nutritionnelles, cette viande constitue un terrain favorable au développement microbien, et leur ingestion peut, au même titre que tous les autres aliments, représenter un risque pour la santé du consommateur. Sa qualité hygiénique dépend, d'une part, du statut sanitaire des animaux entrant aux établissements d'abattages et d'autre part, par le degré de maîtrise de la contamination liée aux manipulations des carcasses durant les opérations d'abattage ainsi qu'aux conditions de stockage et de distribution de cette viande (Kotula et al., 1995). Parmi l'ensemble des bactéries pathogènes susceptibles d'être isolées à partir des viandes de volailles et qui constituent un danger avéré pour l'homme, les *staphylococcus aureus* (*S.aureus*), sont l'un des groupes les plus rencontrés durant l'abattage et la transformation de volailles. Ses principaux réservoirs sont le nez, la gorge, la salive, les plaies de la peau des hommes et du cou de carcasses de volailles, l'air, les équipements et les machines de surfaces (Genigiorgis, 1989). Cette bactérie est caractérisée par sa capacité à produire une large variété d'entérotoxines dont cinq, dites classiques (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) sont incriminées dans 95% des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). A l'échelle mondiale, les *S.aureus* constituent la troisième cause de toxi-infections alimentaires collectives déclarées due aux entérotoxines. Les viandes de volailles sont plus

particulièrement incriminées dans la survenue de ces intoxications (Achi et Madubuike, 2007; Aydin et al., 2011; Sasidharan et al., 2011). En 2000, l'Algérie a enregistré 1857 cas de toxi-infections alimentaires dues au *S.aureus* dont 5 décès (Source : Service d'épidémiologie et de médecine préventive de Sétif, 2010).

D'un point de vue pathogénique, les *S.aureus* provoquent chez les volailles, des omphalites, des arthrites, des pneumonies voire des septicémies (Smyth et McNamee, 2008), ils sont responsables d'importantes pertes économiques par une diminution du gain de poids, chute de production d'œufs et de saisie des carcasses. Ils peuvent engendrer également chez l'homme, des infections cutanées (furuncles, folliculites, panaris, impétigo...) ou des muqueuses (otites, conjonctivites...) pouvant mener à des septicémies (Purcell et Fergie, 2005 ; David et al., 2010). Ils sont associés aux infections nosocomiales dans les hôpitaux (Liu et al., 2004).

Ces dernières années, la résistance acquise aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique majeur relié à *S.aureus*, notamment la résistance à la famille des bêta-lactames (méthicilline, pénicilline, etc.). Cette résistance est en augmentation régulière ; elle pose de plus en plus de problèmes thérapeutiques chez l'homme, vu l'émergence de souches multirésistantes due à l'apparition de nouvelles formes d'antibiorésistances qui alourdissent le bilan de la morbidité et de la mortalité. Ces nouvelles données ont bouleversé l'épidémiologie de *S.aureus* au niveau mondial.

Depuis leur apparition au début des années 1960, les souches de SARM se sont rapidement répandues sur l'ensemble des continents, elles sont aujourd'hui retrouvées un peu partout dans différentes communautés ainsi que chez certaines espèces animales, dont le poulet (Gordon et Lowy, 2008 ; Weese, 2010 ; Nemeghaire et al., 2013 ; Xia et al., 2013).

En Algérie, la fréquence de l'infection à SARM était estimée à 14 % au cours de l'année 2001 (Ramdani-Bouguessa et al., 2006). Les hôpitaux algériens ont de ce fait, démontré une augmentation importante de *S.aureus* résistants à la méticilline en ces dernières années (Bekkhoucha et al., 2008), avec un taux passé de 10 % en 1997 à environ 40% en 2005 (Antri et al., 2009).

Sur le plan économique, les infections par les SARM entraînent des séjours hospitaliers plus longs et des coûts de traitements plus importants.

Le rôle de l'alimentation dans le transfert des gènes de résistance n'a pas été suffisamment étudié. Néanmoins, les bactéries d'origine alimentaire, y compris les *S.aureus*,

présentent une antibiorésistance croissante et diversifiée à plusieurs agents antimicrobiens dont certains sont communément utilisés en médecine humaine et vétérinaire (EFSA, 2008). Le groupe scientifique de l'EFSA (groupe BIOHAZ) avait évalué l'incidence pour la santé publique de la présence du SARM chez les animaux et dans les aliments. Il a identifié plusieurs cas dans lesquels des aliments peuvent devenir un vecteur de transmission à l'homme de bactéries porteuses d'une résistance aux antibiotiques. Selon ce même groupe, les viandes de volaille restent une source potentielle de *S.aureus* résistant à la méticilline (SARM). En effet, les différentes manipulations ainsi que la consommation d'aliments contaminés constituent les principales voies de transmission. Cette acquisition de la résistance est responsable des échecs thérapeutiques.

En l'absence de traçabilité et de bonnes pratiques d'hygiène, les contaminations par *S.aureus* ne peuvent être cernées et/ou évitées. Vient s'ajouter à ces problèmes, l'absence de données épidémiologiques concernant ce germe dans les viandes de volailles en Algérie. C'est dans ce contexte et en l'absence de données sur le pouvoir toxigène et de la résistance aux antibiotiques de *S.aureus* d'origine aviaire en Algérie, que cette étude a été entreprise.

Notre thèse comprend deux parties :

- La première partie bibliographique fait le point en trois chapitres, sur des généralités concernant la description de l'espèce *S.aureus* et ses différents aspects de bactériologie, son épidémiologie, sa résistance aux antibiotiques, sa capacité de produire les entérotoxines ainsi que la diversification des facteurs de risque liés à l'abattage des volailles.
- La deuxième partie expérimentale comprend les objectifs visés par notre étude, le matériel et les méthodes utilisés pour conduire cette thèse, qui ont permis l'obtention de résultats probants qui sont par la suite discutés.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

GENERALITES

I. Historique

Les Staphylocoques ont été d'abord observés et identifiés en 1879 dans des pus de furoncle et d'ostéomyélite que Pasteur avait décrit comme étant "un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple (diplocoques), rarement par quatre (tétraèdres), mais très fréquemment associés en petits amas". En 1880, Pasteur les a cultivés et disait que "l'ostéomyélite est le furoncle de la moelle épinière" (Breche et *al.*, 1988 ; Spicer, 2003).

Alexander Ogston proposa dans la même année, le nom "Staphylococcus" (staphylê : grappe et kokkos : grain) vu que les bactéries se regroupaient en amas irréguliers qui ressemblent à une grappe de raisin. Ogston a pu différencier de ce fait les *Staphylococcus* de *Streptococcus* (Hennekinne, 2009).

En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries, il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes en fonction de la pigmentation des colonies, ainsi il a obtenu les *S. aureus* (de couleur orange ou dorée) et les *S. albus* (de couleur blanche) (Rosenbach, 1884, Fasquelle, 1974, Avril et *al.*, 2003).

Koch, Pasteur et Ogston ont tous les trois réussi à reproduire des abcès chez l'animal par inoculation des prélèvements de pus (Fasquelle, 1974).

II. Taxonomie

D'un point de vue taxinomique, le genre *Staphylococcus* fait partie du phylum des Firmicutes (Regroupant les bactéries à Gram positif), à la classe des Baccilli, et à l'ordre des Bacillales. Les espèces du genre staphylocoque appartiennent à la famille des Staphylococcaceae qui regroupe 4 autres genres, *Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Macroccoccus* et *Salinicoccus* (Le Loir & Gautier, 2010).

Actuellement, plus de 50 espèces et sous-espèces ont été répertoriées au sein du genre *Staphylococcus* (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification des espèces et sous-espèces des Staphylocoques (Le Loir & Gautier, 2010).

Nom	Coagulase	Réservoirs
<i>S. agnetis</i>	- / +	Bovin
<i>S. arlettae</i>	-	Caprin, Volaille
<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>		Ovin
subsp. <i>aureus</i>	+	Homme, Animaux, Environnement
<i>S. auricularis</i>	-	Homme
<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>		Homme
subsp. <i>ureolyticus</i>	-	Homme, Primates
<i>S. caprae</i>	-	Homme, Caprin
<i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>		Produits carnés
subsp. <i>utilis</i>	-	Aliments
<i>S. chromogenes</i>	-	Animaux, Lait
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>		Homme
subsp. <i>urealyticum</i>	-	Homme, Animaux
<i>S. condimentii</i>	-	Sauce Soja
<i>S. delphini</i>	+	Dauphin
<i>S. devriesei</i>	-	Bovins, Lait
<i>S. epidermidis</i>	-	Homme, Animaux, Environnement
<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>		Cheval, Bétail
subsp. <i>linens</i>	-	Fromage
<i>S. felis</i>	-	Chat
<i>S. fleurettii</i>	-	Fromages au lait de chèvre
<i>S. gallinarum</i>	-	Volailles, Oiseaux
<i>S. haemolyticus</i>	-	Homme, Animaux domestiques, Environnement
<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>		Homme
subsp. <i>novobiosepticus</i>	-	
<i>S. hyicus</i>	+	Animaux, Aliments
<i>S. intermedius</i>	+	Mammifères, Oiseaux (rarement Homme)
<i>S. kloosii</i>	-	Animaux sauvages
<i>S. leei</i>	+	Homme
<i>S. lentus</i>	-	Animaux (rarement Homme)
<i>S. lugdunensis</i>	-	Homme
<i>S. lutrae</i>	+	Loutre
<i>S. massiliensis</i>	-	Homme
<i>S. microti</i>	-	Rongeurs
<i>S. muscae</i>	-	Mouche, Porc
<i>S. nepalensis</i>	-	Chèvre
<i>S. pasteurii</i>	-	Homme, Animaux, Aliments
<i>S. pettenkoferi</i>	-	Homme
<i>S. piscifermentans</i>	-	Poisson fermenté
<i>S. pseudintermedius</i>	-	Animaux
<i>S. pseudolugdunensis</i>	-	Homme
<i>S. pulvereri</i>	-	Homme, Animaux
<i>S. rostri</i>	-	Porc
<i>S. saccharolyticus</i>	-	Homme
<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>		Animaux
subsp. <i>saprophyticus</i>	-	Homme, Animaux
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	+	Chiens
subsp. <i>schleiferi</i>	-	Homme
<i>S. schuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>		Produits carnés
subsp. <i>lentus</i>		Animaux
subsp. <i>rodentium</i>	-	Rongeurs, animaux
subsp. <i>schuri</i>		Homme, Animaux
<i>S. simiae</i>	-	Singe
<i>S. simulans</i>	-	Homme, mammifères
<i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>		Surface fromage affiné
subsp. <i>succinus</i>	-	Ambre
<i>S. vitulimus</i>	-	Animaux, Aliments
<i>S. warneri</i>	-	Homme, Primates
<i>S. xylosum</i>	-	Homme, Animaux, Environnement

III. Caractères généraux

III.1. Caractères morphologiques

Les Staphylocoques sont des analogues de *Micrococcus*, c'est des cocci, ayant 0,5 à 1 μm de diamètre (Buttiaxet *al.*, 1966) qui forment des amas ou des tétrades au frottis (Hirshet *al.*, 2004). Les Staphylocoques sont des bactéries non sporulées, ces dites bactéries se divisent en amas irréguliers. Leur paroi est principalement constituée de peptidoglycane, et renferme des acides teïchoïques responsables de la fixation de bactériophages spécifiques (Camille, 2007). Après 18 à 24 heures d'incubation, les colonies de staphylocoques sont opaques, lisses, régulières et atteignent 1mm de diamètre. Les colonies peuvent présenter différentes colorations, allant du blanc à l'orangé (Hirshet *al.*, 2004).

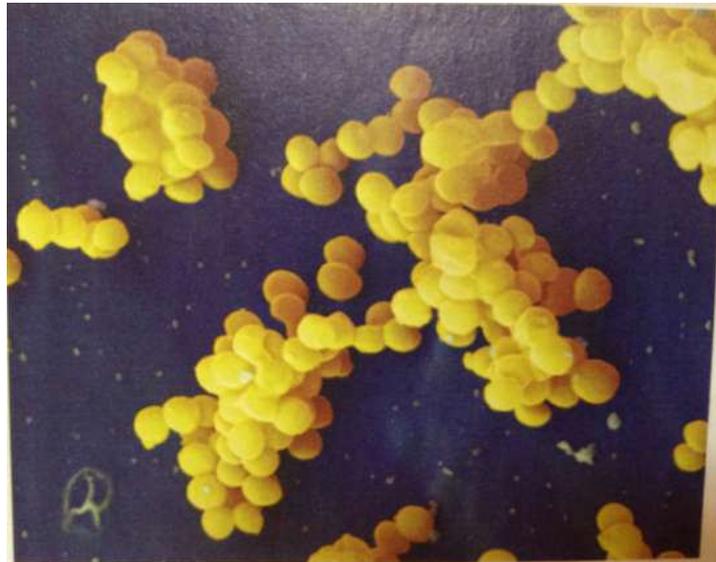


Figure 1 : Coques de *Staphylococcus aureus* disposées en grappes de raisins ; micrographie électronique à balayage (Gx100) (Willey et al., 2010).

III.2. Caractères biochimiques

S.aureus est caractérisé par la production de la catalase, c'est d'ailleurs le critère de base de leur classification. Il fermente le mannitol en anaérobiose et métabolise les hydrates de carbone par les voies oxydatives et fermentatives (Hirsh et *al.*, 2004). Il peut également produire de nombreuses enzymes tels que la protéase, la lipase, la coagulase liée au "Clumping-facteurs», la coagulase libre, la nucléase thermostable ou la thermonucléase (Bourgeois et *al.*, 1988).

La production d'une staphylocoagulase est une caractéristique de l'espèce *S.aureus* (Fauchere et Avril, 2002) bien que certaines souches de *S. aureus* peuvent ne pas produire de coagulase libre en raison d'une mutation, (Tableau 2). Il est donc nécessaire d'utiliser une DNase thermostable pour la confirmation des *S. aureus* (Couture, 1990).

Tableau 2: Caractéristiques biochimiques importantes communes à *Staphylococcus aureus* et à d'autres espèces de staphylocoques (De Buyser, 1996)

Caractéristiques biochimiques	<i>S. aureus</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. lugdunensis</i>
Coagulase liée	+ (1)	v(2)	-(3)	+	+
Coagulase libre	+	+	v	-	-
Thermonucléase	+	+	+	+	-

(1) + : plus de 90% des souches sont positives.(2) v : variable, (3) - : plus de 90% des souches sont négatives.

III.3. Caractères culturels

Les souches de *S.aureus* ont un pouvoir de résistance dans les milieux hostiles, elles ont la capacité de pousser à des températures allant de 7°C jusqu'à 48°C avec un optimum de croissance de 37°C et une salinité de 75% et à un pH allant de 4 jusqu'à 10.(Grace and Fetsch 2018).

Elles font partie des bactéries non exigeantes, sont cultivées dans des milieux ordinaires et dans des milieux sélectifs tel que le milieu Chapman ou le Baird Parker. Ses colonies sur gélose ordinaire sont lisses, rondes, d'un diamètre de 1 à 3 mm, arrondies, bombées de couleur jaune dorée à jaune orange. En gélose profonde, la croissance est observée sur toute la hauteur du tube signant le caractère aéro-anaérobie facultatif. En Bouillon, la culture de *S.aureus* forme un trouble uniforme abondant ; parfois un dépôt et un voile en surface (Yves & Michel 2009).

IV. Habitat et portage chez l'homme et les animaux

Les *Staphylocoques* sont des germes ubiquitaires qui se répandent dans la nature, on les trouve fréquemment dans l'eau, l'air et les poussières (saprophyte) (Murray et al., 2003). Ils arrivent à survivre et proliférer même dans des conditions d'environnement hostiles, où ils peuvent survivre plusieurs mois dans des produits pathologiques desséchés, ils résistent aux

variations de température (ils résistent 2 h à 55° C, ou 1 h à 60° C), au choc osmotique dû à la salinité de l'eau et résistent encore mieux en milieux albumineux (Breche et al., 1988).

Les *Staphylococcus aureus* sont présents dans la peau de l'homme et des animaux (Murray et al., 2003). Ces derniers sont considérés comme porteurs sains ou asymptomatiques, ils constituent le réservoir principal de ces germes (Breche et al., 1988). Les *Staphylococcus aureus* sont retrouvés particulièrement dans l'oropharynx, les fosses nasales antérieures qui semblent être leur abri essentiel (*S. aureus* 30-40%, *S. epidermidis* 30-100%). Ils sont aussi retrouvés au niveau des régions cutanées chaudes (creux axillaire) et humides (périnée, aisselles), il n'est pas rare d'isoler *S. aureus* des selles (Nauciel, 2005).

Chez l'homme, environ 50% des sujets sont des porteurs sains de *S. aureus*, le portage peut être persistant, occasionnel ou transitoire. Chez certains individus ce portage de *S. aureus* ne veut systématiquement pas induire une infection (Ferron, 1984).

Chez la volaille, des souches ont été isolées à partir de prélèvement de peau et des narines et du cloaque des volailles, et aux abattoirs (Alloui et al., 2013 ; Madec et al., 2010).

V. Isolement et identification

V.1. isolement

La gélose nutritive ou la gélose au sang est le milieu utilisé pour l'isolement quand il s'agit de Staphylocoques provenant d'un produit pathologique non souillé (hémoculture par exemple) (Pilet et al., 1983). Par contre il est essentiel d'utiliser des milieux sélectifs ; dans le cas d'étude de produits polymicrobiens (exemple de certains pus, lésions ouvertes ou produits alimentaires) ; tels que :

- Le milieu de Chapman caractérisé par sa forte teneur en NaCl inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les Staphylocoques (Robert, 2013), surtout si on lui ajoute du Mannitol à 1% et le rouge de phénol (indicateur d'acidité) (Le Minor et Veron, 1990).
- Le milieu de Baird-Parker, est utilisé surtout en bactériologie alimentaire. Pour être sélectif le milieu Baird Parker est enrichi de tellurite de potassium et du jaune d'œuf, en glycine et en pyruvate et en jaune d'œuf (Le Minor et Veron, 1990).

V.2. Identification

La mise en évidence de la coagulase constitue la base de l'identification des *S.aureus* qui sont prélevés de plusieurs colonies isolées préalablement sur milieu Baird-Parker. Chaque colonie est alors ensemencée dans 0,5 ml de bouillon cœur-cerveille. Le bouillon est ensuite incubé pendant 24 heures à 37 °C, on y ajoute ensuite 0,5 ml de plasma de lapin et le mélange est incubé à nouveau à 37 °C, on effectue un examen constamment jusqu'à 24 heures d'incubation. La prise en masse du milieu indique la présence de coagulase (Michel, 2005).

La détection d'une coagulase uniquement permet d'identifier les *S.aureus* conformément aux normes. Cependant, la recherche de caractères complémentaires contribue à une identification plus précise. Ces caractères peuvent être le clumping factor, la nucléase ou la galerie de tests biochimiques. Actuellement, de nombreux réactifs permettent la mise en évidence par agglutination sur lame le clumping factor celui-ci est défini comme le facteur d'affinité pour le fibrinogène : FC. Certains réactifs peuvent combiner la mise en évidence du CF et celle d'autres composés spécifiques de *S.aureus* telles que les protéines de surface et les polysides capsulaires à l'aide d'anticorps monoclonaux (Michel, 2005)

VI. Pouvoir pathogène

Les staphylocoques sont des pathogènes facultatifs, ils ne sont ni des pathogènes stricts ni des germes opportunistes purs (Corne, 2004).

S. aureus est impliqué dans de nombreuses infections, dépendant des conditions d'élevage et d'hygiène de litière.

-On peut classer les infections à staphylocoques dorés en deux groupes :

- les infections suppuratives qui dépendent de la prolifération du germe. Le staphylocoque est présent dans le site infectieux et le patient guérit de l'infection après élimination de la bactérie.
- les infections dites toxiques où une toxine sécrétée par le staphylocoque est responsable des symptômes.

IV.1. Infections suppuratives staphylococciques

Les infections suppuratives sont caractérisées par plusieurs phases : la prolifération bactérienne, l'invasion, la destruction tissulaire, la réponse inflammatoire locale et parfois systémique. Les facteurs de virulence impliqués sont les protéines de surface qui initialisent la

colonisation des tissus de l'hôte et les facteurs qui inhibent la phagocytose par les leucocytes (Lowy, 1998). *S.aureus* se fixe aux cellules et au collagène de la matrice extracellulaire par des protéines de surface appelées adhésines protéine A (Spa), protéine de liaison au collagène (Sna), protéine de liaison à la fibronectine (FnBP), protéine de liaison au fibrinogène (Clfa), protéine de liaison à l'élastine (EbpS). Les adhésines ont des récepteurs spécifiques différents ce qui pourrait expliquer les différentes formes cliniques (Gillet et al., 2002 ; Todd et al., 1978) des infections à *S.aureus* (Brun et Bes, 2000 ; Gomez et al., 2000). La résistance à la phagocytose passe par la formation de biofilm et l'intégration intracellulaire de *S.aureus*, en particulier dans les cellules endothéliales (Lowy, 2003).

.IV.2. Infections toxiques staphylococciques

Les infections toxiques staphylococciques regroupent le choc toxique staphylococcique, la maladie exfoliante généralisée, les toxi-infections alimentaires, la pneumonie nécrosante (Brun et Bes, 2000 ; Dinges et al., 2000) . La particularité des toxines produites lors du choc toxique staphylococcique est d'être des superantigènes qui vont entraîner une activation polyclonale non spécifique des lymphocytes T. Ces derniers vont libérer brutalement et massivement des cytokines pro-inflammatoires responsables des signes de choc. On retrouve la toxine TSST-1 dans 20% des souches de *S.aureus*. La toxine de Panton et Valentine individualisée dans la pneumonie nécrosante n'est pas un superantigène mais détruit les polynucléaires et entraîne une nécrose du tissu pulmonaire et des muqueuses de voies aériennes (Gillet et al., 2002).

VII. Maladies et Symptômes chez la volaille

Les staphylocoques attaquent différentes parties de l'organisme du poulet et se manifestent sous différentes formes de maladies telles que : omphalite, dermite, abcès, arthrite septique et même septicémie (Villate, 2001 ; Zhou et al., 2007).

VII.1. Atteinte articulaire

Les infections staphylococciques causent généralement de l'arthrite, de la périarthrite et de la synovite. Les articulations atteintes sont enflées présentent des ostéomyélites qui sont remplies d'exsudat inflammatoire

La spondylarthrite est dépistée généralement dans les élevages industriels de poulets de chair et de dindes, si elle s'étend aux vertèbres thoraco-lombaires et atteint la moelle épinière elle peut entraîner dans ce cas des boiteries aux sujets atteints.

Des cas de boiteries et de gonflement de pieds sont aussi observés lors d'infections par abcès plantaires. Il y a en fait une certaine similitude de cas entre les arthrites causées par ces cocci en élevage avicole et les arthrites chez les humains, il est donc courant de prendre les arthrites de ces Cocci comme modèle d'étude de maladies humaines (Alderson *et al.*, 1986).

VII.2. Septicémie

Des infections staphylococciques peuvent aussi causer des cas de septicémie chez le poulet de chair et la dinde, les symptômes décrits sont les plumes ébouriffées, des boiteries uni ou bilatérales, des ailes retombées, de la réticence à marcher et même de la fièvre. Des cas plus graves peuvent présenter de la dépression et même des mortalités.

VII.3. Omphalite

L'isolement de souches de *S.aureus* chez les poussins d'un jour suggère la contamination verticale des parents (Devriese et Hajek, 1980). Il est possible aussi que ces infections soient dues aux mauvaises conditions d'hygiène avec l'immaturation du système immunitaire des poussins (Skeeles, 1991). Après l'éclosion, les poussins sont humides et les sacs vitellins sont hypertrophiés causant un taux de mortalité élevé les premiers jours d'élevage.

On enregistre un taux de perte économique élevé dans les élevages industriels de poulet de chair et de dindes suite aux infections staphylococciques. Ces pertes se manifestent par des taux de mortalité atteignant 20% (Zhou, 2007). C'est pourquoi il est essentiel d'instaurer un programme d'antibiothérapie efficace (Nawaz *et al.*, 1999).

VIII. Résistance aux antibiotiques

Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques, la résistance intrinsèque ou naturelle et la résistance acquise.

VIII.1. Résistance naturelle

Le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CASFM) définit la résistance naturelle d'une bactérie comme une caractéristique propre à une espèce bactérienne, partagée par toutes les souches normales de cette espèce ; délimitant le spectre

naturel d'action de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification (CASFM, 2009). Par exemple, l'imperméabilité des bacilles à Gram négatif ; due à la présence d'une membrane externe ; constitue une résistance à diverses classes de molécules (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc.) (Galimand *et al.*, 2005).

La résistance aux antibiotiques se traduit habituellement par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la valeur critique basse de concentration (c) de l'antibiotique concerné (CASFM, 2009).

VIII.2. Résistance acquise

A l'inverse de la résistance naturelle, la résistance acquise est une caractéristique de quelques souches au sein de l'espèce considérée ou du même genre. Bien qu'elle peut dans certains cas concerner la grande partie de ces souches comme, par exemple, la production de pénicillinase chez les staphylocoques qui est exprimée chez plus de 90% des souches (Galimand *et al.*, 2005).

Sur le plan biochimique il existe quatre grands mécanismes d'acquisition de résistance qui ont été développés par les bactéries dont le motif commun est d'empêcher l'interaction entre l'antibiotique et sa cible (Galimand *et al.*, 2005), On y trouve:

- La modification de la cible, qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière;
- La production d'une enzyme qui va détoxifier l'antibiotique ;
- L'imperméabilité, notamment par diminution du diamètre des porines (pores au niveau de la membrane externe) chez les bacilles à Gram négatif ;
- L'efflux des antibiotiques à l'extérieur de la cellule par des pompes énergie dépendantes.

Sur le plan génétique, la résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de matériel génétique étranger (Gaudy et Buxeraud, 2005).

VIII.2.1. Résistance aux β -lactamines

Les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes ainsi que les monobactames sont différentes familles d'antibiotiques classés en β -lactamines ayant une similarité dans leurs structures moléculaires (Robert, 2013)

De façon générale, les β -lactamines agissent sur les protéines liant la pénicilline (PLP) impliquées dans la synthèse de la paroi bactérienne (Eveillard, 2007). Ces dernières sont des protéines à activité enzymatique (essentiellement des transpeptidases). Elles se localisent sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Les β -lactamines se fixent sur les PLP et induisent un blocage des réactions de transglycosylation et transpeptidation qui viennent après l'acylation des PLP (Drugeon, 2006). Les souches de *S. aureus* possèdent 4 PLP : PLP1, PLP2, PLP3 (essentielles à la survie) et PLP4 (accessoires) (Chambers, 1997).

Deux mécanismes principaux de résistance sont décrits, la production de pénicillinase (cas des pénicillines G et de l'amoxicilline) et la modification de la cible des β -lactamines (cas des méticillines).

VIII.2.2. Résistance à la méticilline

Lorsque une souche montre une résistance aux pénicillines du groupe M, elle est appelée «résistante à la méticilline», elle est aussi par extension résistante à toutes les β -lactamines y compris l'oxacilline. Le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie définit la résistance par une concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à 2 mg/l pour l'oxacilline qui est considérée comme la pénicilline M de référence (CASFM, 2009).

Bien qu'il n'existe pas de définitions pour la multirésistance qui soit reconnue officiellement et universellement admise, certains auteurs qualifient les microorganismes multirésistants par leur disposition à résister à une ou plusieurs classes d'antibiotiques (Siegel et al., 2007), d'autres auteurs vont jusqu'à au moins trois molécules d'antibiotiques pour qualifier la souche d'être multirésistante (Kessah et al., 2003).

Les souches SARM sont donc multirésistantes lorsqu'elles résistent à d'autres classes d'antibiotiques (Speller et al., 1989). Leur résistance à la méticilline est utilisée comme marqueur de multirésistance (Grohs, 2009).

Le développement des outils de biologie moléculaire a permis de réaliser des études d'épidémiologie globale (ou macro-épidémiologie), de donner des noms aux grands clones pandémiques de SARM et de montrer leur diffusion au niveau national et international (Oliveira et al., 2002).

L'appartenance d'une souche de SARM à un clone est démontrée en caractérisant la souche successivement par différentes techniques :

- Le séquençage de 7 gènes (**MLST** pour multilocus sequence typing) (Robinson et Enright, 2004)
- La caractérisation du nombre et de la structure des répétitions présentes dans la séquence codante de la protéine A de *S. aureus* (**spa typing**) (Harmsen *et al.*, 2003)
- La caractérisation de la cassette contenant le gène de résistance mec A à la méticilline (**SCCmec** pour staphylococcal chromosomal cassette) (Ito *et al.*, 2004)
- Le type d'allèle agr de chacun des grands clones pandémiques (Jarraud *et al.*, 2002).

VIII.2.2.a. Mécanismes de résistance à la méticilline

La connaissance des mécanismes de résistance chez les staphylocoques permet une utilisation efficace et meilleure des antibiotiques. Elle permet en premier lieu de lutter activement contre les bactéries responsables d'infection et de limiter ou réduire l'apparition de nouvelles souches résistantes et de nouveaux mécanismes de résistance (Gaudy et Buxeraud, 2005).

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) partagent les mêmes mécanismes et les gènes de résistance que ceux des staphylocoques dorés. Par contre ils se différencient les uns des autres dans la fréquence de résistance : elle est en effet, plus élevée pour les SCN, (Leclercq, 2002).

Les *S.aureus* se sont progressivement adaptés au développement de l'antibiothérapie en générant des mécanismes de résistance à la plupart des produits (Descloux *et al.*, 2007).

La résistance à l'oxacilline (ou résistance à la méticilline) se traduit par la synthèse d'une nouvelle cible des β -lactamines qui leur soit insensible (Leclercq, 2002).

Le gène mec A est le gène responsable de la résistance à la méticilline chez les staphylocoques. Il est présent dans une cassette SCC mec (Hiramatsu *et al.*, 2002), c'est un élément génétique mobile intégré dans le chromosome. Ce gène code pour une enzyme : la transpeptidase appelée PLP2a (protéine liant pénicilline), cette enzyme est impliquée dans la synthèse d'un composant de la paroi bactérienne appelé le peptidoglycane ayant une faible affinité pour les β -lactamines comme caractéristiques (Chambers, 1997).

Il existe deux différents mécanismes pour la résistance à la méticilline chez *S. aureus* (Leclercq, 2002).

• **Synthèse d'une nouvelle PLP** : Elle est la principale des résistances. C'est en fait, le gène *mecA* ; dont l'origine est inconnue ; qui contrôle la synthèse de PLP supplémentaires ayant comme principale caractéristique une très faible affinité pour toutes les β -lactamines (Scanvic-Hameg et al., 2002) .

Selon les conditions de culture, les souches de staphylocoques expriment leur résistance à la méticilline à des niveaux variés entre elles (Gueudet et Lemblé, 2004). On parle dans ce cas d'hétérogénéité de la résistance. Quatre classes sont décrites par Tomasz (Bemer-Melchior et Drugeon, 2001) en fonction de la proportion de mutants résistants au sein de la souche étudiée : on parle d'une classe homogène comme la classe 4, lorsque toutes les bactéries montrent le même haut niveau de résistance, on parle aussi de classe hétérogène (cas des classes 1, 2 et 3) lorsqu'on a au sein d'une population des sous populations ayant différents niveaux de résistance (Bemer-Melchior et Drugeon, 2001).

• **Modification des PLP** : C'est la plus fréquente des résistances et aussi la plus essentielle. Le principe de ce mécanisme se base sur l'affinité entre les β -lactamines et leur cible (PLP), il s'agit en effet d'une modification de la cible et non pas une néosynthèse de PLP qui entraîne une modification d'affinité (Hamdad et al., 2006), on parle dans ce cas de souches MODSA ou Modified *Staphylococcus aureus*, quoique ces souches soient rares (Gueudet et Lemblé, 2004).

Les β -lactamines agissent sur les *S. aureus* par empêchement de constitution des peptidoglycanes qui font partie de la membrane des bactéries, or *S. aureus* possède quatre isoformes natives de protéines qui lient les pénicillines (PLP), ces isoformes sont une famille de protéases à sérine qui interviennent dans la synthèse du peptidoglycane à chaque fois que la constitution est empêchée (Forestier et al., 2006).

VIII.2.2.b. Support de résistance

L'insertion d'un gène mobile nommé SCC *mec* (staphylococcal cassette chromosome *mec*) dans le chromosome des *S. aureus* leur confère cette résistance à la méticilline. Ce gène mobile abritant le gène *mec A* est un fragment d'ADN d'une taille allant de 21 à 67 kb (Katayama et al., 1999 ; Hiramatsu, 2001). Il se positionne sur un site unique appelé *attB_{sc}* (figure 2), qui est aussi localisé près de l'origine de réplication du chromosome bactérien (Ito et al., 2001).

La découverte et le clonage du gène *mecA* remontent à l'année 1986. Les *S. aureus* sensibles à la pénicilline ne possèdent pas cette séquence d'ADN. Il est probable que la transposition à partir de souches de staphylocoques à coagulase négative soit à l'origine du manque de ce gène (Forestier et *al.*, 2006).

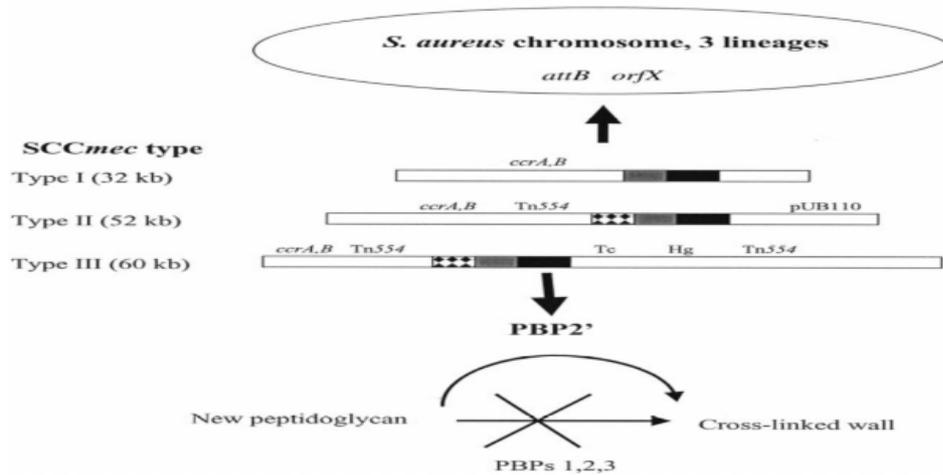


Figure 2 : Bases génétiques et biochimiques de la résistance de *S. aureus* à la méticilline (Hiramatsu et *al.*, 1999).

VIII.2.2.c. Détection de la résistance à la méticilline

Les méthodes courantes ou conventionnelles pour la détection de la résistance chez les staphylocoques sont complexes et manquent d'exactitude quant à la classification des SARM. En effet, une souche peut être identifiée comme résistante par une méthode et sensible par une autre méthode d'identification. Les méthodes laborantines sont sujettes à être influencées par différents facteurs ; qui peuvent affecter la croissance des SARM ; tels que la durée et la température d'incubation, l'inoculum et le type de salinité du milieu de culture (Jonas et *al.*, 1999).

Les méthodes moléculaires pour la détection de la résistance apparaissent être les meilleures quant à la détection du gène *mecA* et à la confirmation de la résistance à la méticilline pour les staphylocoques dorés (Bergeron et Ouellette, 1998 ; Louie et *al.*, 2000)

La PCR qui est une de ces techniques génotypiques permet non seulement la détection du gène, mais aussi de mieux différencier entre le staphylocoque doré de haute résistance et celui de résistance intermédiaire. Il a même été trouvé une excellente corrélation entre la détection du gène *mecA* par PCR et les résultats obtenus par test de sensibilité en microdilution (Tenover, 1999 ; Louie et al., 2000).

VIII.2.2.d. Gènes de résistance utiles pour la détection de l'antibiorésistance:

Le choix des amorces et des sondes d'hybridation (tableau 3) est important pour l'amplification d'un fragment de 184 pb. Ce fragment constitue la région de jonction entre l'extrémité droite de SCC *mec* et une séquence du gène *orfX* spécifique de *S. aureus*, ce qui rend la réaction de PCR spécifique au SARM même au sein d'une flore polymorphe (Hougardy et al., 2006).

Tableau 3 : Oligonucléotides de détection des gènes de résistance (Hougardy et al., 2006)..

Amorces	Séquence 5' 3'
AMORCE FORFX	GGATCAAACGGCCTGC
AMORCE RMEC	CCTTTATGAAGCGGCTG
SONDE AORFX	ATGCGGGTTGTGTTAATTGAACAAGTGT
SONDE SORFX	AGAGCATTTAAGATTATGCGAGGAGAAG

VIII.2.3. Résistance à la pénicilline G

Les staphylocoques expriment leur résistance à la pénicilline par production d'enzyme appelée la β -lactamase qui agit sur le cycle β -lactame des pénicillines et l'hydrolyse, les rendant inactives (Quincampoix et Mainardi, 2001). Or, cette enzyme est incapable d'agir sur les pénicillines M qui ont été conçues en ayant un radical chimique sur le noyau β -lactame spécialement pour résister à l'hydrolyse (Leclercq, 2002).

Cette enzyme inductible est codée par le gène *bla Z* porté par un plasmide (Katayama et al., 2003). Le gène *bla Z* est sous le contrôle d'un système répresseur/antirépresseur (*blaR1/blaI*) (Lowry, 2003).

Cependant, une hyperproduction de β -lactamases aboutit à une diminution de résistance à l'oxacilline. Ces souches sont nommées BORSA (Borderline Oxacilline Resistant *Staphylococcus aureus*). On peut récupérer cette résistance in vitro par les inhibiteurs de β -lactamases (Gueudet et Lemblé, 2004). En effet, il existe des inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) qui restaurent l'activité des antibiotiques qui leur sont associés (Leclercq, 2002).

VIII.2.4. Résistance à la vancomycine

Deux glycopeptides sont actuellement commercialisés, la vancomycine et la teicoplanine, ceux sont des antibiotiques de réserve, utilisés exclusivement en milieu hospitalier, dans le cas de traitement des septicémies et des endocardites, causées par des souches de *S. aureus* multirésistantes.

La vancomycine est indiquée pour des infections pour lesquelles aucune autre antibiothérapie n'est efficace (Fauchère et Avril, 2002)

Il avait été signalé une résistance de quelques souches à la vancomycine in vitro en 1992 et in vivo en 1996 au Japon et aux Etats-Unis respectivement et plus récemment en France (Avril et al., 2003).

La sensibilité des différentes souches de staphylocoques à la vancomycine diffère entre elles, c'est à partir de cette différence que les chercheurs ont inventé une certaine nomenclature pour désigner les souches de *S. aureus* résistantes ou de sensibilité diminuée aux glycopeptides.

- L'acronyme VISA désignant : Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* ou *S. aureus* de résistance intermédiaire à la vancomycine
- L'acronyme GISA désignant : Glycopeptides Intermediate *Staphylococcus aureus* désigne les *S. aureus* de résistance intermédiaire au glycopeptides (Fauchère et Avril, 2002). Le terme de GISA est plus précis et préférable puisqu'il regroupe l'ensemble des souches de sensibilité diminuée à l'un ou l'autre des glycopeptides. (Hiramatsu et al., 1997).

Pour ces deux acronymes les souches intermédiaires ont une CMI < 8 mg/l, ou sont résistantes à la teicoplanine pour une CMI > 8 mg/l. Elles sont sensibles à la vancomycine pour une CMI = 4 mg/l ou intermédiaires pour une CMI < 8 mg/l.

- L'acronyme hétéro-VISA désignant : heterogeneously resistant VRSA ou *S.aureus* ayant une résistance hétérogène. Une souche hétéro-VRSA peut être définie comme étant une souche de *S. aureus* qui renferme des sous-populations de cellules filles «résistantes » à la vancomycine, mais dont la CMI de la souche parentale originale pour la vancomycine se situe entre 1 et 4 µg/ml (Ariza, et al., 1999). Seule une partie de la population (1/10) va exprimer la résistance à la vancomycine (Charles et al., 2004)
- L'acronyme VRSA/GRSA désignant : Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* ou *S. aureus* résistant à la vancomycine ou GRSA pour glycopeptide resistant *S. aureus* ou *S. aureus* résistant aux glycopeptides (Walsh et Howe, 2002). Cet acronyme laisse entendre que le *S. aureus* est résistant à la vancomycine même si celle-ci est administrée à des doses et pour une période de temps suffisantes. La CMI nécessaire pour éliminer les staphylocoques qui soient responsables d'infection diffère d'un pays à un autre. Aux États-Unis et au Canada, la CMI pour la vancomycine est égale à 32 µg/ml (Walsh et Howe, 2002). Par contre au Japon et autres pays notamment la Grande Bretagne la CMI est égale à 8 µg/ml (Hiramatsu et al., 1997 ; Tenover, 1999 ; Tenover et al., 2001).

VIII.2.4.a. Mécanismes de la résistance

Bien qu'ils aient un effet sur les souches multirésistantes, les glycopeptides ne sont pas de bons antibiotiques, ils présentent plusieurs défauts. En effet leurs CMI sont élevées, leur vitesse de bactéricidie est lente (48 heures) et leur diffusion intracellulaire et tissulaire est faible.

Le mécanisme de résistance reste mal compris chez les GISA et chez les hétéro-GISA. La cible des glycopeptides est le résidu D-alanine-D-alanine du peptidoglycane. Les souches GISA et hétéro-GISA présentent plusieurs mutations qui causent des anomalies de synthèse et de composition du peptidoglycane (Cosgrove et al., 2004). Cette accélération de la synthèse du peptidoglycane entraîne une augmentation du nombre de sites D-alanine-D-alanine disponibles pour fixer la vancomycine induisant un épaississement de la paroi bactérienne (Cosgrove et al., 2004), ces résidus servent de « fausses cibles » pour retenir les molécules de vancomycine qui ne peuvent pas pénétrer à travers la paroi cellulaire les empêchant de ce fait d'atteindre la membrane cytoplasmique où le peptidoglycane est synthétisé. Ils restent donc bloqués, c'est le « phénomène de trapping » (Appelbaum, 2006).

L'échec thérapeutique de la vancomycine s'associe généralement à l'apparition des souches de résistance intermédiaire (Leclerq, 2002)

L'interprétation du mécanisme de résistance sur la base génétique n'est pas encore bien élucidée (Walsh et Howe, 2002), toutefois, le gène *vanA* est hébergé chez les souches ayant une résistance de haut niveau à la vancomycine (VRSA). Ce gène est présent chez les entérocoques résistants aux glycopeptides (Chang et al., 2003 ; Weigel et al., 2003).

VIII.2.5. Résistance aux aminosides

La première molécule d'aminoside a été isolée de souches de *Streptomyces griseus* et nommée streptomycine. Les aminosides sont principalement produits par *Streptomyces*, elles ont un nom se terminant par « myxine », d'autres molécules sont isolées à partir de *Micromonospora*, elles ont un nom se terminant par « micine ». Les deux bactéries sont des actinomycètes (David, 2013).

Les aminosides agissent sur la synthèse protéique chez les staphylocoques par fixation sur la sous-unité 30S des ribosomes qui joue un rôle dans la synthèse peptidique de ces bactéries. Les aminosides ont un effet bactéricide rapide (Conly et al., 1989).

VIII.2.5.a. Mécanisme de résistance

Les staphylocoques résistent aux aminosides par production d'enzymes inactivatrices (Conly et al., 1989). En effet, pour freiner l'action des aminosides, les *S. aureus* secrètent des enzymes (codées par des gènes plasmidiques ou transposables) telles que l'aminoglycoside-phospho-transférase (APH(3)III) qui va se greffer sur l'antibiotique (telle que : kanamycine, amikacine, tobramycine, gentamicine) un radical phosphoryl qui le détruit (Bismuth et Leclerq, 2000 ; Quincampoix et Minardi, 2001 ; Leclerq, 2002).

Selon leur action catalysante, les enzymes sont classées en trois classes où chacune d'elles lui est attribuée un phénotype de résistance spécifique aux aminosides:

- Aminoside N-acétyltransférase (AAC) : acétylation d'un groupement NH₂ : enzyme bifonctionnelle inactivant la kanamycine, l'amikacine, la tobramycine et la gentamicine (phénotype KTG) fait perdre la synergie entre les inhibiteurs de synthèse de paroi à tous les aminosides (sauf la streptomycine et la néomycine qu'il faut tester séparément).
- Aminoside O-phosphotransférase (APH) : phosphorylation d'un groupement OH : enzyme inactivant la kanamycine et l'amikacine (phénotype K)

- Aminoglycoside nucléotidyltransférase (ANT) : nucléotidylation d'un groupement OH : enzyme inactivant la kanamycine, l'amikacine et la tobramycine (phénotype KT).

VIII.2.6. Résistance aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones constituent une amélioration des quinolones. Ils possèdent un fluor dans leur structure moléculaire. Les premières molécules de quinolones présentaient quelques défauts en matière d'activité bactéricide, les fluoroquinolones ont été créés pour combler ces défauts (Crozes et *al.*, 2005 ; Benaïssa, 2012).

Les fluoroquinolones ciblent des enzymes essentielles à la survie des bactéries. Ces enzymes qui sont appelées topoisomérases ou ADN gyrases permettent de déplier l'ADN surenroulé (Hooper et *al.*, 2002). Les fluoroquinolones interfèrent avec les complexes ADN/topoisomérases et entravent cette activité nécessaire à la réplication et à la survie de la bactérie.

VIII.2.6.a. Mécanisme de résistance

Deux types de résistance sont manifestés par les staphylocoques qui sont purement chromosomiques. La première résistance se manifeste par une mutation du gène *parC* qui code une partie de l'enzyme topoisomérase IV (sous-unité C), cette mutation modifie le caractère d'affinité entre l'antibiotique et le complexe ADN/topoisomérase l'empêchant de se fixer sur ce dernier (Lowry, 2003). La deuxième résistance se manifeste par l'efflux des fluoroquinolones hors du cytoplasme de la bactérie, le mécanisme repose sur une mutation des pompes qu'on appelle *Multi Drug Resistance* (MDR). Ces pompes qui sont produites en grandes quantités expriment plus d'affinité à l'antibiotique afin de pouvoir l'éjecter. Cet excès protéinique est codé par le gène *NorA* (Crozes et *al.*, 2005).

VIII.2.7. Résistance aux sulfamides

La première utilisation des sulfamides remonte à l'année 1935 l'année où ils ont été décrits par Domagk. Les sulfamides sont utilisés tant qu'antibiotiques ainsi que des antidiabétiques (David, 2013).

A l'exception de sulfaméthizole, les sulfamides ne sont pas utilisés seuls dans les traitements vu leur manque d'efficacité causée par la résistance des bactéries. Ils sont donc utilisés en synergie avec d'autres molécules (cas de la combinaison triméthoprim/sulfaméthaxazole) pour être mieux protégés et pouvoir exercer leur action. La

combinaison suscitée est prescrite chez le bovin pour traiter les infections systémiques des mammites aiguës à *S.aureus* (Prescott, 2006).

VIII.2.7.a. Mécanisme d'action des sulfamides en association ou non avec le triméthoprimé ou la pyriméthamine

Les cellules bactériennes requièrent l'acide folique dans le fonctionnement de leur métabolisme, or pour l'avoir, elles doivent le synthétiser par elles-mêmes (Prescott, 2006). La synthèse de l'acide folique s'obtient par l'intervention de l'enzyme dihydroptéroate synthétase (DHPS) sur l'acide para-aminobenzoïque (PAB) et l'incorporer dans la molécule ptéroylglutamique de l'acide folique et obtenir des dihydrofolates. Les sulfamides agissent à ce niveau, ils complètent les PAB et entravent l'action de la dihydroptéroate synthétase.

Par action synergétique, le triméthoprimé intervient en aval des sulfamides, il se combine à la dihydrofolate réductase (DHFR) et stoppe la synthèse des folates (David, 2013). Cela explique la spécificité d'action des sulfamides sur les cellules bactériennes (Prescott, 2006).

Les sulfamides sont des antibiotiques bactériostatiques mais leur association avec le triméthoprimé rend leur activité bactéricide (David, 2013).

VIII.2.7.b. Mécanisme de résistance des *S.aureus* envers la combinaison triméthoprimé /sulfaméthaxazole

Les *S. aureus* résistent aux sulfamides par différents mécanismes. Ils peuvent en effet changer de perméabilité aux antibiotiques ou surproduire les dihydroptéroate synthétases, les dihydrofolate réductases ou l'acide p-aminobenzoïque, l'augmentation en production de l'acide p-aminobenzoïque est due à une mutation chromosomale sur le gène *sulA* (Werckenthin, 2001), tandis que les gènes *drFA* et *drFB* codent la surproduction des dihydrofolate réductases.

VIII.2.8. Résistance aux tétracyclines

Le terme tétracycline a été attribué aux molécules antibactériennes ayant quatre cycles dans leurs structures. La chlorotétracycline est la première molécule extraite d'un *Streptomyces aureofaciens* (David, 2013). D'autres molécules sont aussi extraites telles que l'oxytétracycline et la tétracycline. La doxycycline et la minocycline sont semi synthétiques.

Les tétracyclines ont été largement utilisées comme facteurs de croissance chez la volaille et les élevages de production et même en prophylaxie dans les grands élevages (Giguère, 2006).

VIII.2.8.a. Mécanisme d'action des tétracyclines

Les tétracyclines ont un large spectre d'action mais sont bactériostatiques envers le *S.aureus*. La molécule traverse par voie passive la membrane externe de la cellule bactérienne, elle est ensuite transportée par voie active à travers la membrane cellulaire interne pour arriver à l'intérieur de la bactérie. Les tétracyclines se lient réversiblement à la sous unité 30S du ribosome, c'est d'ailleurs cette réversibilité qui confère aux tétracyclines l'effet bactériostatique. Les tétracyclines empêchent l'association de l'enzyme l'ARN aminoacyltransférase avec le ribosome au niveau du site accepteur du complexe ARNm-ribosome et inhibent de ce fait la synthèse protéique (Chopra, 2001 ; Giguère, 2006).

VIII.2.8.b. Mécanisme de résistance

Le mécanisme de résistance repose sur différentes protéines tétracycline (protéines Tet) qui agissent de deux façons. Les protéines Tet (K) entraînent un efflux actif des tétracyclines lorsqu'elles sont situées dans la membrane interne, tandis que les protéines Tet (O) ou Tet (M) entraînent une protection des sites actifs du ribosome (Michel-Briand, 2002). La protéine Tet (M) est de second niveau d'importance en résistance aux tétracyclines pour les staphylocoques d'origine animale (Werckenthin, 2001).

VIII.2.9. Résistance aux rifamycines

Les rifamycines font partie de la famille des ansamycines. Leur isolement remonte à l'année 1957 de l'espèce *Amycolatopsis rifamycinica* anciennement appelés *Streptomyces mediterranei*. La molécule de rifamycine est scindée en sept différentes rifamycines classées en : A, B, C, D, E, S et V. Les deux autres molécules (rifampicine et rifabutine) découlent des rifamycines (David, 2013).

VIII.2.9.a. Mécanisme d'action

Les rifamycines se lient à la sous-unité β de l'enzyme ARN polymérase-ADN dépendante et bloquent l'initiation de copier des régions codantes de l'ADN bactérien pour les transcrire en ARN messenger. Les antibiotiques ont un effet bactéricide sur les souches sensibles de *S. aureus* (David, 2013).

VIII.2.9.b. Mécanisme de résistance

Les *S.aureus* résistent aux rifamycines par mutation du gène *rpoB* qui code la sous-unité β de l'ARN polymérase-ADN dépendante. Cette mutation modifie la structure de l'ARN polymérase sur laquelle l'antibiotique n'aura plus d'effet (David, 2013).

Les souches méticillinorésistantes décèlent la résistance à la rifampicine (Tankovic et al., 1997).

VIII.2.10. La résistance à la fosfomycine

La fosfomycine est extraite des *Streptomyces*, elle a été découverte et isolée durant les années soixante. Sauf que cette molécule nécessite une association avec le trométamol pour élever son trajet à travers l'appareil digestif si elle est prise par voie orale (David, 2013).

VIII.2.10.a. Mécanisme d'action

La fosfomycine est un antibiotique bactéricide aux *S. aureus*, elle intervient dans la première étape de synthèse de la paroi bactérienne, sa cible est l'enzyme énoylpyruvyl-transférase responsable de la synthèse du peptidoglycane. Une fois que la fosfomycine pénètre à l'intérieur de la cellule par voie transmembranaire, elle se lie par liaisons covalentes à cette enzyme et bloque son activité et inhibe de ce fait la formation du peptidoglycane (Bismuth et Leclercq, 2000).

VIII.2.10.b. Mécanisme de résistance

Le *S. aureus* exprime sa résistance à la fosfomycine par mutation des gènes *glpT* et *uhp* responsables du transport de l'antibiotique. Cette résistance est considérée d'une haute fréquence ce qui nécessite l'emploi d'autres antibiotiques en association à la fosfomycine (Zilhao et Courvalin, 1990 ; Etienne et al., 1991).

La résistance peut aussi découler par voie plasmidique en produisant un gène *FosB*, responsable de l'hydrolyse de la fosfomycine par ouverture de son noyau époxyde (Etienne et al., 1991).

VIII.2.11. Résistance à l'acide fusidique

Le *Fusidiumcoccineum* est la source naturelle de cet antibiotique, l'acide fusidique est un antibiotique stéroïdique de nature lipophile.

VIII.2.11.a. Mécanisme d'action

Cet antibiotique a un pouvoir bactéricide rapide sur les *S.aureus*. Son mécanisme d'action se base sur l'inhibition de la synthèse protéique ; qui se fait par élongation de chaînes peptidiques ; en formant un complexe stable avec EF-G qui est une GTPase (facteur d'élongation).

VIII.2.11.b. Mécanisme de résistance

L'affinité entre le facteur d'élongation et l'antibiotique se trouve réduite, cette diminution résulte de la mutation du gène *fusA* codant le facteur EF-G, cette résistance est de type chromosomique (O'Neil, 2007). Or, le *S.aureus* exprime aussi sa résistance par voie plasmidique aussi par modification de perméabilité grâce à des gènes codant appelés *fusB* ou *fusC* (Bismuth et Leclercq, 2000 ; O'Neil, 2007).

VIII.2.12. Résistance aux macrolides

Bien que leurs structures moléculaires soient différentes, les macrolides sont associés aux lincosamides et streptogramines pour être classés dans un même groupe appelé MLS, les deux derniers sont nommés les macrolides apparentés. Leur positionnement dans la même catégorie revient à leur similarité retrouvée en mécanismes d'action et en spectres antibactériens.

La lincomycine, la clindamycine et la pirlimycine font partie des lincosamides, alors que l'érythromycine est retrouvée chez les macrolides, ces molécules sont le plus souvent utilisées en médecine vétérinaire. Elles sont en fait utilisées dans le traitement des infections intra mammaires chez les vaches laitières et en tant que facteurs de croissance incorporés dans l'alimentation des animaux de consommation (Lina et al., 1999; Giguère, 2006).

VIII.2.12.a. Mécanisme d'action

Ce groupe d'antibiotiques ciblent la sous unité 50S ribosomale au niveau de l'ARN 23S, ils se fixent à cette sous unité bloquant ainsi le complexe aminoacetyl-ARNt et empêchant les acides aminés ; transportés par l'ARN de transfert, de se lier et de s'élonger en chaînes polypeptidiques. L'effet final de ces antibiotiques est l'inhibition de la synthèse protéique.

Les MLS sont des antibiotiques bactériostatiques, sauf les streptogramines qui sont bactéricides vis-à-vis des *S. aureus* (David, 2013).

VIII.2.12.b. Mécanisme de résistance

Deux mécanismes de résistance aux MLS sont développés chez les *S. aureus*. Le premier est de type chromosomal et le deuxième de type plasmidique. Le mécanisme le plus connu est une modification de l'ARN 23S, une méthylation de l'adénine 2058 de cet ARN empêche la fixation des MLS et inhibe leur action. Les enzymes responsables sont appelées les méthylases codées par les gènes nommés *erm* (erythromycin resistance methylase) et ce sont les gènes *ermA* et *ermC* qui sont les plus souvent rencontrés chez *S. aureus*. Cette résistance peut être inductible en présence de macrolides uniquement ou constitutive faisant face à tout le groupe MLS.

Le second mécanisme est basé sur les pompes à efflux (résistance plasmidique) qui sont codées par les gènes *msrA* et *msrB* pour les macrolides et les streptogramines de type B. ces pompes sont aussi codées par d'autres gènes le *linA* pour les lincosamides (Fluit et al., 2001 ; Giguère, 2006).

Chapitre II

Entérotoxines staphylococciques

I. Entérotoxines staphylococciques

Les entérotoxines appartiennent à la famille des exotoxines pyrogènes staphylococciques et streptococciques. Ces toxines comprennent, entre autres, les toxines du syndrome de choc toxique (TSST), les exfoliatines A et B, un groupe d'exotoxines streptococciques pyrogènes ainsi que les entérotoxines staphylococciques. Cette famille de protéines est à l'origine du syndrome de choc toxique, elle a été impliquée dans des cas de toxi-infections alimentaires et dans de nombreuses maladies auto-immunes ou allergiques (Le Loir et *al.*, 2003).

I.1. Croissance de *S. aureus* et toxinogénèse

Certaines souches entérotoxigènes de *S. aureus* peuvent produire des entérotoxines dans des conditions favorables à la toxinogénèse (Tableau 4). Ces conditions sont un peu plus restrictives que celles des cultures bactériennes (De Buyser, 2008 ; Anses, 2013).

Tableau 4 : Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse de *S. aureus* (De Buyser, 2008 ; Anses, 2013).

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
AW	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

*Les valeurs extrêmes indiquées dans le tableau ne sont observées que pour certaines souches

I.2. Caractéristiques des entérotoxines

Les entérotoxines sont des petites protéines, solubles dans l'eau et dans les solutions salines, à chaîne linéaire de faible masse moléculaire (tableau 5). Elles sont riches en résidus de lysine, tyrosine, acide aspartique et glutamique (Johler et Stepha, 2010).

Tableau 5 : Propriétés des entérotoxines A à J de *Staphylococcus aureus* (Michel, 2005).

Caractéristiques	Entérotoxines								
	A	B	C ¹	D	E	G	H	I	J
Masse moléculaire (kDa)	27,1	28,3	27,5	26,4	26,4	27,0	25,2	24,9	28,6
Point isoélectrique	7,3	8,6	8,6	7,4	7,0	5,7	5,7	8,6	8,6
Nombre d'acides aminés	233	239	239	228	230	233	218	218	245
Présence d'une boucle cystine	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Réponse émétique chez le singe	+	+	+	+	+	+	+	+	Nd ²
Localisation du gène ³	C	C ou p	C	P	C	C	C	C	P

Subdivisée en 3 sous classes, C1, C2, C3 et en variant bovin, ovin et canin, **Nd** : Non déterminé. **C** : chromosome, **P** : plasmide, * : Faible, ** : Très faible.

Les entérotoxines sont fortement stables et résistantes à l'irradiation et à la plupart des enzymes protéolytiques comme la pepsine et la trypsine, elles sont également résistantes à la chymotrypsine, la papaïne et la rénine. Elles conservent leurs activités dans le tube digestif après ingestion. Elles sont également très thermorésistantes (Le Loir et al., 2003 ; Jöhler et Stephan, 2010). Elles sont partiellement inactivées par la pasteurisation (Brisabois et al., 1997).

La stabilité des SE semble cependant dépendre d'un certain nombre de facteurs environnementaux. La forme native de l'entérotoxine staphylococcique A (SEA) produite directement dans un aliment apparaît notamment trois fois plus résistante à la chaleur (120°C pendant 15 min) que la forme purifiée de la protéine (Akhtar et al., 1996). L'inactivation thermique de SEA dépend du milieu dans lequel la toxine est présente (Rasooly et Do, 2009). Le pH, le type de matrice alimentaire, le type d'entérotoxines ainsi que la concentration initiale en protéines dans le milieu semblent aussi jouer un rôle dans la résistance à la chaleur des SE (Denny et al., 1971; Schwabe et al., 1990). Ainsi, il apparaît clairement que les

traitements thermiques qui permettent d'éliminer *S.aureus* d'une matrice ne permettent pas l'inactivation des entérotoxines préalablement produites.

Parmi les différentes entérotoxines, l'activité superantigènes de SEB a été largement étudiée et SEB est maintenant considérée comme une arme biologique puissante (Greenfield et al., 2002; Henghold, 2004).

I.3. *Staphylococcus aureus* et sécurité des aliments

A ce jour, 24 types d'entérotoxines ont été décrites dans la littérature. Ces différentes entérotoxines ont été désignées par une lettre de l'alphabet dans l'ordre de leur découverte. Elles ont été, dans un premier temps, identifiées grâce à leurs différentes propriétés antigéniques (SEA à SEJ). Depuis, le développement des techniques de séquençage a accéléré la découverte de nouveaux types d'entérotoxines (SEK à SEV). Ces SE, produites par *S.aureus*, présentent de fortes similarités en terme de structure, de séquences peptidiques et de fonction (Le Loir et al., 2003).

SEA, SEB, SEC, SED et SEE représentent les entérotoxines dites classiques, caractérisées et identifiées depuis de nombreuses années, et dont l'implication dans les toxi-infections alimentaires a été démontrée. Les entérotoxines classiques ainsi que les entérotoxines de type G et I ont un pouvoir émétique reconnu. Par contre les autres types des entérotoxines n'ont pas été testés. L'entérotoxine F n'est pas impliquée en sécurité des aliments mais joue un rôle important en santé publique. Il s'agit de la protéine TSST-1 qui est responsable de chocs toxiques lors d'infections à la suite d'une contamination par voie non alimentaire (De Buyser, 2008).

Pour l'entérotoxine de type C (SEC), différents sous-types ont été déterminés en fonction de la différence d'activité superantigénique des entérotoxines et de l'hôte auxquelles elles sont associées (SEC1, SEC2, SEC3, SEC bovine, SEC ovine, SEC caprine et SEC canine). Les toxines ne possédant pas d'activité émétique ou dont cette dernière n'a pas encore été testée sont nommés « Staphylococcal Enterotoxin-like Superantigens » (Sel-Ags). Toutes ces toxines partagent également des similarités de séquence en acides aminé (Le Loir et al., 2003).

La quantité d'entérotoxines nécessaire à l'intoxication dépend du type de toxine et de la sensibilité de l'individu à ces toxines, donc de son poids et de son état de santé général. Le (Tableau 6) présente les doses de toxines qui ont induit une réaction émétique chez le singe rhésus (*Macaca mulatta*) où des cas de TIAC reportés dans la littérature. L'homme est nettement plus sensible que le singe aux entérotoxines. La quantité d'entérotoxines impliquée

dans les cas de TIAC chez l'homme est plus faible que celle nécessaire pour induire une réaction émétique chez le singe (Tableau 06).

L'activité émétique des entérotoxines n'est pas aussi bien caractérisée que l'activité superantigène (Dinges et al., 2000). Il a tout de même été montré que ces deux activités étaient dissociées (Harris et al., 1993 ; Hovde et al., 1994 ; Dinges et al., 2000) et que les SE semblent avoir un effet sur les cellules épithéliales de l'intestin (Sugiyama et Hayama, 1965 ; Arbuthnott et al., 1990). Les mécanismes moléculaires et cellulaires impliquant l'activité émétique des SE n'étant pas suffisamment connus.

En 2004, une nouvelle nomenclature concernant les SE a été proposée pour la désignation des nouvelles SE : seules les entérotoxines ayant une activité émétique après administration par voie orale chez le singe seront désignées « SE », les autres seront désignées comme «staphylococcal enterotoxinlike» (SEI) (Lina et al., 2004). Les entérotoxines dites «classiques», SEA à SEE, ont déjà été impliquées dans des cas de TIAC. L'activité émétique des SE nouvellement décrites ; a été confirmée pour SEG et SEI (Munson et al., 1998), pour SEH (Su et Wong, 1995), et pour SER, SES et SET (Ono et al., 2008). SEL et SEQ ne présentent pas d'activité émétique lors de leur administration par voie orale à des singes (Orwin et al., 2002 ; Orwin et al., 2003) et sont donc désignées SEIL et SEIQ. Les autres entérotoxines décrites, dont l'activité émétique n'a pas été investiguée, seront appelées SEIJ, SEIK, SEIM à SEIP, SEIU et SEIV. SEH a été récemment incriminée dans des cas de TIAC par les produits laitiers (Ikeda et al., 2005a; Jorgensen et al., 2005a). SES et SET ont été découvertes dans une souche ayant été impliquée dans un cas de TIAC au Japon ; SES et SER (toxine également produite par cette souche) sont suspectées d'être les toxines impliquées dans l'infection alimentaire (Ono et al., 2008).

Tableau 6 : Doses d'entérotoxines staphylococciques ayant induit une réaction émétique dans des cas de TIAC ou d'essais sur animaux

Cas	Type d'entérotoxines	Dose ayant induit une réaction émétique	Références
Administration orale à des singes	SEA à SEE	5 à 20 µg/animaux	(Bergdoll, 1979)
Administration orale à des singes	SEH	30 µg/animal	(Su et Wong, 1995)
Administration nasogastrique à des singes	SEG SEI	80 µg/kg 150 µg/kg	(Munson, <i>et coll.</i> , 1998)
Administration intragastrique à des singes	SER SES SET	100 µg/kg (réaction après 5h) 100 µg/kg (réaction après 5h) 100 µg/kg (réaction après 1 à 5 jours)	(Ono, <i>et coll.</i> , 2008)
TIAC par du chocolat au lait, Etats Unis	SEA	94 à 194 ng/portion	(Evenson <i>et coll.</i> , 1988)
TIAC par du lait écrémé en poudre, Japon	SEA	20 à 100 ng/personne	(Asao, <i>et coll.</i> , 2003)
TIAC par une purée préparée avec du lait cru, Norvège	SEH	2,8 µg/portion	(Jorgensen, <i>et coll.</i> , 2005a)

I.4. Localisation et régulation des gènes des entérotoxines staphylococciques

Les souches de *S.aureus* entérotoxigène possèdent un ou plusieurs gènes codants pour les entérotoxines, ces derniers peuvent avoir différents supports génétiques, la plupart d'entre eux sont des éléments génétiques mobiles (tableau 7) qui peuvent être des plasmides (SEB, SED, SEJ, SER, SES et SET), des phages (tempéré pour SEA ou déficient pour SEE) ainsi que par des îlots génomiques (SEB, SEC, SEG, SEH, SEI, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP et SEQ). L'existence d'un opéron *egc* (enterotoxin gene cluster) a également été mise en évidence, ce dernier codant pour différentes SEs, tel que SEG, SEI, SEM, SEN et SEO (Hennekinne, 2009).

Tableau 7: Support génétique de certaines entérotoxines staphylococciques (Le Loir *et al.*, 2003)

Gene	Genetic location	Reference
sea	prophage	Betley and Mekalanos, 1985; Borst and Betley, 1994
seb	chromosome, plasmid, transposon	Shafer and Iandolo, 1978 Shalita <i>et al.</i> , 1977; Altboum <i>et al.</i> , 1985
secl	Plasmid	Altboum <i>et al.</i> , 1985
sec _{box}	pathogenicity island	Fitzgerald <i>et al.</i> , 2001
sed	plasmid (pIB485)	Bayles and Iandolo, 1989
see	defective phage	Couch <i>et al.</i> , 1988
seg	<i>Enterotoxin gene cluster (egc)</i> , chromosome	Jarraud <i>et al.</i> , 2001
sei	<i>egc</i> , chromosome	Jarraud <i>et al.</i> , 2001
sej	plasmid (pIB485)	Zhang <i>et al.</i> , 1998
sek	pathogenicity island	Orwin <i>et al.</i> , 2001
sel	pathogenicity island	Fitzgerald <i>et al.</i> , 2001
sem	<i>egc</i> , chromosome	Jarraud <i>et al.</i> , 2001
sen*	<i>egc</i> , chromosome	Jarraud <i>et al.</i> , 2001
seo*	<i>egc</i> , chromosome	Jarraud <i>et al.</i> , 2001

*Renamed after the correction note published in *J. Immunol.* 166: 4260 (2001).

La régulation des gènes des SEs est effectuée par un réseau complexe de différents régulateurs interagissant entre eux. Cependant, le principal système de régulation de *S.aureus*, contrôlant l'expression du gène des facteurs de virulence, est le régulateur de gènes accessoire, agr (accessory gene regulator), agissant en combinaison avec le système de régulateur de gènes staphylococciques, sar (staphylococcal accessory regulator).

Les gènes des entérotoxines SEB, SEC et SED ont été identifiés comme dépendants du système de régulation agr et SEA et SEJ comme indépendants. La production des entérotoxines contrôlée par le système agr dépend de la capacité de *S.aureus* à atteindre une densité cellulaire élevée dans les aliments (estimée à 10^6 ufc/g) lors de la croissance (Johler et Stephan, 2010). Les facteurs environnementaux, très mal connus, semblent également jouer un rôle important dans l'expression des gènes des SE.

Afin de comprendre ces mécanismes de régulation, il convient de s'intéresser aux facteurs externes (température, pH, activité de l'eau, présence de flore annexe...) régissant l'expression des ARNm et la production de toxines pour les gènes codants pour les SE dépendants ou non du système agr. Ainsi, différents auteurs se sont penchés sur différents facteurs régulant l'expression des gènes de croissance de *S.aureus* (Anderson et al., 2006 ; Bore et al., 2007; Alomar et al., 2008 ; Charlier et al., 2008); mais peu de données sont disponibles sur l'impact de ces facteurs sur la production d'entérotoxines. Delbes et al. (2006) semblent être les seuls à avoir travaillé sur l'impact de ces différents facteurs externes sur la production d'SE.

I.5. Modes d'action des entérotoxines

Ces dernières années, l'activité émétique SEA à E et SEH a été clairement démontrée et les ES ont été mises en évidence en étudiant les souches de *S.aureus* impliquées dans des TIAC staphylococciques, et elles étaient classées en types sérologiques distincts.

Récemment, l'analyse des séquences partielles ou complètes a permis l'identification de nouveaux types de SE (SEIJ à SEIV). L'identification de ces nouvelles SE était basée sur les similarités de séquence et de structure avec les SE existantes, les expériences ont démontré leur activité superantigénique in vitro et/ou in vivo mais rarement leur activité émétique. Les activités superantigéniques et émétiques correspondent à deux fonctions séparées localisées sur deux domaines de la protéine (Hovde et al., 1994 ; Dinges et al., 2000).

Les toxines pyrogéniques sont impliquées dans diverses pathologies, elles sont pyrogènes, elles provoquent une immunosuppression et une prolifération non-spécifique de

lymphocytes T. Ces activités définissent le caractère superantigénique, certaines toxines sont capables de provoquer d'autres symptômes. Parmi les superantigènes, seules les SE ont une activité émétique. Néanmoins, il existe une forte corrélation entre ces activités puisque, dans la plupart des cas, des mutations génétiques aboutissant à une perte d'activité superantigénique aboutissent aussi à la perte d'activité émétique (Dinges et *al.*, 2000 ; Hovde et *al.*, 1994).

Le mode d'action des SE pour provoquer les TIAC est peu documenté. Ceci rend difficile tout développement de mesure protectrice et de médicaments antitoxines d'autant plus que l'apparition des symptômes est généralement très rapide. Afin d'étudier le pouvoir émétique de certaines entérotoxines, plusieurs auteurs (Wright et *al.*, 2000; Hu et *al.*, 2003 ; 2007; Ono et *al.*, 2008) se sont penchés sur les mécanismes d'action déclenchant les vomissements. Plusieurs modèles animaux (singe cynomologus, furet et musaraigne) ont été utilisés pour réaliser les expérimentations par injections intrapéritonéales et/ou par ingestion orale d'entérotoxine staphylococcique de type SEA.

L'absence de modèle animal capable de reproduire les manifestations cliniques de la toxi-infection staphylococcique est probablement l'un des facteurs limitant les avancées. Les modèles animaux classiques comme la souris, le rat ou le lapin ne présentent en effet aucun réflexe émétique en réponse à l'ingestion de SE. D'autres modèles animaux, comme le chien, sont quant à eux trop sensibles pour que leur utilisation soit pertinente.

Chez le chaton, l'administration intraveineuse de SEB (Bergdoll, 1988) peut induire le réflexe émétique mais une ingestion intragastrique ne le fait pas (Sugiyama et *al.*, 1966). Ce modèle animal a ainsi été écarté compte tenu du peu de spécificité de la réponse émétique provoquée par l'administration des entérotoxines. Il serait plus approprié d'utiliser des singes (rhésus ou cynopithèque) qui présentent les symptômes émétiques reproduisant ceux de l'Homme après administration orale, gastrique, intraveineuse ou péritonéale (Sugiyama et *al.*, 1961 ; Sugiyama et Hayama T, 1964). Quoique ces études sur les primates soient très restreintes pour des raisons de coût et d'éthique.

Hu et *al.* (2007) ont pu démontrer que la SEA induisait la libération de sérotonine (5-hydroxytryptamine 5-HT) dans l'intestin suite à une injection intrapéritonéale. La sérotonine se fixe sur les récepteurs de type 5-HT₃ présents sur le nerf vague conduisant à une activation des centres émétiques. Lors d'expérimentations de dénervation, ces auteurs ont démontré que la SEA n'induisait plus de vomissement. Enfin, l'utilisation d'analogues de la 5-HT comme les carbanoïles de type 1 inhibe la réponse émétique.

II. Techniques de détection des entérotoxines

Les entérotoxines sont difficiles à détecter dans les denrées alimentaires en raison de leurs faibles quantités présentes ainsi que leur nature protéique. Pour détecter les SE dans les denrées alimentaires trois méthodes sont généralement utilisées: les techniques biologiques, les techniques immunochimiques et les techniques de biologie moléculaire. Pour doser les SE par des techniques immunochimiques et certaines méthodes biologiques, il est nécessaire au préalable d'extraire et de concentrer les toxines de la matrice alimentaire.

II.1. Techniques biologiques

Les techniques biologiques sont basées sur la détermination de la capacité des aliments suspects à provoquer des troubles gastro-intestinaux ou des vomissements chez les animaux et/ou leur action superantigénique sur des cultures cellulaires.

Historiquement, la détection des SE se faisait par l'administration des échantillons suspects à des animaux, des singes le plus souvent. Ce type d'essai présente de nombreux désavantages : il soulève des problèmes éthiques liés à l'utilisation d'animaux et c'est un essai coûteux dont la sensibilité n'est pas suffisante, les singes étant moins sensibles aux SE que les humains. L'activité émétique des entérotoxines a été testée sur d'autres animaux que les singes, les musaraignes (Hu et *al.*, 2003) et les furets (Wright et *al.*, 2000) par exemple, mais plutôt dans le but de mieux comprendre les mécanismes d'action des SE. Deux autres méthodes, qui exploitent l'activité superantigénique de SEA, ont été développées pour détecter SEA (Hawryluk et Hirshfield, 2002; Rasooly et Do, 2009). Elles permettent de détecter SEA à des concentrations très faibles (de l'ordre du picomolaire ou du picogramme/ml) mais pour le moment SEA est la seule entérotoxine pour laquelle ces méthodes sont disponibles.

II.2. Techniques immunochimiques

Les techniques immunochimiques sont basées sur l'utilisation d'anticorps spécifiques anti-SE. La détection des entérotoxines se fait par l'utilisation de kits commerciaux, pour les entérotoxines classiques, trois de ces kits (Transia Plate SET de Diffchamb S.A., Ridascreen SET de R. Biopharm et TECRA SEVI de Tecra) utilisent la méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

La technique ELISA consiste à utiliser des anticorps spécifiques fixés sur une phase solide et une enzyme (ex : peroxydase) qui va catalyser une réaction libérant un composant

coloré dont la concentration peut être mesurée par spectrométrie. Les SE présentes dans l'échantillon analysé vont tout d'abord se lier aux anticorps attachés sur la phase solide. Puis, soit en introduisant des SE conjuguées à l'enzyme qui vont se fixer sur les anticorps « libres » (ELISA compétitif), soit en ajoutant des anticorps couplés à l'enzyme (anticorps secondaires) qui vont se fixer sur les SE de l'échantillon elles-mêmes fixées sur la phase solide (ELISA Sandwich), la concentration en SE va pouvoir être évaluée inversement (ELISA compétitif) ou proportionnellement (ELISA Sandwich) à l'intensité de couleur.

Le kit commercial SET RPLA d'Oxoïd utilise la méthode d'agglutination passive reverse de particules de latex (RPLA, Reverse Passive Latex Agglutination). Dans ce cas, les anticorps anti-SE sont fixés sur des particules en latex qui s'agglutinent en présence des entérotoxines. Le kit commercialisé (VIDAS SET 2 de BioMérieux) utilise la méthode ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) : le principe est le même que pour l'ELISA Sandwich sauf que l'enzyme conjuguée aux anticorps (la phosphatase alcaline dans le VIDAS SET 2) catalyse une réaction dont le produit va pouvoir être quantifié par mesure de la fluorescence.

II.3. Techniques de biologie moléculaire

Les méthodes de biologie moléculaire utilisées pour détecter les entérotoxines impliquent souvent une PCR (Polymerase Chain Reaction). La PCR permet en effet de rechercher les gènes codant pour des entérotoxines dans des souches de *S.aureus* isolées d'aliments contaminés. L'application de cette méthode nécessite que les souches de *S.aureus* soient isolées. Cette technique permet d'indiquer la présence ou l'absence de gènes codant pour les SE mais elle ne permet pas de savoir si les gènes étaient exprimés au cours de la fabrication des aliments.

II.3.1. Rappels sur la PCR

La réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction ou PCR) est une technologie qui a bouleversé la biologie moléculaire, cette technique fut inventé en 1983 par Mullis, et brevetée en 1985 par Herlich et al. de la compagnie Cetus (Mullis et Falooma, 1986). Ce dernier permet pour la première fois l'amplification sélective in vitro d'une séquence d'ADN correspondant au gène B-globuline (Saiki et al., 1985).

Depuis sa mise au point, la PCR est devenue un outil universel dans le domaine de la biologie, elle s'est implantée très rapidement dans les laboratoires, son usage s'est étendu à de nombreuses applications, Ceci est principalement due à la sensibilité de la technique et la capacité d'analyser de faibles quantités d'ADN. En effet, une quantité de 0.5ng d'ADN est

suffisante pour effectuer la réaction de PCR (Saiki et al., 1985 ; Mullis et Faloona 1987 ; Saiki et al., 1988 ; Schumm et al., 1995).

II.3.2. Principe de base d'une PCR

La PCR est une technique d'amplification enzymatique de l'ADN par l'utilisation d'une ADN polymérase et des amorces délimitant la région à amplifier en présence de co-facteurs. Il s'agit d'une succession de cycle thermique. Chaque cycle est constitué de trois périodes différentes de dénaturation/hybridation/élongation où la quantité de produits PCR est doublée à la fin de chaque cycle (Figure 3).

II.3.3. Composantes de la PCR

II.3.3.a. Matrice.

La matrice est constituée de l'ADN, ce dernier est obtenu par extraction suivant une méthode de lyse préalable des cellules et captation des acides nucléiques avec élimination des éléments non nécessaires par purification en utilisant des produits chimiques ou des variations thermiques. Les produits les plus fréquemment utilisés en lyse chimique sont: le sulfate de guanidine et le chloroforme. La captation des acides nucléiques est le plus souvent réalisée par l'utilisation de silice magnétique, le fer et les résines échangeuses d'ions. Cependant la lyse thermique est effectuée par choc thermique, elle consiste à passer brusquement de -20°C à 100°C provoquant aussi une lyse de la paroi bactérienne et la libération de l'ADN (Bogard et Lamoril, 1998).

II.3.3.b. Amorces.

Les amorces jouent un rôle dans la délimitation de la région de l'ADN à amplifier avec leur extrémité 3'OH libre servant d'amorce pour l'ADN polymérase. Les séquences nucléotidiques des amorces doivent être spécifiques des séquences complémentaires de l'ADN simple-brin auxquelles elles vont s'apparier. De plus, la spécificité de la séquence est importante dans le sens où celle-ci ne doit pas pouvoir s'apparier à une autre séquence de l'ADN que l'on ne souhaite pas répliquer. Le choix des séquences des amorces est crucial et doit être fait de telles sortes à minimiser les possibilités d'appariement entre elles. De même, chaque amorce est choisie pour ne pas pouvoir former une structure secondaire. Le procédé même de la PCR reposant, entre autres, sur des équilibres thermodynamiques, les amorces doivent avoir des températures de fusion le plus proche que possible, autrement dit le rapport

entre les bases A-T et G-C des deux amorces ne doit pas être trop différent (Bogard et Lamoril, 1998).

II.3.3.c. dNTP (desoxynucleotide triphosphate).

Au cours d'une PCR le dNTP est utilisé comme un élément de synthèse des brins d'ADN, il est composé d'un mélange de quatre nucléotides triphosphates (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) (Bogard et Lamoril, 1998).

II.3.3.d. Cofacteur.

Le cofacteur est une substance nécessaire en plus d'une enzyme pour le déroulement d'une réaction. Le magnésium (Mg) est le cofacteur le plus couramment utilisé (Bogard et Lamoril, 1998).

II.3.3.e. Tampon.

Au cours de la réaction PCR, le tampon sert à maintenir la stabilité du pH du milieu réactionnel au niveau optimal pour la Taq polymérase, il contient souvent des cations bivalents Mg^{2+} (Bogard et Lamoril, 1998).

II.3.3.f. Enzyme Taq polymérase.

C'est une polymérase thermostable, extraite d'une bactérie (*Thermus aquaticus*) des sources chaudes (80-90°C). D'autres enzymes thermorésistantes sont actuellement utilisées, elles proviennent d'autres microorganismes : la pfu extraite de *Pyrococcus furiosus* et Vent extraite de *Thermococcus litoralis* (Bogard et Lamoril, 1998).

III. Etapes de l'amplification PCR

III.1. PCR classique

III.1.a. Mélange réactionnel et cycles de température

III.1.a.1. Dénaturation de la matrice

La dénaturation vise la séparation des deux brins d'ADN par la rupture des liaisons non covalentes (ponts hydrogènes) entre les bases appariées en utilisant la chaleur (95°C). L'ADN monocaténaire ainsi obtenu servira de matrice pour la synthèse de nouveaux brins. En diminuant la température de la solution à des niveaux favorisant la renaturation de l'ADN, il y a une fixation des amorces à leurs séquences complémentaires sur le brin d'ADN dénaturé. La concentration en molarité des amorces doit être de 10^6 fois supérieure à celle des séquences à

amplifier, afin de favoriser cette liaison (Wiedbrauk et farkas, 1994). La longueur et la composition en nucléotides des amorces contribuent à la spécificité de la liaison à la séquence cible. D'une part, les paires G-C sont plus stables que les paires A-T. D'autre part, plus une amorce est longue, plus la probabilité qu'elle soit unique dans le génome est grande.

Le processus de dénaturation est influencé par le type de solvant, la concentration de sel et le pH utilisés. Une faible concentration de sel avec un pH élevé et en présence de solvants organiques tels que le formaldéhyde, la température de fusion T_f diminue. La concentration de G/C et T/A peut également influencer la valeur de la T_f . La T_f de la structure de l'ADN contenant une quantité élevée de G/C est supérieure à celle de l'ADN riche en T/A. Par exemple, *Serratia marcescens* a une concentration de G/C approximativement d'environ 60 % et une T_f d'environ 94 °C, tandis que *Pneumococcus* a approximativement 40 % de G/C et une T_f d'environ 85 °C.

III.1.a.2. Hybridation des amorces.

L'hybridation s'effectue à une température plus basse, généralement comprise entre 55 – 65 °C. Au cours de cette phase, la diminution de la température permet aux liaisons hydrogène de se reformer et donc aux brins complémentaires de s'hybrider et les deux chaînes complémentaires d'ADN monocaténaire se reformeront en une molécule d'ADN bicaténaire. Les amorces, courtes séquences monocaténaires complémentaires de régions qui flanquent l'ADN à amplifier, s'hybrident plus facilement que les longs brins d'ADN matriciel. Plus la température d'hybridation est élevée, plus l'hybridation est sélective, plus elle est spécifique.

III.1.a.3. L'élongation.

Cette étape s'effectue à une température de 72°C, dite température d'élongation. À 72°C, la Taq polymérase se lie aux ADN monocaténaire amorcés et catalyse la réplication en utilisant les désoxyribonucléosides triphosphates présents dans le mélange réactionnel. Les régions de l'ADN matriciel en aval des amorces sont ainsi sélectivement synthétisées.

Au cycle suivant, les fragments synthétisés au cycle précédent servent à leur tour de matrice et au bout de quelques cycles, l'espèce prédominante correspond à la séquence d'ADN comprise entre les régions où les amorces s'hybrident. Il faut compter 20 à 40 cycles pour synthétiser une quantité analysable d'ADN (environ 0,1 microgramme).

Chaque cycle voit théoriquement doubler la quantité d'ADN présente au cours du cycle précédent. Il est recommandé de rajouter un cycle final d'élongation à 72°C, notamment lorsque la séquence d'intérêt est de grande taille (supérieure à 1 kilobase), à raison de 2

minutes par kilobase. La PCR permet d'amplifier des séquences dont la taille est inférieure à 6 kilobases.

Certains agents affectent la réaction d'amplification et agissent comme des inhibiteurs (Comey et al., 1994 ; Akane et al., 1996 ; Del Rio et al., 1996). Les détergents comme le SDS, les composés porphyriques dérivés de l'hème, et la protéinase K en sont des exemples (Higuchi, 1989 ; Akane, 1996). Des éléments copurifiés avec l'ADN lors de l'extraction telles colorants présents dans les vêtements peuvent aussi inhiber l'amplification (Comey et Budowle, 1991 ; Jung et al., 1991 ; Koblinsky, 1992 ; Del Rio et al., 1996). La présence d'ADN trop dégradé empêche la fixation et l'élongation efficace des amorces rendant l'amplification du fragment impossible. Par contre, la longueur des fragments analysés par PCR n'excède pas quelques centaines de bases, de sorte qu'un ADN partiellement dégradé peut être amplifié (Hagelberg et al., 1990 ; Hochmeister et al., 1991).

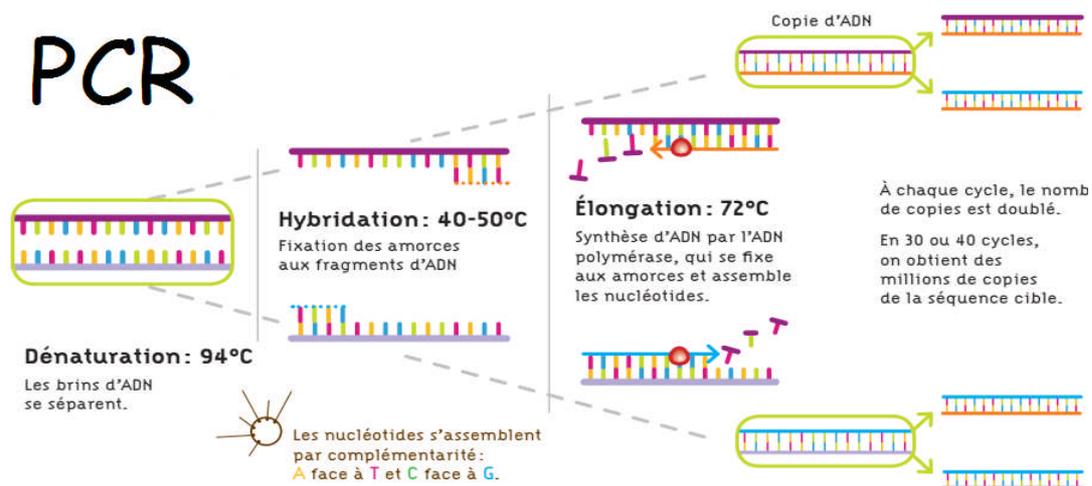


Figure 3: Illustration schématique de la PCR

III.1.b. Electrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel d'agarose permet la séparation de fragments d'ADN, de différentes tailles (200-15000 pb), par migration sous l'influence d'un champ électrique constant. Le gel d'agarose est un réseau complexe de polymère, composé d'agarose et d'un tampon aqueux. La taille des pores est déterminée par la composition de ce dernier et par la concentration et le type d'agarose utilisé. Plus les pores du gel sont grands, plus la taille des molécules que le gel peut séparer est grande. L'ADN qui est chargé négativement migre à travers le gel en direction de l'électrode positive. D'une manière générale, les petits fragments ADN migrent plus vite que les grands. L'ajout de bromure d'éthidium au gel d'agarose permet de voir apparaître les fragments d'ADN sur le gel. En effet, le bromure d'éthidium est

capable de s'intercaler entre les paires de bases empilées de l'ADN et permet, lors de l'illumination sous lumière UV du gel d'agarose, l'apparition de l'ADN sur le gel comme une bande de fluorescence (Reece, 2004).

III.2 . La multiplex PCR pour la détection des gènes codants pour les entérotoxines

La multiplex PCR a les mêmes principes de base que la PCR classique, cependant elle permet l'amplification de différentes séquences d'ADN cibles en une seule réaction. Les couples d'amorces correspondant aux différentes séquences à amplifier sont introduites dans le même tube réactionnel avec les autres éléments nécessaires à la réaction PCR. Cependant, la mise au point de cette technique est plus difficile que pour une PCR classique, étant donné le nombre d'amorces et de réactifs utilisés pour l'amplification des différentes séquences d'ADN (Zangenberg et al., 1999). La lecture des résultats est effectuée de la même manière que pour la PCR classique. Cette méthode permet également de réduire le coût et le temps d'analyse ainsi que la quantité d'ADN nécessaire à la réaction PCR.

CHAPITRE III

Facteurs de risque de contamination des carcasses à l'abattage

I. Structures d'abattage

Les structures d'abattage sont représentées par les abattoirs et les tueries, ces derniers doivent respecter les normes d'implantation, de construction et d'approvisionnement en matière première et en eau. Les opérations qui s'y déroulent doivent respecter les principes d'aménagement de même que l'hygiène. Ils sont conçus pour permettre l'opération d'abattage dans des conditions hygiéniques souhaitées. Classiquement les opérations d'abattage se déroulent selon le diagramme suivant :

II. Description du procédé d'abattage des volailles

L'abattage des volailles se fait selon la pratique de l'abattage Hallal, il se déroule en différentes étapes (Lehuraux, 1997) :

II.1. Repos et diète hydrique

Une fois réceptionnées dans les établissements d'abattage, les volailles sont soumises à un repos et une diète hydrique d'environ 12 heures afin de prévenir la bactériémie d'abattage, la déchirure des intestins et la souillure des carcasses par les déjections. Avant l'abattage, une inspection ante-mortem est obligatoire pour juger de l'état de santé des volailles, néanmoins le mode de transport des animaux (en caisse) ne permet pas de faire un examen individuel des animaux à cause du nombre de volailles parfois élevé et les risques d'étouffement des animaux par le stress causé par cette intervention. C'est dans cet objectif que la réglementation impose qu'une fiche sanitaire d'élevage doit accompagner chaque lot de volailles destinées à l'abattage (Lehuraux, 1997).

II.2. Accrochage

Les oiseaux sont accrochés manuellement par les pattes dans des étriers en métal, la tête en bas.

II.3. Étourdissement

L'étourdissement peut être réalisé sans causer la mort de l'animal, il permet de faciliter la saignée par la sensibilisation des animaux avant leur abattage (J.O.R.A.D.P. N°15, 2014).

II.4. La saignée

Elle peut se faire à la main ou bien mécanique, la durée de la saignée doit être suffisante pour garantir une saignée complète (J.O.R.A.D.P. N°15, 2014).

II.4.1. Abattage à la main

Ce type d'abattage est exécuté par une personne chargée de l'abattage, la tête de la volaille est convenablement saisie par la main et étirée vers le bas. Par la suite une coupe de toute la trachée et des veines jugulaires est réalisée à l'aide d'un couteau tranchant pour assurer une saignée complète.

II.4.2 Abattage mécanique :

L'abattage mécanique est réalisé à l'aide d'un couteau mécanique qui doit être en une seule lame tranchant; l'acte d'abattage doit permettre de couper toute la trachée et toutes les veines jugulaires; la personne chargée de l'abattage doit s'assurer que chaque volaille a été correctement abattue, la durée de la saignée doit être suffisante pour garantir une saignée complète.

II.5. Echaudage

L'échaudage consiste à l'immersion des volailles dans un bac d'eau chaude, Cette opération a pour but de dilater les follicules plumeux pour faciliter l'enlèvement des plumes. La température de l'eau d'échaudage varie entre 45 et 52°C pour les carcasses destinées à être réfrigérées et entre 55 et 58°C pour celles destinées à la congélation.

II.6. La plumaison

Cette opération consiste en l'enlèvement manuel ou mécanique des plumes tout en évitant la détérioration de la carcasse. Dans la plumaison mécanique des plumeuses dotées d'un cylindre et des doigts en caoutchouc sont utilisés. Les appareils doivent être bien réglés afin d'éviter des dommages au niveau des carcasses (déchirures, fractures, ...).

II.7. Eviscération

II.7.1. Eviscération partielle ou effilage

Elle consiste en l'enlèvement manuel ou mécanique (à l'aide d'une pompe à effilage) de l'intestin par l'orifice cloacal tout en gardant les abattis (pattes, tête et cou) et les autres viscères (jabot, foie, cœur et poumon).

II.7.2. Eviscération totale

L'éviscération totale consiste en une perforation antérieure ou abdominale, de la carcasse, suivi d'une excision de l'œsophage, du jabot, de la trachée, des viscères abdominaux (proventricule, gésier, intestin et foie) et thoraciques (cœur et poumons), les pattes sont également coupées au niveau de l'articulation du jarret.

II.8. Lavage

Après l'éviscération, les carcasses subissent un lavage final par aspersion ou par immersion dans un bac d'eau potable.

II.9. Ressuage

Les carcasses sont placées dans des chambres froides ventilées dites de « ressuage » destinées à faire évaporer l'humidité de la surface de la peau et abaisser la température à cœur des carcasses à 0°C, le séchage superficiel permet de réduire le risque de développement de germes de contamination des carcasses. Le ressuage peut se faire également à l'air libre (statique ou dynamique).

III. contamination des carcasses de volailles dans les établissements d'abattage.

III.1 Influence des opérations d'abattage sur la contamination des carcasses de volailles par *S. aureus*.

La contamination de la viande de volaille par les *S. aureus* est souvent superficielle, le non retrait de la peau favorise la présence de ce germe sur les carcasses. Les modes de contamination et de dissémination de ce germe sont très variés, tous les maillons de la filière peuvent être incriminés (Rozier *et al.*, 1985 ; Salvat, 1997, Wray *et al.*, 1997). Cependant, les abattoirs et les tueries sont des sites privilégiés d'inter-contamination, lorsque plusieurs paramètres peuvent apparaître potentiellement favorables (Kotula et Pandya, 1995 ; Mead *et al.*, 1993). La contamination par *S.aureus* peut avoir plusieurs origines où les modalités de l'abattage des volailles jouent un rôle dans la contamination croisée entre les lots, ce qui conduit en fin de chaîne à un nombre important de carcasses contaminées et à des niveaux de contamination très élevés (Kotula et Pandya, 1995 ; Mead *et al.*, 1993).

III.1.1. Echaudage

Cette étape est le siège d'importantes contaminations croisées des carcasses (Reiter *et al.*, 2007). Le trempage des volailles dans le bac d'échaudage constitue une source de contamination de l'eau d'échaudage par les *S. aureus* et les autres bactéries initialement présents à la surface des volailles ou apportés par le matériel utilisé. Ces micro-organismes

adhèrent à la peau d'abord par des mécanismes physico-chimiques puis par des liaisons plus permanentes entraînant la formation d'un biofilm difficile à retirer si le rinçage de la peau n'est pas réalisé immédiatement après la contamination. En particulier, les micro-organismes seront retenus dans la fine couche d'eau présente à la surface de la carcasse après l'échaudage (Corry et Atabay, 2001), d'autant plus que la température est basse.

Un mauvais nettoyage et une mauvaise désinfection des bacs d'échaudage, favorisent également la contamination de ces derniers, cependant, une température trop élevée est aussi déconseillée en raison de l'abrasion cutanée qu'elle provoque et qui facilite ensuite la pénétration des bactéries (Lahellec et Meurier, 1973).

III.1.2. Plumaison

Au cours de cette étape, la pression exercée par les doigts plumeurs, lors de la plumaison mécanique, entraîne un transfert de la contamination des plumes gorgées d'eau d'échaudage vers les follicules plumeux et la surface de la peau. Les doigts plumeurs peuvent également constituer une source de contamination supplémentaire des carcasses par *S.aureus* lorsqu'ils ne sont pas bien nettoyés ou désinfectés correctement (Berrang et Buhr, 2001).

III.1.3. Eviscération

L'éviscération est un autre point à risque de la contamination croisée, au moment du retrait de la masse intestinale, les viscères peuvent se rompre par mauvaise manipulation et provoquent par conséquent une contamination superficielle des carcasses (Rivoal et Denis, 1999). Les mains des manipulateurs peuvent constituer un risque aussi si elles sont souillées (Lahallec *et al.*, 1973).

III.1.4. Lavage

Le rinçage des carcasses permet de retirer une partie de la contamination, mais la peau se gorge d'eau et les *S.aureus* (et les autres bactéries) sont retenus dans les plis et les brèches de la peau, en particulier les follicules plumeux (Corry et Atabay, 2001). Le lavage final des carcasses dans un bac d'eau peut être à l'origine d'inter-contamination, en effet, la qualité de l'eau utilisée ainsi que les conditions d'hygiène générale du matériel et du personnel peuvent jouer un rôle dans la contamination de ces carcasses (Corry et Atabay, 2001).

III.1.5. Refroidissement

Le refroidissement des carcasses à l'air dans une chambre froide ou par jet d'air continu peut être à l'origine des contaminations par des germes aéroportés.

III.1.5.1. Refroidissement dans l'eau à contre-courant

Ce procédé est appliqué sur les carcasses destinées à être congelées, les carcasses sont trempées dans de l'eau glacée, un courant d'eau étant entretenu dans le sens inverse du cheminement des produits permettant d'assurer une dilution des contaminations.

Deux phénomènes se produisent alors :

- le renouvellement du film liquidien d'où la diminution de la contamination superficielle des carcasses ;
- l'augmentation des contaminations croisées entre les carcasses par effet de trempage de toutes les carcasses dans un même bac de refroidissement. Il paraît vraisemblablement que ce procédé soit à l'origine d'un nivellement de la contamination (*Salmonella*). Il augmente celle des carcasses faiblement polluées et diminue celle des carcasses dont la contamination microbiologique est plus importante (DILA, 2010).

III.1.5.2 Refroidissement par air ventilé

C'est le procédé le plus utilisé dans les abattoirs de volailles. Par l'application d'un froid précoce, cette étape permet d'inhiber la multiplication des germes retenus de par la diminution rapide de la température et de l'activité de l'eau à la surface de la peau. La formation d'un biofilm sur les surfaces froides, humides et souillées par de la matière organique entraîne la survie durable et la multiplication de *Listeria monocytogenes*, bactérie psychrotrophe. Certains abattoirs réalisent un pré ressuyage précoce ou assèchement d'air sur chaîne dont l'action amènera à l'abaissement de la température des carcasses. Ce dernier permet en outre d'éviter le contact entre les carcasses humides et les parois (Salvat et Colin, 1995).

III.1.6. Conditionnement

Lors du conditionnement, la contamination peut être due aux manipulations humaines ou aux contacts avec du matériel souillé.

Le film de polyéthylène suivant le conditionnement peut-être ; en présence de contamination superficielle de la carcasse ; un moyen favorable au développement des *Pseudomonas*.

III.2. Contamination post-mortem

La contamination post mortem résulte généralement du contact avec des mains, des vêtements, des matériels ou des installations sales (FAO, 1994).

III.2.1. L'homme

L'homme peut être un vecteur actif ou passif de dissémination des germes, Il constitue une source abondante et renouvelée de micro-organismes divers qui peut contaminer des carcasses de volailles lors de la préparation (mains et des vêtements souillés du personnel). Chez l'homme, *S. aureus* peut provenir de personnes malades ou de porteurs sains (bouche, gorge, nez et peau) (Rozier, 1990).

III.2.2. Matériels et équipements

Les matériels et les équipements qui servent à la préparation des carcasses peuvent être à l'origine des contaminations des carcasses lorsqu'ils sont souillés ou mal désinfectés.

III.3 Origine endogène

III.3.1. Les animaux

Le portage de *S.aureus* peut exister chez la volaille en bonne santé (plumes, peau, muqueuses, cavités nasales) ou convalescents ayant subi de mauvais traitements lors du ramassage ou de l'abattage (OMS, 1976).

ETUDE EXPERIMENTALE

Objectifs

Les objectifs principaux de cette étude sont:

- L'estimation du niveau de la charge bactérienne des carcasses du poulet et de la dinde, par les staphylocoques à coagulase positive prélevées dans quelques établissements d'abattage de la wilaya d'Alger.
- L'évaluation des prévalences de *S. aureus* dans les carcasses de poulet et de dinde dans quelques établissements d'abattage de la wilaya d'Alger.
- Identification des principaux facteurs de risque liés à la contamination des carcasses de volailles fraîchement abattues.
- L'étude de la sensibilité des souches de *S. aureus* isolées envers différents antibiotiques utilisés dans le traitement des pathologies aviaires et humaines.
- La caractérisation génotypique des souches isolées par la recherche des gènes codants pour les entérotoxines.

Notre partie expérimentale s'est déroulée en quatre étapes:

- La première étape, concerne une enquête que nous avons menée, sur les caractéristiques générales, les pratiques et procédés d'abattage ainsi à un état des lieux en matière d'hygiène, sur les établissements d'abattage de volailles de la wilaya d'Alger, lieux où nous avons prélevé nos échantillons.
- La deuxième étape, concerne l'isolement et l'identification biochimique des staphylocoques isolés à partir de carcasses de volaille.
- Dans la troisième étape, nous nous sommes intéressés à la caractérisation phénotypique des isolats, par l'étude des profils de résistance des souches isolées vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques.
- La quatrième étape, concerne la caractérisation génotypique des isolats, par la recherche des gènes codants pour les entérotoxines.

1. Description des procédés d'abattage des établissements étudiés

Nous avons jugé utile de donner un descriptif sur les procédés d'abattage appliqués au niveau des établissements choisis pour notre étude que nous estimons importants ayant un impact direct sur la qualité hygiénique carcasses.

1.1 Etablissement d'abattage traditionnel (Tueries)

Tous les établissements d'abattage traditionnels étudiés opèrent de la même manière. Après la saignée, les sujets sont posés dans des saignoirs afin d'évacuer le sang. Pour faciliter la plumaison, le cadavre est ensuite trempé dans une cuve à échauder contenant de l'eau chaude (50 °C à 55 °C). Dans la majorité des tueries, cette eau est utilisée pendant toute la journée. L'oiseau est ensuite plumé mécaniquement par une plumeuse à doigts de caoutchouc. Une fois plumée, la carcasse est placée sur une pailleuse, la tête et les pattes sont coupées et les viscères sont enlevés. Après éviscération, la carcasse et les abats sont enfin lavés et essuyés à l'air libre, et fournis au point de vente dans des sacs en plastique. Chez la dinde, la plumaison se fait à sec sans trempage dans le bac d'échaudage.

1.2 Etablissement d'abattage industriels et semi industriels

Les opérations d'abattage du poulet de chair suivent les étapes suivantes :

1.2.a. Réception et accrochage des volailles

Dès l'arrivée à l'abattoir, les volailles sont déchargées mécaniquement sur un quai de débarquement, les cages déchargées sont déposées par la suite sur une table élévatrice qui les conduit dans le hall d'abattage. Elles sont ensuite dirigées au moyen d'un convoyeur à chaîne vers le poste d'accrochage où les volailles sont accrochées par les pattes sur une chaîne à étriers. Au bout du convoyeur, les cages rentrent dans un tunnel de lavage; elles en ressortent pour être rechargées dans un container ou directement sur un camion.

1.2.b. Abattage

Les volailles accrochées, tête en bas, transitent par un bac d'hydrocution où elles sont étourdiées par un courant à basse tension avant d'être saignées. L'abattage est exécuté par une personne chargée de l'abattage, la tête de la volaille est convenablement saisie par la main et étirée vers le bas. Par la suite une coupe de toute la trachée et des veines jugulaires est réalisée à l'aide d'un couteau tranchant pour assurer une saignée complète.

1.2.c. Plumaison

Les volailles passent dans deux échaudoirs, contenant respectivement 10 m³ et 15 m³ d'eau maintenue à une température de 52°C par injection de vapeur au besoin. Pour améliorer la plumaison, à leur sortie du bac, les volailles entrent dans une plumeuse d'attaque, où les plumes sont arrachées par des «doigts» en caoutchouc animés d'un mouvement bi-rotatoire. Une seconde plumeuse permet la finition. Les «doigts» de plumage

sont regroupés par six ou neuf sur des têtes également animées d'un mouvement de bi-rotation. Les plumes sont évacuées sous les plumeuses dans un caniveau équipé d'un évacuateur à palettes, aboutissant dans deux bennes de 20 m³ situées sur la plate-forme couverte en bout du quai d'accrochage.

1.2.d. Eviscération

Les volailles plumées passent dans la salle d'éviscération où les viscères sont arrachés manuellement par des opérateurs et déposées sur un tapis, qui les déverse dans un bac inox, pour être aspirées vers une cuve de stockage située à l'extérieur, les abats (foies et/ou cœurs) sont séparés des viscères et collectés à part dans des bacs.

1.2.e. Récupération des carcasses et ressuage

Après éviscération, les pattes sont coupées et la carcasse tombe sur un tapis pour être pesée, calibrée automatiquement, bridée, puis mise sur chariots. Les pattes sont décrochées automatiquement de la chaîne et recueillies dans des bacs. Les chariots de carcasses sont dirigés vers la chambre froide de ressuage.

II. Matériels et Méthodes.

II.1. Cadre de l'étude.

Le présent travail a été réalisé dans la wilaya d'Alger entre 2012 et 2015 au niveau des services de microbiologie du laboratoire d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, du centre Hospitalo Universitaire Mustapha Pacha ainsi que le laboratoire de bactériologie de l'université Mustafa Kemal, Hatay, en Turquie.

II.1.1. Répartition des établissements d'abattage de la wilaya d'Alger

Les établissements d'abattage (EA) de la wilaya d'Alger appartiennent tous au secteur privé, ils sont répartis sur 10 daïras (Figure 5.)

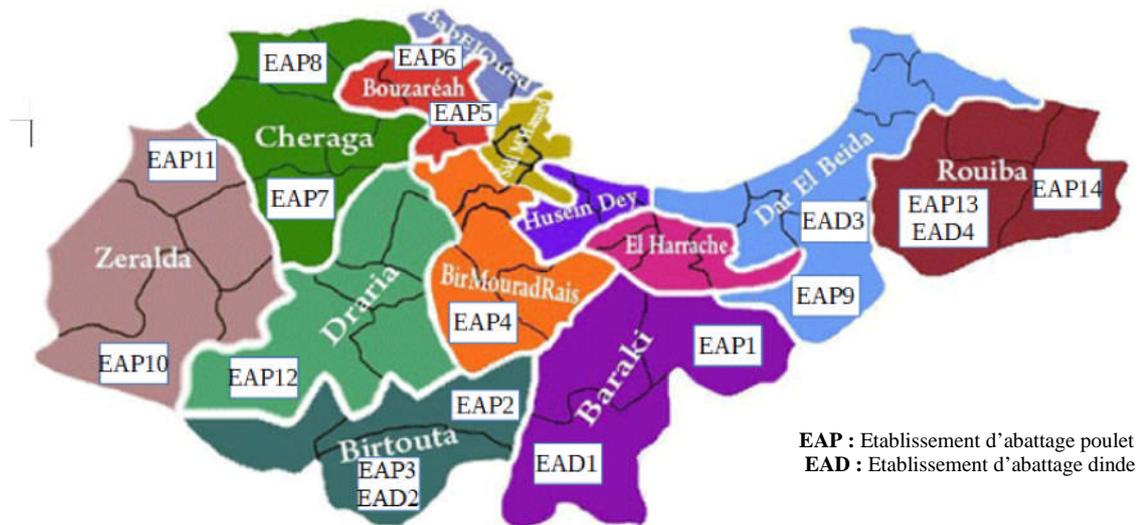


Figure 5: Répartition géographique des établissements d'abattage étudiés

II.2. Echantillonnage

Un total de 1280 prélèvements de carcasses de volaille a été effectué durant la période allant de juillet 2012 à juin 2013, soit une durée totale de 8 mois.

II.2.1. Sélection des établissements d'abattage

Le plan d'échantillonnage a concerné 9 Daïras sur 12, La Daïra de Bab El Oued compte 1 seul établissement d'abattage qui n'était pas coopératif (tableau8).

Sur un total de 57 établissements d'abattage agréés et fonctionnels, 16 d'entre eux ont été retenus pour réaliser notre étude répartis comme suit:

- Deux établissements à activité mixte poulet et dinde (EAM), dont le type d'abattage est traditionnel.
- Deux établissements à activité unique dinde (EAD), dont le type d'abattage est traditionnel.
- Dix établissements à activité unique poulet (EAP), dont le type d'abattage est traditionnel.
- Un établissement à activité unique poulet (EAP), dont le type d'abattage est industriel.
- Un établissement à activité unique poulet (EAP), dont le type d'abattage est semi industriel.

Les établissements à activité unique dinde et à activité mixte (poulet /dinde) ont été tous retenus, cependant, le choix des établissements à activité unique poulet s'est basé sur leur

capacité d'abattage (200-350) et sur la coopération des propriétaires. Dans ce manuscrit, des codes ont été donnés de 1 à 14 pour les établissements d'abattages.

Tableau 8: Activité des établissements d'abattage retenus.

Daïra	Code	Activité unique P		Activité unique D	Activité mixte
		Total	Retenu	Retenu	Retenu
Baraki	1	3	1	1	0
Birtouta	2	5	1	0	1
Bir Mourad Raïs (BMR)	3	4	1	0	0
Bouzaréah	4	6	2	0	0
Chéraga	5	13	2	0	0
Dar El Beida (DEB)	6	5	(1)	1	0
Draria	7	6	1	0	0
Rouiba	8	4	1	0	1
Zéralda	9	7	2	0	0
Total	9	53	11 + (1)	2	2

Activité unique P : Poulet ; Activité unique D : Dinde ; Activité mixte : Poulet et Dinde

II.2.2. Visites réalisées

Les fréquences des visites et le nombre de prélèvements correspondant sont présentés dans le (tableau 9) pour le poulet de chair.

Tableau 9 : Nombre de visites fixées par établissement d'abattage pour les prélèvements du poulet.

N° établissement	Nombre de visites	Nombre de lots	N
1	10	10	50
2	10	10	50
3	20	20	100
4	10	10	50
5	10	10	50
6	10	10	50
7	10	10	50
8	10	10	50
9	10	39	195
10	10	11	55
11	10	10	50
12	10	10	50
13	20	20	100
14	10	10	50

N : Nombres de prélèvements réalisés

Concernant les prélèvements de carcasses de dinde, les fréquences des visites et le nombre de prélèvements correspondant sont présentés dans le (tableau 10).

Tableau 10 : Nombre de visites fixées par établissement d'abattage pour les prélèvements de la dinde

N° Établissement	Nombre de visites	Nombre de lots	N
1	13	13	65
2	20	20	100
3	13	13	65
4	20	20	100

N : Nombres de prélèvements réalisés

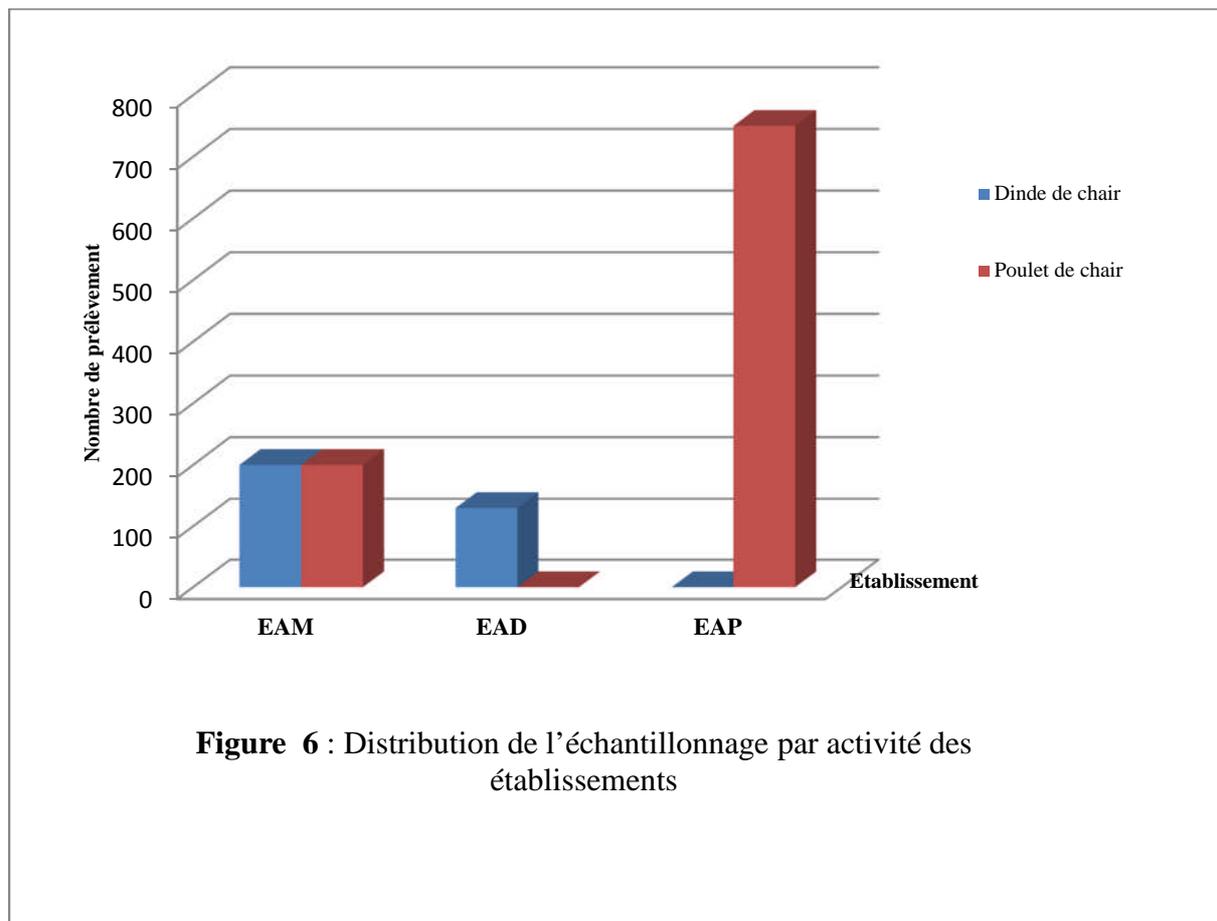
II.2.3. Distribution de l'échantillonnage

II.2.3.a) Distribution de l'échantillonnage en fonction de l'activité des établissements

La répartition des prélèvements par activité sur l'ensemble des établissements d'abattage étudiés en fonction de leurs activités est représentée dans le tableau 11 et illustrée par la figure 6

Tableau 11: Distribution de l'échantillonnage par activité des établissements.

Activité	Nombre total (n=1280)	Dinde de chair (n=330)	Poulet de chair (n=950)
EAM	400	200	200
EAD	130	130	0
EAP	750	0	750

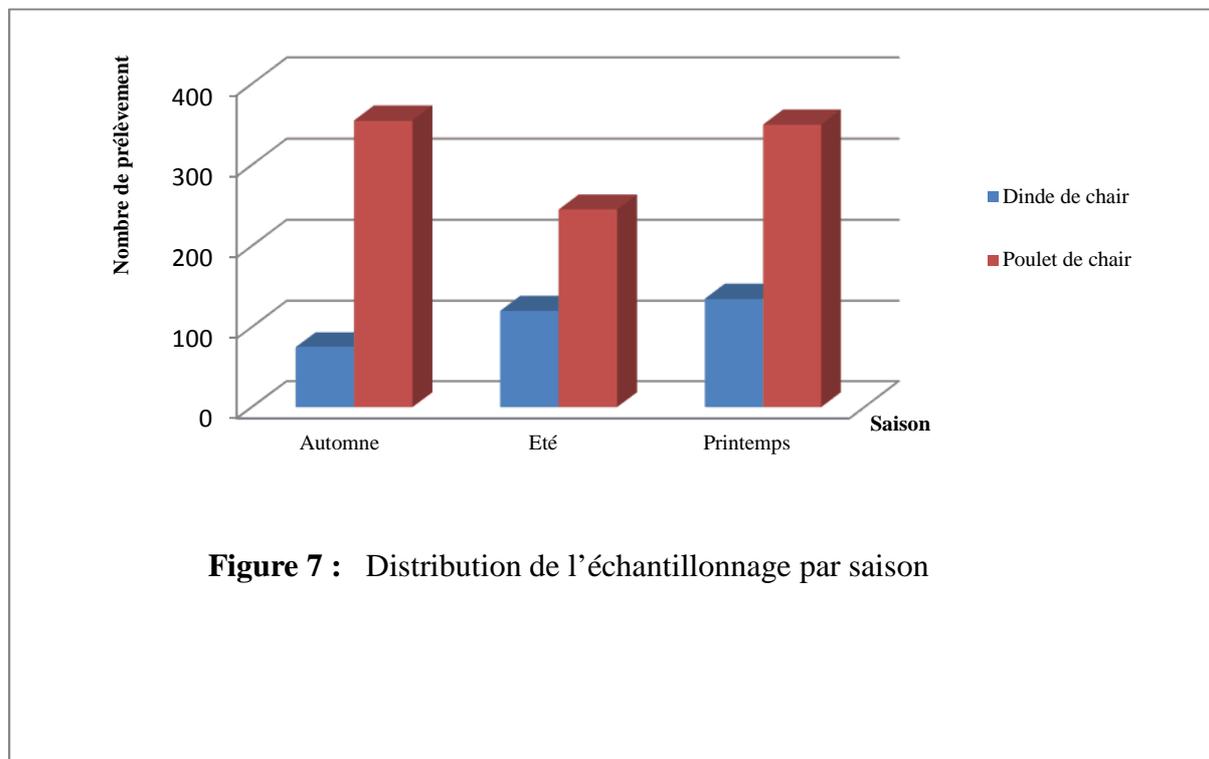


II.2.3.b) Distribution de l'échantillonnage en fonction de la saison

La répartition de l'échantillonnage par saison, est représentée dans le tableau 12 et illustré par la figure 7.

Tableau 12 : Distribution de l'échantillonnage par saison.

Saison	Nombre total (n=1280)	Dinde de chair (n=330)	Poulet de chair (n=950)
Automne	430	75	355
Eté	365	120	245
Printemps	485	135	350

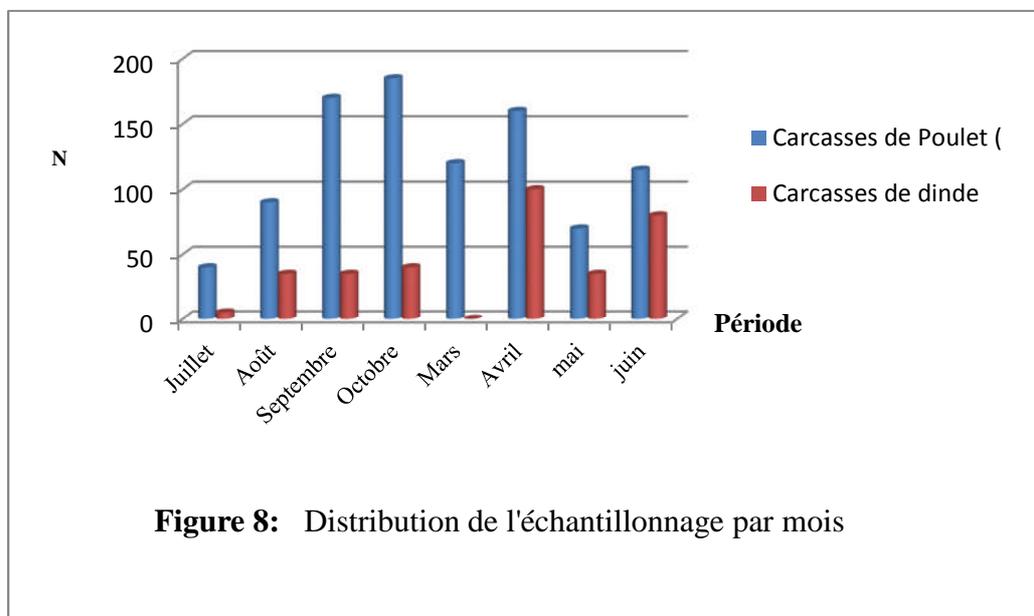


II.2.3.c) Distribution de l'échantillonnage par mois

La répartition de l'ensemble des prélèvements est illustrée par la figure 8 et représentée par le tableau 13.

Tableau 13: Distribution de l'échantillonnage par mois

Période	Carcasses de Poulet (N)	Carcasses de dinde (N)
Juillet	40	5
Août	90	35
Septembre	170	35
Octobre	185	40
Mars	120	-
Avril	160	100
Mai	70	35
Juin	115	80
Total	950	330



II.2.4. Questionnaire

Un questionnaire a été remis aux propriétaires des établissements. Les questions considérées ont porté sur les conditions d'abattage, procédés de nettoyage et de désinfection, sur l'état d'hygiène du personnel, du matériel et des postes de travail et sur l'approvisionnement en eau potable pour les établissements d'abattage (annexe 4). Toutes les remarques relatives à l'état d'hygiène des locaux à leur méthode de travail ont été notées. Les étapes de la production qui sont généralement considérées comme des maillons à risque dans le cadre de la prévention des dangers microbiens ont été analysées.

II.3. Méthode

II.3.1. Technique de Prélèvement

La réalisation des prélèvements est effectuée selon la méthode décrite dans la note de service de la DGAL/SDSSA/N2 2007-8275 datée du 14 novembre 2007, selon le classement : SSA233.1 ; SSA 263.66. Cinq échantillons d'au moins 25 g sont prélevés sur un même lot de carcasses. On entend par « lot », l'ensemble des carcasses d'animaux ayant une même origine et abattues le même jour, appartenant à un même exploitant agricole.

Au cours de chaque visite, les peaux de cou sont prélevées aseptiquement sur 15 carcasses provenant d'un même lot et choisies aléatoirement, ces prélèvements sont regroupés par trois dans un sachet de prélèvement stérile, constituant ainsi cinq échantillons à analyser (Figure 9).

Le prélèvement est fait par rotation sur tous les jours de la semaine de manière à ce qu'ils soient tous couverts.

Chaque prélèvement est identifié et accompagné d'une fiche de suivi comportant les rubriques suivantes :

- Nom de l'opérateur,
- Nombre de lot, et l'effectif de l'espèce abattue,
- Date, provenance et l'âge des animaux décrits en (Annexe 1).

II.3.1.1. Conservation et transport des prélèvements

Les prélèvements sont conservés par la suite dans une glacière isotherme à une température comprise entre 0 et +4°C, et transportés au laboratoire d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour y être analysés le jour même.

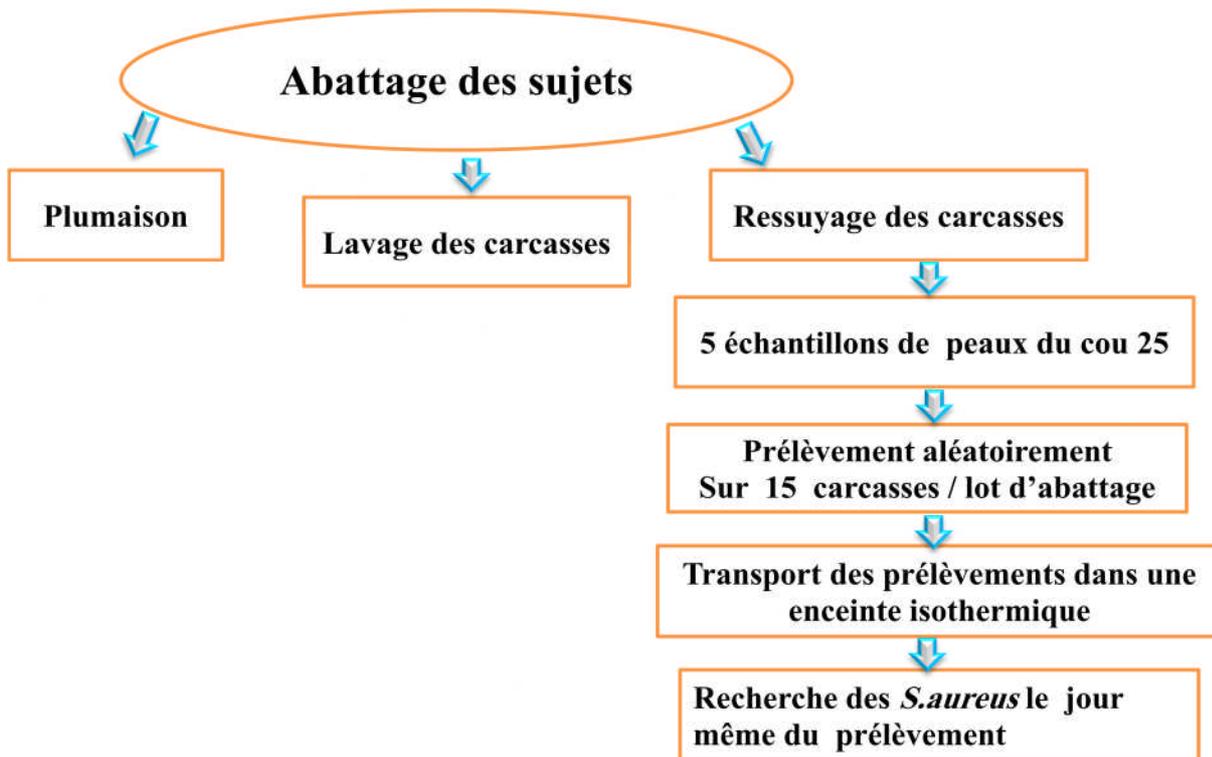


Figure 9 : Diagramme d'échantillonnage des carcasses

II.3.2. Matériels d'analyses et milieux de culture

Pour l'isolement et la confirmation biochimique ainsi que l'antibiogramme des souches, nous avons utilisé un matériel usuel du laboratoire de microbiologie.

II.3.3. Méthodes d'analyses bactériologiques

La recherche, le dénombrement et l'identification des staphylocoques à coagulase positive sont effectués, selon les normes françaises : NF EN ISO 6888-1 en 1999, NF EN ISO 6888-1/A1 2004, immédiatement après l'arrivée des prélèvements au laboratoire de d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (Figure10).

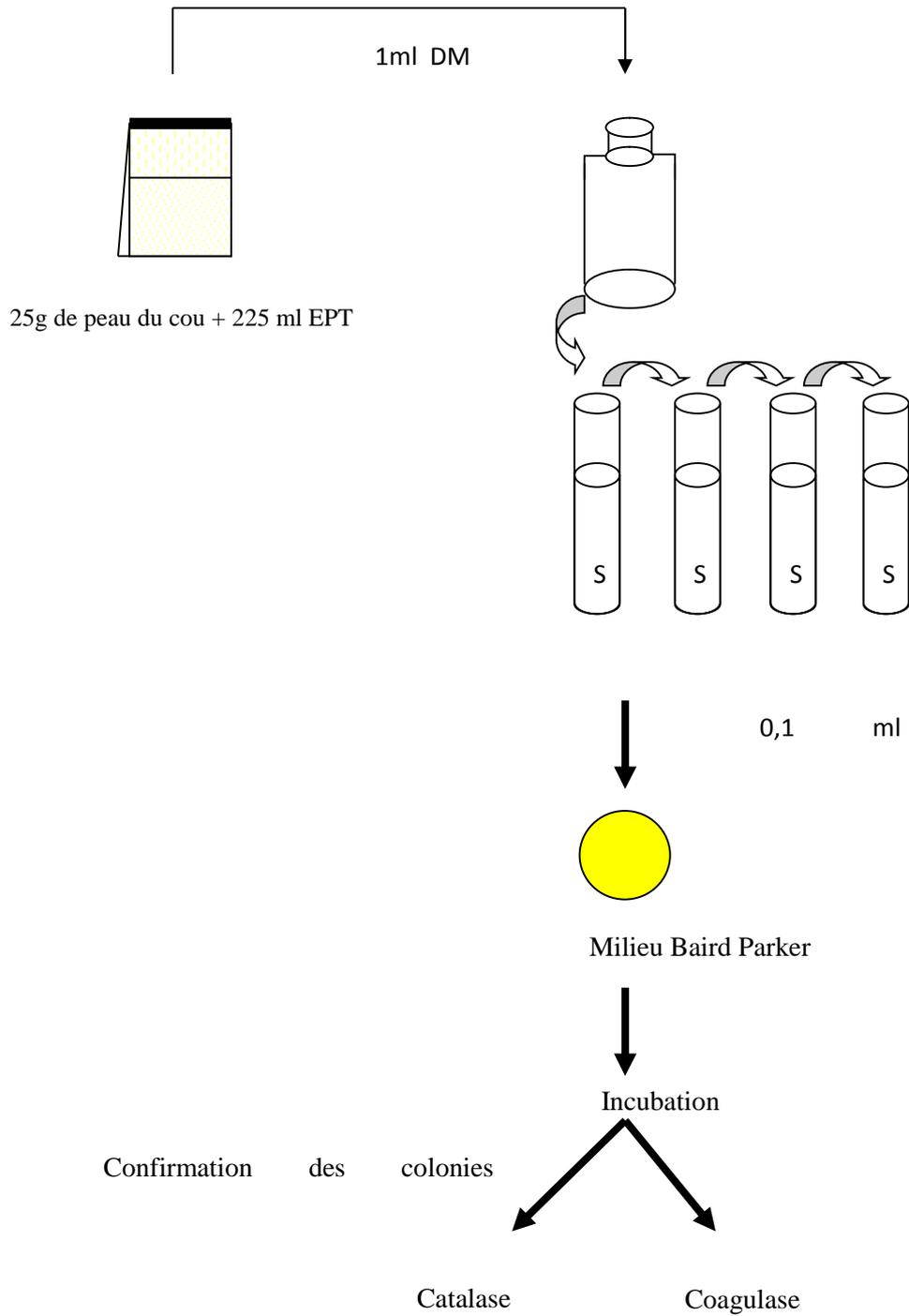


Figure10: Diagramme de la méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive

II.3.3.1. Préparation des solutions mères et des dilutions décimales

La solution mère étant préparée en ajoutant 25 g de peau de cou à 225 ml d'eau peptonée tamponnée. Après homogénéisation de la suspension mère au moyen d'un appareil péristaltique de type stomacher pendant 2 minutes, à une vitesse de 8000 tours/min, les dilutions décimales jusqu'à 10^{-4} sont ensuite préparées.

II.3.3.2. Recherche et dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (SCP)

II.3.3.2.1. Ensemencement.

A l'aide d'un râteau stérile, un ensemencement de surface de 0,1 ml des différentes dilutions est effectué sur un milieu de Baird Parker additionné de jaune d'œuf et de tellurite de potassium.

II.3.3.2.2. Incubation

Après une première incubation de 24h à 37°C, les colonies caractéristiques sont dénombrées ; par la suite les boîtes sont incubées à nouveau à 37 °C pendant 24 h \pm 2 h supplémentaires, et les nouvelles colonies caractéristiques, ainsi que les colonies non caractéristiques sont dénombrées. Pour le dénombrement, uniquement 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.

II.3.3.2.3. Identification des colonies

L'identification des colonies suspectes est basée sur l'aspect macroscopique et microscopique, suivi d'une confirmation biochimique. 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. Cependant les colonies non caractéristiques peuvent présenter l'une des morphologies suivantes:

- 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;
- Colonies grises dépourvues de zone claire.

II.3.3.2.4. Identification biochimique

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques (production de catalase et de coagulase). Pour cette confirmation 5 colonies caractéristiques sont sélectionnées dans le cas où 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, à partir de chaque boîte.

a) Test de catalase

Le test de la catalase permet de différencier les staphylocoques des streptocoques. Il permet également de démontrer la présence de l'enzyme catalase, cette enzyme décompose l'eau oxygénée (H₂O₂) en eau (H₂O) et en oxygène.

Une petite quantité de culture bactérienne est prélevée du haut des colonies à l'aide d'une pipette Pasteur à partir de la gélose nutritive; puis placée sur une lame, quelques gouttes du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sont par la suite ajoutées, une réaction positive se traduit par le dégagement immédiat de bulles de gaz (oxygène). Dans le cas de réaction négative, une absence d'effervescence dans le peroxyde est observée.

b) Test de coagulase

La coagulase libre produite par *Staphylococcus aureus* est détectée par l'utilisation du plasma de lapin lyophilisé.

À partir d'une culture pure de 18 heures de la colonie étudiée, une subculture en bouillon nutritif (cœur-cerveau) est réalisée. Après une incubation de 24 h à 37°C, 0,5ml de cette suspension bactérienne est introduite dans un tube à hémolyse contenant 0,5ml de plasma suivie d'une incubation à 37°C pendant 4 heures voire 24 heures. Un témoin négatif est préparé en mélangeant le bouillon nutritif non ensemencé au plasma du lapin, et un témoin positif est préparé en utilisant la souche de contrôle *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus* provoque une coagulation du plasma qui se traduit par la formation d'un caillot de coagulation.

II.3.3.2.5. Expression des résultats

- **Calcul du nombre a de staphylocoques à coagulase positive identifiés pour chaque boîte retenue**

Pour chacune des boîtes nous avons calculé le nombre « a » de staphylocoques à coagulase positive identifiés, selon l'équation suivante:

$$a = \frac{b_c}{A_c} \times C_c + \frac{b_{nc}}{A_{nc}} \times C_{nc}$$

A_c est le nombre de colonies caractéristiques soumises au test de la coagulase.

A_{nc} est le nombre de colonies non caractéristiques soumises au test de la coagulase.

b_c est le nombre de colonies caractéristiques qui ont répondu positivement au test de la coagulase;

b_{nc} est le nombre de colonies non caractéristiques qui ont répondu positivement au test de la coagulase;

c_c est le nombre total de colonies caractéristiques repérées sur la boîte.

c_{nc} est le nombre total de colonies non caractéristiques repérées sur la boîte.

$$N = \frac{\sum a}{V (n_1 + 0,1 n_2)d}$$

$\sum a$ est la somme des colonies de staphylocoques à coagulase positive identifiées sur l'ensemble des boîtes retenues.

V est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres.

n_1 est le nombre de boîtes retenues à la première dilution.

n_2 est le nombre de boîtes retenues à la seconde dilution.

d est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (la suspension mère est une dilution).

L'évaluation du taux moyen de contamination des prélèvements par les Staphylocoques à coagulase positive (SCP), est estimée par le calcul de la charge moyenne retrouvée sur les carcasses analysées. Les résultats des dénombrements sont exprimés en UFC/g (unité formants colonies par gramme) puis convertis en \log_{10} UFC/g (unité logarithmique de micro-organismes par gramme).

Les résultats de dénombrement sont répartis en trois classes, satisfaisant (S), acceptable (A) et non satisfaisant (NS), par la comparaison des résultats obtenus par rapport aux seuils fixés par la réglementation Algérienne (J.O.R.A N°39, 2017) (Annexe 2).

II.3.3.3. Purification des isolats.

Les colonies de Staphylocoques à coagulase positive SCP isolées à partir du milieu Baird Parker sont repiquées, sur un milieu de gélose nutritive. Après une période d'incubation de 24h à 37°C, celles qui présentent un aspect caractéristique à celui des staphylocoques (macroscopiques et microscopiques) sont réisolées à l'aide d'une pipette Pasteur, et sont ensemencées en stries selon la méthode des quatre quadrants, de telle manière à obtenir des colonies bien isolées. Une coloration de Gram est refaite chaque fois pour contrôler la pureté des souches.

II.3.3.4. Identification des *S.aureus* par le test rapide d'agglutination

Les colonies de SCP, isolées précédemment et confirmées par les tests de la catalase, de la coagulase et observées au microscopique après coloration de Gram, sont identifiées à l'aide du test d'agglutination Pastorex Staph plus (BioRad, France). Ce test est composé d'un kit combinant plusieurs réactions d'agglutination, qui contient des particules de latex qui permettent la recherche simultanée sur les *Staphylococcus*:

- Du facteur d'affinité pour le fibrinogène (RF), désigné sous le nom de coagulase liée,
- De la protéine A qui possède une affinité pour le fragment Fc des IgG.
- Des antigènes polysaccharidiques capsulaires des *Staphylococcus* résistants à la méticilline.

La colonie à tester est mise en contact avec une goutte du réactif, Toute agglutination du réactif test en présence d'une souche de *Staphylococcus* permet d'identifier *Staphylococcus aureus*.

II.4. Caractérisation des phénotypes de résistance

130 souches ont fait l'objet de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques. Les antibiogrammes sont réalisées, selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé selon les normes préconisées par le Clinical Laboratory Standard institute (CLSI) et de la CA-SFM, et les recommandations du comité national de standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale (Rahal *et al.*, 2011).

II.4.1. Préparation de l'inoculum

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 heures sur gélose nutritive. Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse de platine, déchargée dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. La suspension bactérienne

est bien homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0.5 Mc Farland. Elle est ajustée en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau physiologique stérile. La souche de contrôle de qualité utilisée est *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, elle est traitée dans les mêmes conditions que la souche à tester. Ce contrôle valide le résultat du test et permet de contrôler les disques d'antibiotiques et la qualité du milieu Mueller-Hinton.

II.4.2. Ensemencement des boîtes

Le milieu Mueller-Hinton (MH), coulé en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm est utilisé, l'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum. Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'une boîte de Pétri est ensemencée.

II.4.3. Application des disques d'antibiotiques

Six disques d'antibiotiques sont appliqués par boîte, ils sont espacés de 24 mm, centre à centre. Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'un distributeur. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont, ensuite, incubées immédiatement pendant 18 heures à 37°C. Les disques d'antibiotiques utilisés (BioRad, France), avec leurs charges sont: Pénicilline (10 UI), Oxacilline (1µg) ; Céfoxitine (30µg) ; Gentamicine (10µg), Erythromycine (15µg) ; Clindamycine (2µg) ; Fosfomycine (30µg) ; Rifampicine (15µg) ; Vancomycine (30µg) ; Teicoplanine, Ofloxacine (5µg) ; Kanamycine (30µg) ; chloramphénicol (30µg) ; Acide fusidique (10µg) ; Tétracycline (30µg).

II.4.4. Lecture

Après incubation, les antibiogrammes sont interprétées en comparant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques aux valeurs critiques reportées dans le tableau de lecture , puis la bactérie est classée dans l'une des catégories: Sensible, Intermédiaire ou Résistante (Annexe 3).

II.4.5. Recherche de la résistance des staphylocoques à la méticilline

La résistance des staphylocoques à la méticilline est recherchée par l'utilisation du disque de céfoxitine (30µg), qui est un bon marqueur de résistance à la méticilline. Le disque est appliqué dans les conditions standards selon les recommandations du CLSI. Si le diamètre est ≤ 19 mm, la souche est dite résistante à la méticilline, alors que s'il est > 20 mm, la souche est dite sensible à la méticilline. Le disque de l'oxacilline (5µg) est également un marqueur phénotypique de résistance à la méticilline, il est appliqué dans les conditions standards du CA-SFM et interprété comme suit, si le diamètre est ≤ 20 mm, la souche est dite résistante à la méticilline, alors que s'il est > 20 mm, la souche est considérée comme étant sensible à la méticilline.

II.4.6. Conservation des souches

Les souches de *S.aureus*, sont conservées à +4°C dans des géloses de conservation profonde. Des colonies pures de 18-24h sont conservées par piqûre centrale, la durée de conservation est de 6 mois à 1 an. Les mêmes souches sont également conservées à -20°C, dans des cryotubes contenant du bouillon nutritif avec 10% de glycérol pour les tests futurs.

II.5. Caractérisation moléculaire des souches

L'étude moléculaire s'est déroulée au laboratoire de microbiologie de l'université Mustafa Kemal en Turquie. Un total de 95 souches a fait l'objet d'une caractérisation moléculaire par la recherche des gènes codants pour les entérotoxines *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* ; ainsi que le *fem A*.

II.5.1. Sélection des souches pour la caractérisation moléculaire

Sur un total de 313 souches de *S. aureus* isolées au cours de notre étude, 250 ont été isolées chez le poulet et 63 chez la dinde. 70 isolats provenant de carcasses de poulet et 25 de carcasses dinde ont été sélectionnés pour caractérisation moléculaire, soit un pourcentage de 30,35% du nombre total de souches isolées. Le nombre de souches destinées à l'étude moléculaire a été fixé par l'université Mustafa Kemal selon les moyens accordés pour notre recherche.

La sélection des souches s'est faite selon leur représentativité, dans le but de représenter toutes les régions d'Alger testées.

II.5.2. Extraction de l'ADN génomique

L'extraction de l'ADN génomique est réalisée sur des colonies jeunes et pures suivant la méthode du NaCl, elle s'est déroulée en 3 étapes :

II.5.2.1. Lyse des souches

Dans un tube eppendorf de 1,5 ml, une ou deux colonies prélevées à la surface de la culture sont remises en suspension dans 300 μ l de TNE (Vivantis, Malaisie), la culture est homogénéisée au vortex, puis 10 μ l de lysosyme et 200 μ l de SETS (Vivantis, Malaisie) sont ensuite ajoutés au mélange ; l'ensemble est incubé à 37 C° pendant 1 heure. Après leur incubation, les tubes sont agités au vortex toutes les 15 min pendant une heure. Par la suite, 10 μ l de protéinase- K (Vivantis Technologies, Malaisie) et 100 μ l de TNE sont ajoutés au mélange afin d'accentuer la lyse de la paroi cellulaire. La solution finale est vortexée puis incubé à 50 °C pendant 1 h. A la fin de cette étape, les tubes sont vortexés toutes les 15 minutes pendant une heure.



Figure 11 : Lyse des souches

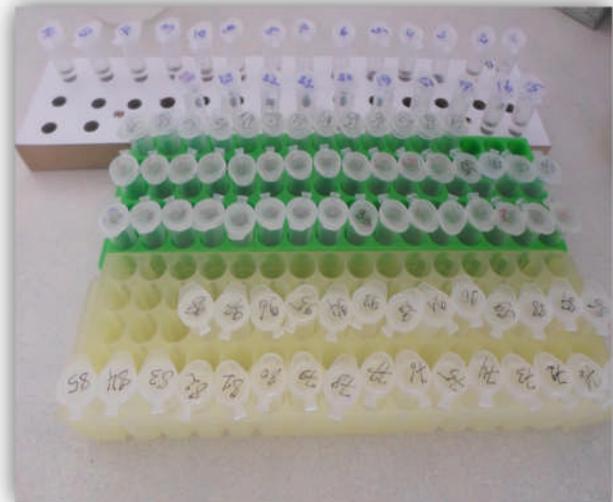


Figure12 : Préparation des souches pour l'extraction de l'ADN

II.5.2.2. Extraction de L'ADN

L'extraction de L'ADN est réalisée par l'ajout de 150 μ l de Na Cl (5 M) au mélange, obtenu dans l'étape précédente, l'ensemble est bien homogénéisé au vortex. L'ADN obtenu est récolté par centrifugation à 10.000 tours/min pendant 10 min à température ambiante. Le surnageant est transféré par la suite dans un nouveau tube eppendorf.

II.5.2.3. Précipitation et purification de l'ADN

Au cours de cette étape, l'ADN récupéré est précipité sous forme de pelote par l'ajout de l'éthanol absolu 99 % conservé au préalable à -20 ° C pendant une nuit, la pelote obtenue est rincée par l'éthanol froid à 70%. Une dernière centrifugation est réalisée pendant 5 min à 10.000 tours/min et l'ADN est récupéré, l'éthanol est éliminé à la fin de cette étape et les tubes sont laissés à sécher à couvercle ouvert à température ambiante ou à l'étuve pendant environ 30 min, l'ADN extrait est remis en suspension dans 100 µl d'eau distillée stérile et conservé à -20 °C jusqu'à utilisation ultérieure.



Figure 13: ADN récupéré

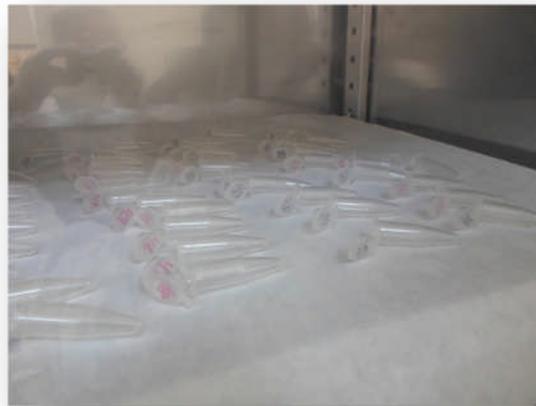


Figure 14: Séchage des tubes

II.5.3. Amplification de l'ADN

L'amplification de l'ADN est précédée par une étape de préparation des mélanges réactionnels :

II.5.3.1. Préparation des mélanges réactionnels (Préparation du MIX)

La multiplex PCR est réalisée selon la méthode décrite par Mehrotra et *al.*(2000), l'ADN génomique extrait est déposé dans des tubes eppendorf auxquels est ajouté le mélange réactionnel d'amplification composé de tampon de réaction 10X (Tris-HCl 100 mM [pH 8,3] (vivantis, malaysia), KCl 500 m (vivantis, malaysia); de désoxynucléoside triphosphates (DNTP) (vivantis, malaysia), MgCl₂ (vivantis, malaysia); l'enzyme Taq DNA polymérase (AmpliTaq DNA polymérase, Perkin-Elmer) et les amorces appropriées aux gènes codants pour les entérotoxines classiques recherchées (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) (Macrogen , Netherlands), ainsi que le *femA* (Macrogen , Netherlands). Tous ces réactifs sont

mélangés avec des proportions différentes dans un volume final de 50 μ l (tableau 14). Un témoin négatif contenant le mix sans ADN est également préparé.

Tableau 14: Propriétés des amorces utilisées dans cette étude.

Gene	Primer	Oligonucleotide sequence	Size of amplified product (bp)
<i>Sea</i>	GSEAR-1	GGTATCAATGTGCGGGTGG	102
	GSEBR-2	CGGCACTTTTTTCTCTTCGG	
<i>Seb</i>	GSEAR-1	GTATGGTGGTGTAAGTACTGAGC	164
	GSEBR-2	CCAAATAGTGACGAGTTAGG	
<i>Sec</i>	GSEAR-1	AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG	451
	GSEBR-2	CACACTTTTAGAATCAACCG	
<i>Sed</i>	GSEAR-1	CCAATAATAGGAGAAAATAAAAAG	278
	GSEBR-2	ATTGGTATTTTTTTTCGTTC	
<i>See</i>	GSEAR-1	AGGTTTTTTCACAGGTCATCC	209
	GSEBR-2	CTTTTTTTCTTCGGTCAATC	
<i>femA</i>	GSEAR-1	AAAAAAGCACATAACAAGCG	132
	GSEBR-2	GATAAAGAAGAAACCAGCAG	

Les quantités des réactifs utilisés dans la préparation des mélanges réactionnels sont résumées dans le (tableau 15).

Tableau15 : Mix pour amplification des gènes codants pour les entérotoxines

Réactifs	Quantité pour un essai
Tampon de réaction 10X	5 μ l
dNTP	400 μ M
MgCl₂	4 mM
<i>Sea, seb, sec, see</i>	20 pmol
<i>sed</i>	40 pmol
<i>femA</i>	20 pmol
ADN	5 μ l
Eau ultra pure	50 μ l

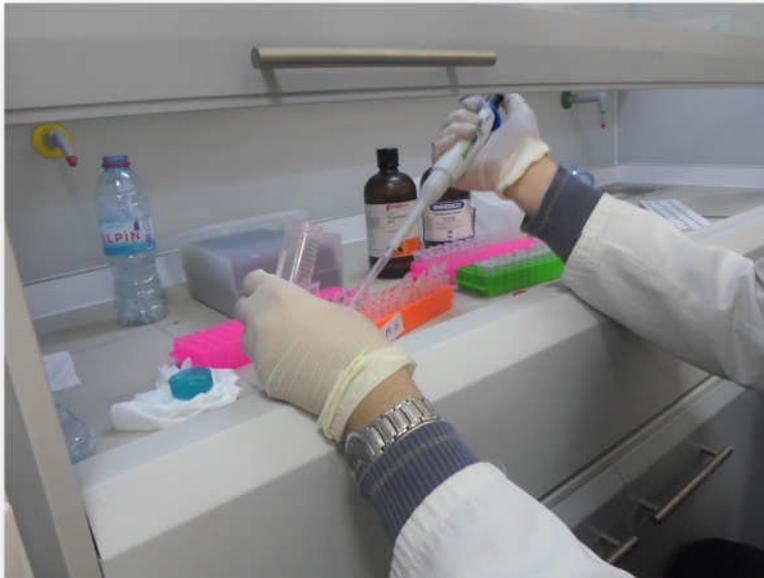


Figure 15: Préparation des mélanges réactionnels

II.5.3.2. Réalisation de l'amplification

Les mélanges réactionnels préparés précédemment sont déposés dans le thermocycleur (BOECO TC- SQ, Allemagne) pendant une durée de 1h30. Durant cette phase l'ADN subit 35 cycles d'amplification, chaque cycle est constitué de trois étapes, une dénaturation, hybridation et élongation dans les conditions suivantes :

- Dénaturation initiale de l'ADN: 94°C pendant 5 min
- Dénaturation : 94°C pendant 2 minutes
- Hybridation : 57°C pendant 2 minutes
- Elongation : 72°C pendant 1 minute
- Extension finale : 72°C pendant 7 minutes



Figure 16 : Amplification de l'ADN

II.5.3.3. Révélation des fragments amplifiés

Les fragments d'ADN amplifiés sont révélés par électrophorèse sur gel d'agarose.

➤ Principe

Cette technique est basée sur la séparation des acides nucléiques chargés négativement à cause de l'ionisation de leurs groupements phosphate sous l'effet d'un champ électrique. En effet, les acides nucléiques se déplacent de l'électrode négative (cathode) vers l'électrode positive (anode). La séparation se fait à travers le gel d'agarose. La vitesse de déplacement des molécules à travers le gel est limitée par la dimension des pores: les acides nucléiques ayant le même rapport charge/masse seront séparés d'après leur longueur car les molécules plus longues migrent plus difficilement à travers les pores du gel, alors que les plus petites molécules se déplacent plus vite et migreront donc plus loin. Des marqueurs de taille sont utilisés pour pouvoir déterminer la taille (en pb) des acides nucléiques.

Le Bromure d'Ethidium étant un cation qui s'intercale entre les bases de l'ADN, le complexe ion éthidium/ ADN est fluorescent sous UV. Ainsi il est possible de visualiser les fragments d'ADN dans le gel et de prendre des photos polaroïd en noir et blanc. La dimension du fragment d'ADN (nombre de paires de bases) spécifique au micro-organisme recherché est connue. Il suffit de comparer la hauteur de la bande apparaissant sur le gel d'agarose avec l'échelle de poids moléculaire. Si la bande est à la bonne hauteur, on est alors en présence du micro-organisme recherché.

II.5.3.3.1. Préparation du gel

Le gel d'agarose est préparé à une concentration de 2 %, une quantité de 2 g d'agarose en poudre est pesée et mise dans la quantité adéquate de tampon TAE (0,5X) (Tris-Acétate-EDTA). Le mélange est fondu au four à micro-ondes jusqu'à ce qu'il devienne limpide; puis il est refroidi et coloré avec du bromure d'Ethidium (BET), puis coulé dans un petit porte-gel où un peigne a été soigneusement placé. Il est laissé jusqu'à polymérisation complète. Le peigne sera soigneusement ôté.



Figure 17 : Préparation du gel d'agarose

II.5.3.3.2. Dépôts des amplifiants et migration

Le gel solidifié est déposé dans un appareil à électrophorèse puis recouvert par le tampon TAE (0,5X). Dans chaque puits, 10 μ l d'amplifiant préalablement mélangée à un traceur (le loading) de charge est déposé dans les puits du gel d'agarose. Le premier puit est réservé au marqueur de poids moléculaire. La migration de l'ADN est réalisée à 120 volts pendant 40 minutes.

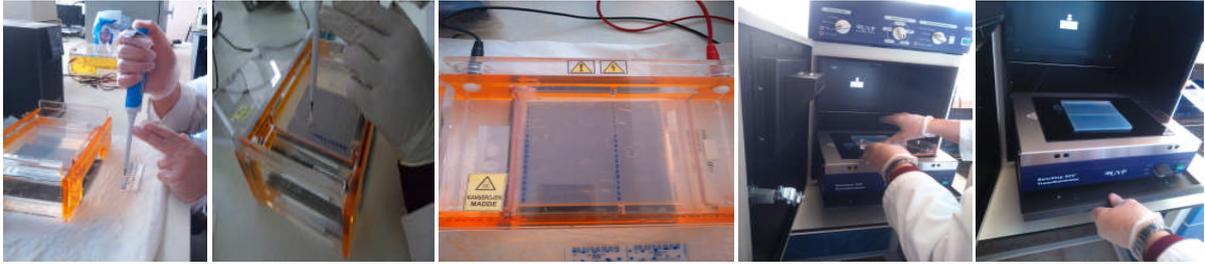


Figure 18: Étapes de l'électrophorèse sur gel d'agarose.

II.5.3.3.3. Révélation des amplifiants

Une fois la migration terminée, Les fragments d'ADN amplifiés sont visualisés sous UV en utilisant un transilluminateur UV couplé à un appareil photo (EC3, UVP Biomaging systems, Inc (BioMax). L'interprétation des résultats se fait en comparant la taille des fragments révélés avec ceux du témoin positif.

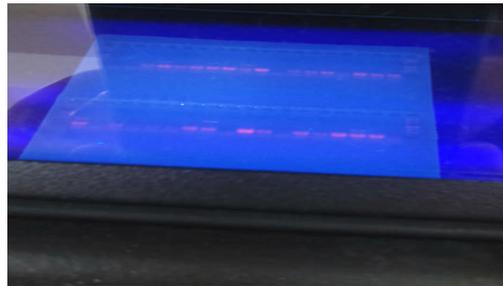


Figure 19 : Visualisation des amplifiants

II.6. Analyses statistiques

Les calculs statistiques (moyennes, écarts types et tests de comparaison de moyennes) ont été traités à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 20).

Le test d'ANOVA à un facteur a été utilisé pour la comparaison des valeurs du dénombrement selon différents facteurs étudiés.

Le test non-paramétrique du khi-deux d'indépendance et Fisher exact ont été utilisés pour l'étude de l'indépendance des prévalences de contaminations enregistrées. Les facteurs étudiés sont ceux des facteurs suivants:

- Facteur espèce: le type espèce avec 2 niveaux (poulet et dinde).

- Facteur région : Par la comparaison des résultats obtenus par établissement d'abattage.
- Facteur saison : Par la comparaison des résultats obtenus par saison.
- Type et activité des établissements d'abattage : Par la comparaison des résultats obtenus par type et activité des établissements d'abattage.

Pour l'étude Statistique descriptive univariée, nous avons utilisé le test de Shapiro-Wilk, test de normalité pour tester la normalité de nos observations.

L'odd ratio (OR) et l'intervalle de confiance associé ont été calculés pour plusieurs facteurs, dans le but de faire ressortir les facteurs de risque liés à la prévalence ou à la qualité hygiénique des carcasses.

Le seuil de signification choisi est d'au moins 5%.

Résultats

I. Résultat de l'enquête.

Notre enquête menée sur les 16 établissements d'abattage étudiés a permis de révéler des informations relatives aux caractéristiques générales communes à ces établissements, à leur pratiques et procédés d'abattage ainsi à un état des lieux en matière d'hygiène.

1.1. Les caractéristiques générales liées aux établissements d'abattage

L'ensemble des caractéristiques des établissements étudiés sont résumé dans le tableau ci-dessous (Tableau 16).

Tableau 16: Caractéristiques des établissements d'abattage.

Caractéristiques des établissements d'abattage	Poulet		Dinde	
	Nombre	%	Nombre	%
Abattage de dindes			2	
- Oui	2	14,29	2	50
- Non	12	85,71		50
Capacité d'abattage				
- 200-500 sujets/j	12	85,71	-	-
- >1000 sujets/j	2	14,29	-	-
- <100 sujets/j	-	-	4	100
Localisation				
- A proximité d'une zone d'habitation	10	71,43	3	75
- Loin des habitations	4	28,57	1	25
Présence de zones de production à proximité				
- Oui	1	7,14	1	25
- Non	13	92,86	3	75
Type de voie d'accès				
- Autoroute	1	7,14	1	25
- Départementale	7	50,00	2	50
- Nationale	6	42,86	1	25
Accès aux nuisibles				
- Oui	14	100,0	4	100
EAA clôturé				
- Oui	8	57,14	3	75
- Non	6	42,86	1	25
Type de clôture				
- Grillage	2	14,29		
- Murs	5	35,71	3	75
- Murs et grillage	1	7,14		
- Non clôturé	6	42,86	1	25
Toilettes				
- Oui	14	100,0	4	100,
Douches				
- Oui	10	71,43	4	100,
- Non	4	28,57		
Groupe électrogène				
- Oui	11	78,57	4	100
- Non	3	21,43	-	-

Quai de débarquement				
- Oui	1	7,14	-	-
- Non	13	92,86	4	100
Aire de repos				
- Oui	13	92,86	3	75
- Non	1	7,14	1	25
Séparation des secteurs				
- Oui	2	14,29	-	-
- Non	12	85,71	4	
Lave-mains				
- Oui	2	14,29	1	25
- Non	12	85,71	3	75
Chambre de ressuage				
- Présence	1	7,14	-	-
- Absence	13	92,86	4	100
Chambre froide				
- Fonctionnelle	10	71,43	2	50
- Non fonctionnelle	2	14,29	2	50
- Absence	2	14,29		
Plans de travail faciles à nettoyer				
- Oui	8	57,14	4	100
- Non	6	42,86	-	-
Equipement facile à nettoyer				
- Oui	1	7,14	2	50
- Non	13	92,86	2	50
Outils faciles à nettoyer				
- Oui	14	100,0	4	100
Source(s) d'eau				
- Citerne et puits	1	7,14		
- Puits	1	7,14		
- Réseau local et citerne	9	64,29		
- Réseau local et puits	2	14,29		
- Réseau local, citerne et puits	1	7,14		

1.1.1. Selon la nature de leurs activités

Ces établissements se classent en trois catégories :

- Ceux dont l'activité est consacrée à l'abattage du poulet, au nombre de quatorze.
- Ceux spécialisés dans l'abattage de la dinde, au nombre de quatre.
- Les établissements mixtes dont l'activité d'abattage concerne aussi bien le poulet que la dinde.

1.1.2. Selon la capacité d'abattage : nous trouvons :

- Ceux qui abattent moins de six cent sujets par jour.
- Ceux qui abattent plus de mille sujets par jour.

I.1.3. Selon la répartition géographique : nous trouvons :

- ✓ 71% des établissements dont la capacité d'abattage est de mille par jour à proximité d'une zone d'habitation.
- ✓ 93% sont éloignés des sites de production.

I.1.4. Selon l'accessibilité : nous trouvons :

- ✓ 7% des établissements accessibles par l'autoroute.
- ✓ 50% par les routes de wilaya.
- ✓ 43% par la route nationale.

I.1.5. Selon le type de protection : nous trouvons :

- ✓ 14% des établissements protégés par des clôtures grillagées.
- ✓ 36% par des murs.
- ✓ 7% par des murs et grillages.

Dans leur organisation interne les établissements d'abattage sont pourvus :

- D'une aire de repos dans 93% des cas.
- D'un quai de débarquement dans 7% des cas.
- D'une superficie de la salle d'abattage comprise entre 12m² et 150m².
- De lave mains dans 4% des cas.
- De chambres de ressuage dans 7% des cas.
- De chambre froides opérationnelles dans 71% ; des cas.
- Dun groupe électrogène dans 79% des cas.
- Le nettoyage du plan de travail est effectué aisément dans 57% des cas.
- Par contre 93% des équipements sont difficilement nettoyables.
- Le recours à l'eau du réseau et à l'eau des citernes est le fait de 64% des établissements.

I.2. Les caractéristiques liées aux pratiques et procédés existants :

Dans le tableau N° 17 ci-dessous sont résumés les procédés et étapes de l'abattage que nous venons d'évoquer.

Tableau 17: Description des étapes de procédés d'abattage.

Caractéristiques des pratiques d'abattage	Poulet		Dinde	
	Nombre	%	Nombre	%
Type d'abattage				
- Industriel	1	7,14	-	-
- semi-industriel	1	7,14	-	-
- Traditionnel	12	85,71	4	100
Méthode de déchargement				
- Manuelle	13	92,86	4	100
- Mécanique	1	7,14	0	0
Etourdissement				
- Oui	1	7,14	-	-
- Non	13	92,86	4	100
Position de saignée				
- Horizontale	13	92,86	4	100
- Verticale	1	7,14	-	-
Méthode d'échaudage				
- Manuelle	12	85,71	-	-
- Mécanique	2	14,29	-	-
Méthode de plumaison/Type de déplumeuse				
- Mécanique industrielle	2	14,29	-	-
- Mécanique traditionnelle	12	85,71	-	-
- Manuelle	-	-	4	100,00
Finition manuelle				
- Oui	13	92,86	-	-
- Non	1	7,14	-	-
Méthode d'éviscération				
- Manuelle	13	92,86	4	100
- Semi-mécanique	1	7,14	-	-
Outils utilisés pour l'éviscération				
- Couteau et mains	13	92,86	4	100
- Couteau, éviscérateur manuel et mains	1	7,14	-	-
Mode de douchage				
- Essuyage	3	21,43	2	50
- Immersion	7	50,00	-	-
- Jet d'eau	3	21,43	2	50
- Jets d'eau et brosses	1	7,14	-	-
Renouvellement de l'eau du bac de douchage				
- Oui	3	21,43	-	-
- Non	5	35,71	-	-
- NC	6	42,86	-	-
Utilisation de chariots de ressuage				
- Oui	5	35,71	2	50
- Non	9	64,29	2	50
Air de ressuage				
- Froid	2	14,29	1	25
- Libre	12	85,71	3	75

NC: Non communiqué

Le tableau N°17 se résume dans les points suivants :

a) Les procédés d'abattage qui se classent selon trois types

- Le type industriel notamment pour le poulet et ce dans un seul établissement soit 7% du total des établissements.
- Idem pour le type semi- industriel.
- Le type traditionnel concerne douze établissements pour le poulet 87% et quatre établissements pour la dinde (100%).

b) La méthode de déchargement

- Elle peut être manuelle, c'est le cas pour treize établissements pour le poulet et quatre établissements pour la dinde.
- Elle peut être mécanique, c'est le cas du poulet pour un seul établissement (7% du total)
- La dinde n'est pas concernée.

c) L'étourdissement

Il est pratiqué pour le poulet dans un seul établissement soit 7% du total. Par contre treize établissements concernés par le poulet ne le pratiquent pas ainsi que les quatre établissements d'abattage des dindes.

d) La position de saignée

- Elle est horizontale dans treize établissements d'abattage de poulets soit 93% du total ainsi que dans les quatre centres d'abattage de la dinde.
- Elle est verticale dans un seul établissement pour le poulet. La dinde est exclue de la saignée verticale.

e) La méthode d'échaudage

- Elle peut être manuelle c'est le cas de douze établissements pour poulet (86% du total).
- Elle est mécanique dans deux établissements concernés par le poulet (14% du total).

f) La méthode de plumaison ou type de déplumeuse

- Elle relève de la mécanique, on la rencontre dans deux établissements traitants le poulet soit 14% du total.
- De la mécanique traditionnelle dans douze établissements de poulet soit 86% du total.
- Le type manuel existe dans les quatre établissements spécialisés dans l'abattage de la dinde.

g) La finition manuelle

- Elle concerne uniquement le poulet et est pratiquée dans treize établissements sur un total de quatorze .seul un établissement ne la pratique pas.

h) La méthode d'éviscération :

- Elle est manuelle dans treize établissements de poulet et dans les quatre établissements pour la dinde.
- Elle est semi mécanique et pratiquée dans un seul établissement traitant le poulet.

i) Les outils de l'éviscération :

- Couteau et mains dans treize établissements de poulet et les quatre établissements pour la dinde.

j) Le mode de douchage

Il consiste dans l'une des opérations suivantes :

- L'essuyage : dans trois établissements de poulet et deux de dinde.
- L'immersion : dans sept établissements poulet.
- Le jet d'eau : dans trois établissements poulet et deux de dinde.
- Jet d'eau et brosses : dans un seul établissement poulet.

k) Le renouvellement de l'eau du bac de douchage

- Il existe pour trois établissements de poulet.
- Il n'existe pas pour Cinq établissements de poulet.
- Il est non appliqué pour six établissements de poulet.

l) Emploi de chariots de ressuage

- En usage dans cinq établissements de poulet et deux de dinde.
- Ne sont pas utilisés pour neuf établissements de poulet et deux de dinde.

m) L'air de ressuage

- Il est froid pour deux établissements de poulet et un seul de dinde.
- Il est libre pour douze établissements de poulet et trois de dinde.

1.3. Les conditions d'hygiène

Le (Tableau 18) ci –dessous résume l'ensemble des constatations que nous venons d'énoncer.

Tableau 18: Les conditions d'hygiène des établissements étudié.

Conditions d'hygiène	Poulet		Dinde	
	Nombre	%	Nombre	%
N&D quotidiens de l'aire de déchargement				
- Oui	11	78,57	3	75
- Non	3	21,43	1	25
N&D des camions				
- Systématique	6	42,86	-	-
- Parfois	7	50,00	-	-
- Non	1	7,14	4	100
N&D des cages				
- Oui	1	7,14	-	-
- Non	13	92,86	-	-
Présence du bac de N&D du couteau de saignée				
- Oui	1	7,14	-	-
- Non	13	92,86	4	100
Tenue de travail conforme				
- Oui	1	7,14	1	25
- Non	13	92,86	3	75
Séparation entre esp. dans l'AR				
- Oui	2	14,29	2	50
- Non	12	85,71	2	50

Le tableau 18 montre que, malheureusement l'état des lieux en matière d'hygiène n'est pas satisfaisant :

- Dans 86% des cas les principes de la marche en avant et de la séparation « secteur souillé secteur sain » ne sont pas respectés : les locaux ne sont pas pourvus de portes ou d'ouvertures pour la libre circulation du vent d'un secteur à l'autre. Notamment pour éloigner les mouches.
- 50% des établissements ne bénéficient pas de jour de repos.
- Seuls 79% pratiquent le nettoyage et la désinfection quotidiennement de l'air de déchargement.
- 43% nettoient systématiquement le camion de transport.
- 93% ne pratiquent pas le nettoyage et la désinfection des cages de transport.

- Seul un établissement possède un bac de nettoyage et désinfection du couteau de saignée.
- Les tenues de travail ne sont pas conformes dans 93% des établissements.
- Les défauts d'hygiène du personnel sont constatés surtout pour le personnel en contact avec les carcasses dans 93% des établissements.
- L'absence des postes de nettoyage et de désinfection fonctionnels 86% des cas.

II. Résultat du dénombrement de staphylocoques à coagulase positive (SCP) sur les carcasses de volailles fraîchement abattues

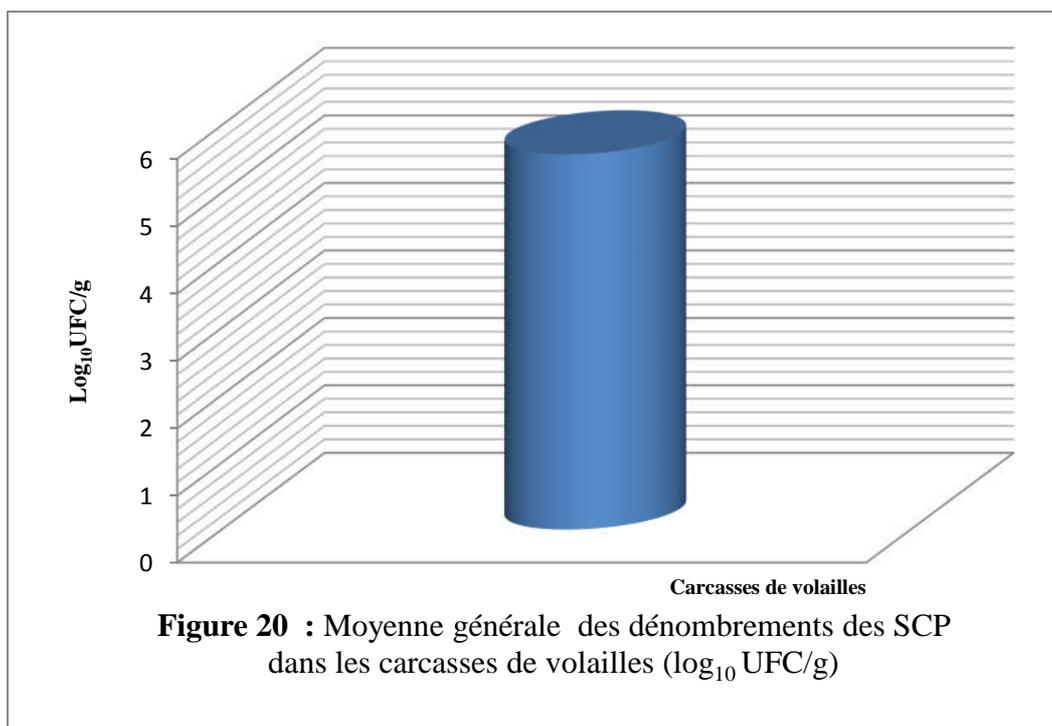
II.1. Taux de contamination global des carcasses de volailles par les SCP

Les résultats du dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (SCP) ont été exprimés en UFC/g puis convertis en \log_{10} UFC/g. Les taux de contamination, minimum, moyen et maximum des carcasses sont rapportés dans le tableau N°19 et illustrés par la figure N°20.

Tableau 19: Moyenne des dénombrements des SCP dans les carcasses de volailles (poulet de chair et dinde de chair)

N	Dénombrement \log_{10} UFC/g			
	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum
1280	5,57	1,38	2,00	8,72

N : Nombre de prélèvements analysés



Les résultats obtenus montrent que la moyenne du taux global de contamination est de l'ordre de $5,57 \log_{10}$ UFC/g avec une valeur minimale de $2,00 \log_{10}$ UFC/g et une valeur maximale de $8,72 \log_{10}$ UFC/g.

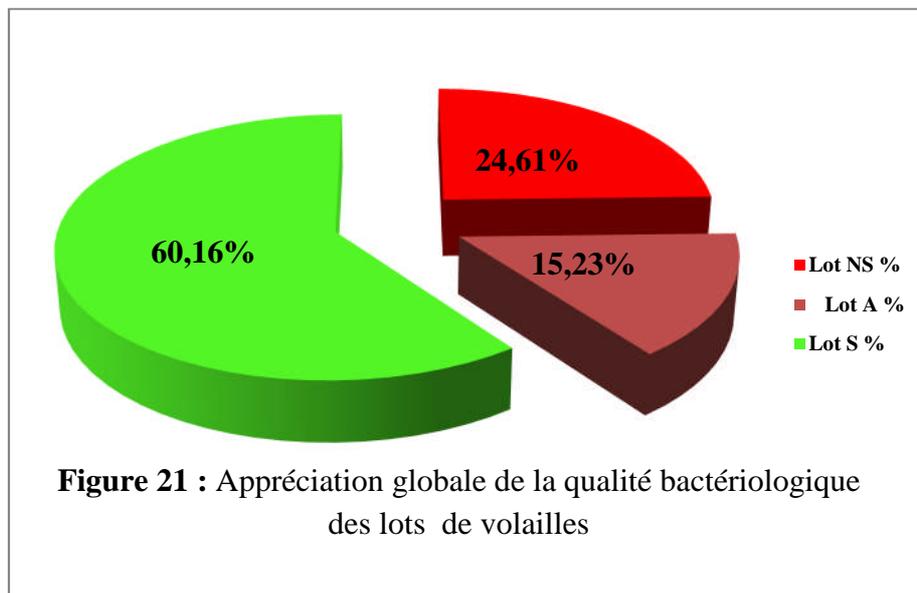
II.2. Appréciation qualitative globale des niveaux de contamination des carcasses de volailles

Les résultats de l'analyse qualitative effectuée sur les 256 lots de volailles abattus dans les 16 établissements d'abattage étudiés sont présentés dans le tableau N°20 et illustrés par la figure N° 21.

Tableau 20: Appréciation qualitative globale des niveaux de contamination des carcasses de volailles par les SCP.

Nombre EA	Nombre de lots	Lot NS %	Lot A %	Lot S %
16	256	24,61(63)	15,23 (39)	60,16 (154)

N : Nombre de lots abattus ; EA : Etablissement d'abattage ; NS : Non Satisfaisant ; S : Satisfaisant ; A : Acceptable.



Le tableau N° 10 montre que 60,16 % des carcasses de volailles étudiées sont de qualité satisfaisante, 15,23 % acceptable et 24,61% sont de qualité non satisfaisante.

II.3. Etude des facteurs de variation de la contamination des carcasses de volailles par les SCP.

II.3.I. Facteurs liés à l'espèce animale

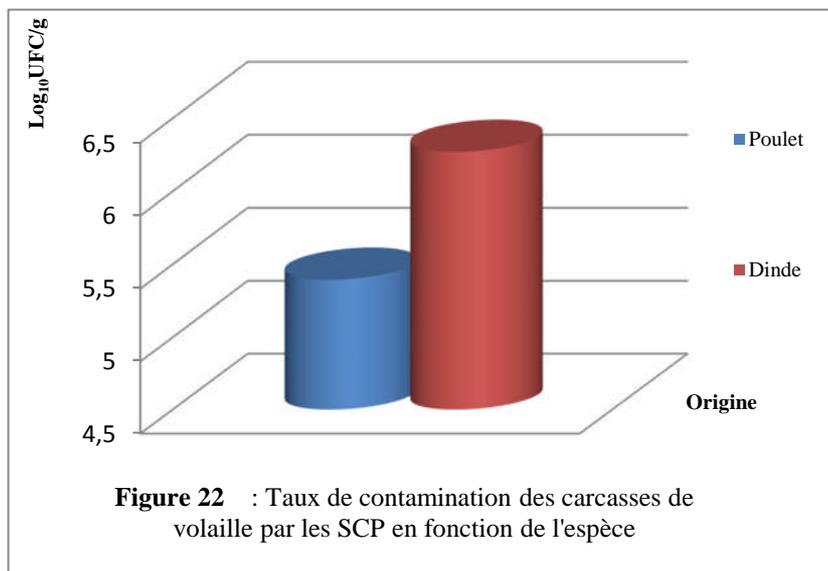
a) Taux de contamination des carcasses de volailles par espèce animale étudiée

Les résultats de l'analyse de la contamination (minimale, moyenne et maximale) des carcasses obtenus chez les deux espèces de volailles étudiées (Poulet et dinde) sont récapitulés dans le tableau N°21 et illustrés par la figure N°22.

Tableau 21: Moyennes générales en \log_{10} UFC/g des dénombrements des SCP chez le poulet et la dinde.

Espèce	N	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum	P value
Poulet	310	5,40	1,29	2,00	8,72	<0,001
Dinde	75	6,27	1,50	3,12	8,70	
Total	385	5,57	1,38	2,00	8,72	

N : Nombre de prélèvement



Les taux moyens de contaminations enregistrés sont de l'ordre de 5,40 \log_{10} UFC/g chez le poulet et de 6,27 \log_{10} UFC/g chez la dinde. Les valeurs minimales sont respectivement de 2 \log_{10} UFC/g et de 3,12 \log_{10} UFC/g chez le poulet et la dinde. Les valeurs maximales sont similaires pour les deux espèces.

L'analyse statistique de la variance ANOVA a montré une différence hautement de charge bactérienne moyenne enregistrée entre les deux espèces étudiées ($p < 0,001$).

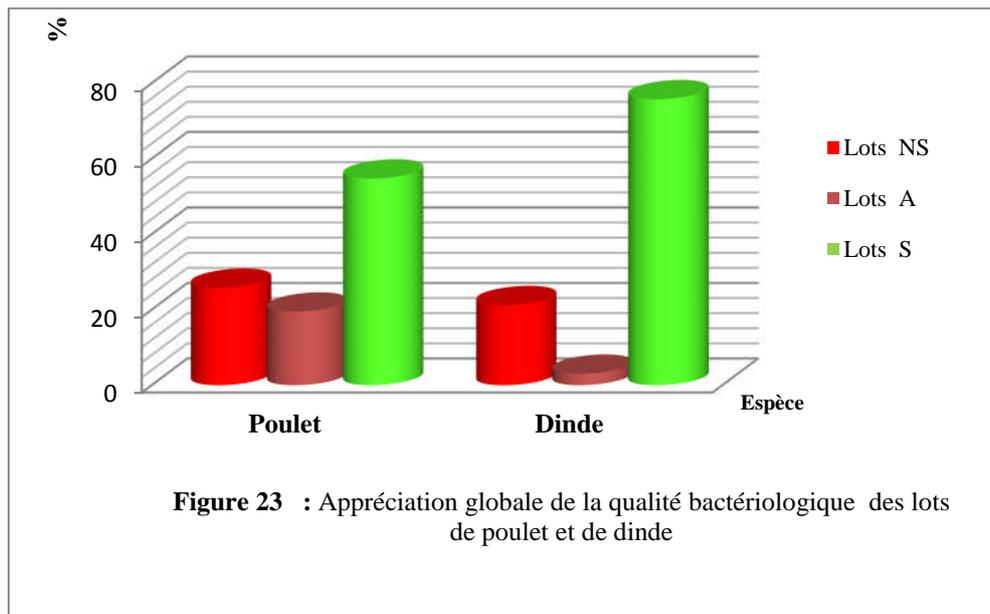
b) Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles par espèce animale étudiée.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°22 et illustrés par la figure N°23.

Tableau 22: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles par espèce animale.

Nombre EA	N	Espèce	Lot NS %	Lot A %	Lot S %	P value
14	190	Poulet	25,79 (49)	19,47 (37)	54,74 (104)	0,002
4	66	Dinde	21,21(14)	3,03 (2)	75,76 (50)	

N : Nombre de lots abattus ; EA : Etablissement d'abattage ; NS : non satisfaisant ; S : Satisfaisant ; A : acceptable.



Les résultats de l'évaluation qualitative des taux de contamination des 265 lots de carcasses de volailles prélevés dans les 16 établissements d'abattage, ont montré que 25,79 % des carcasses de poulet et 21,21% des carcasses de dinde sont non conformes aux seuils fixés par la réglementation Algérienne (J.O.R.A N°39, 2017). Seulement, 19,47 % et 3,03% des carcasses de poulet et de la dinde ont été respectivement jugés de qualité hygiénique acceptable. Par contre, les lots de qualité satisfaisante sont supérieurs à 50% pour les deux espèces.

Le test statistique du khi-2 a montré une différence hautement significative entre les niveaux de contamination des deux espèces ($P=0,002$).

II.3.2. Facteurs liés à la saison.

a) Influence de la saison sur le taux de contamination des carcasses de volailles

Les résultats de l'analyse des charges (minimales, moyennes et maximales) des carcasses de volailles en fonction de la saison, sont résumés dans le tableau N°23 et illustrés par la figure N°24.

Tableau 23: Charges moyennes des carcasses de volailles par les SCP par saison.

Saison	Moyenne \log_{10} UFC/g	Ecart type	Minimum	Maximum	P value
Automne	5,55	1,31	2	8,72	<0,0001
Eté	4,68	1,02	2	8,72	
Printemps	6,12	1,36	3,08	7,94	
Total	5,57	1,38	2	8,7	

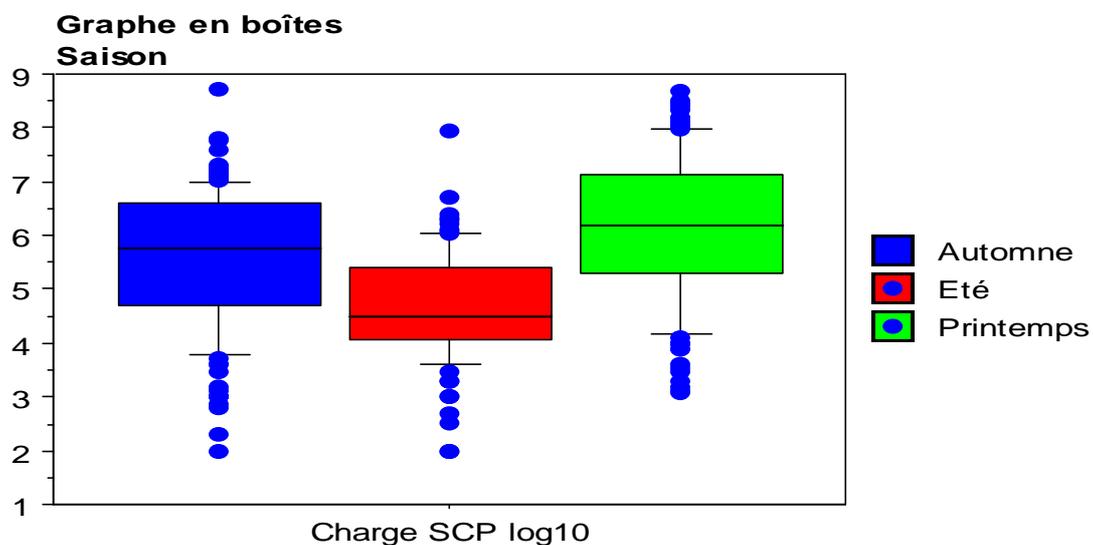


Figure 24 : Appréciation globale de la qualité bactériologique des lots de volailles par saison.

Le taux moyen le plus élevé de la charge des carcasses par les SCP est enregistré dans les échantillons prélevés en période printanière (6,12 \log_{10} UFC/g) avec une valeur minimale de 3,08 \log_{10} UFC/g et maximale de 7,94 \log_{10} UFC/g. Le taux moyen de charge le plus bas est observé en automne (5,55 \log_{10} UFC/g). Celui de l'été est de 4,68 \log_{10} UFC/g.

L'analyse statistique de la variance ANOVA, a montré une différence hautement significative de la charge bactérienne en fonction de la saison ($p < 0,0001$).

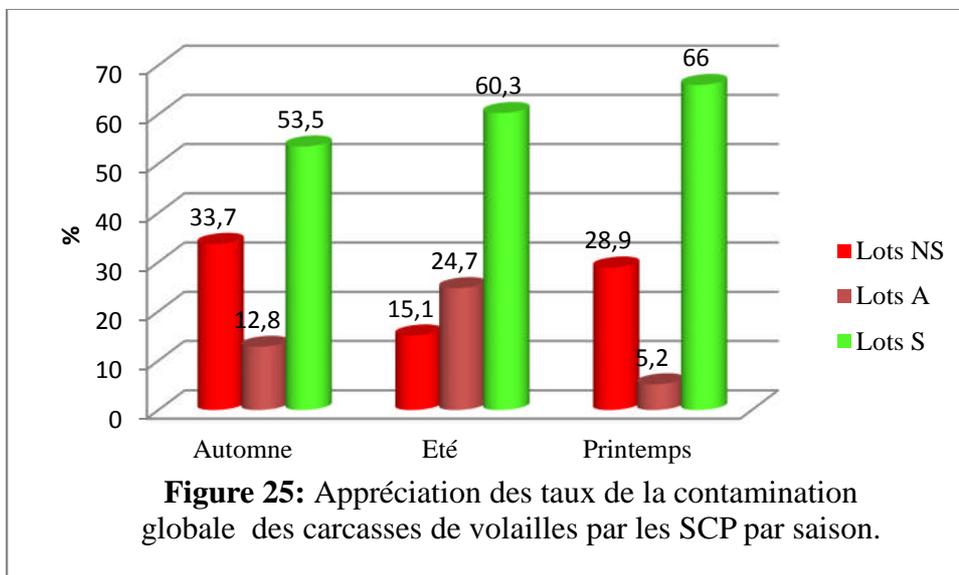
b) Influence de la saison sur la qualité hygiénique des carcasses de volailles

Les résultats de l'analyse qualitative effectuée sur les 256 lots de volailles prélevés en période d'automne, de printemps et d'été sont représentés dans le tableau N°24 et illustrés par la figure N° 25.

Tableau 24: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles par les SCP par saison.

Saison	Appréciation des classes de contamination (%)				P value
	N	NS	A	S	
Automne	86	33,7 (29)	12,8 (11)	53,5 (46)	<0,0001
Eté	73	15,1 (11)	24,7 (18)	60,3 (44)	
Printemps	97	28,9 (28)	5,2 (5)	66,0 (64)	
Total	256	26,6 (68)	13,3 (34)	60,2 (154)	

N : Nombre de lots abattus. NS : non satisfaisant. S : Satisfaisant. A : acceptable.



En fonction des saisons, les résultats de la qualité hygiénique des lots de volailles abattus montrent que 33,7% de carcasses prélevées en automne est de qualité non satisfaisante, suivi de printemps (28,9%) et de l'été (15,1%). En ce qui concerne les lots jugés de qualité acceptable un taux moyen de 24,7% est enregistré en période d'été suivi de l'automne

(12,8%) et du printemps (5,2%). Alors qu'on observe durant les trois saisons que plus de 50% des lots de volailles sont de qualité satisfaisante.

Le test statistique du khi-2, a montré une différence hautement significative entre les saisons ($p < 0,0001$).

II.3.3. Facteurs liés aux établissements d'abattage

a) Evaluation du taux de contamination des carcasses de volailles par les SCP en fonction de l'activité des établissements d'abattage.

Les résultats de la contamination (minimale, moyenne et maximale) des carcasses de poulet et de dinde en fonction de l'activité des établissements d'abattage, sont résumés dans le tableau N°25 et illustrés par la figure N°26.

Tableau 25 : Charges moyennes des carcasses de volailles par les SCP en fonction des établissements d'abattage.

Activité	Moyenne \log_{10} UFC/g	Ecart type	Minimum	Maximum	P value
EAU/D	6,66	1,64	3,12	8,48	0,0001
EAM	6,01	1,26	3	8,7	
EAU/P	5,23	1,27	2	8,72	
Total	5,57	1,38	2	8,7	

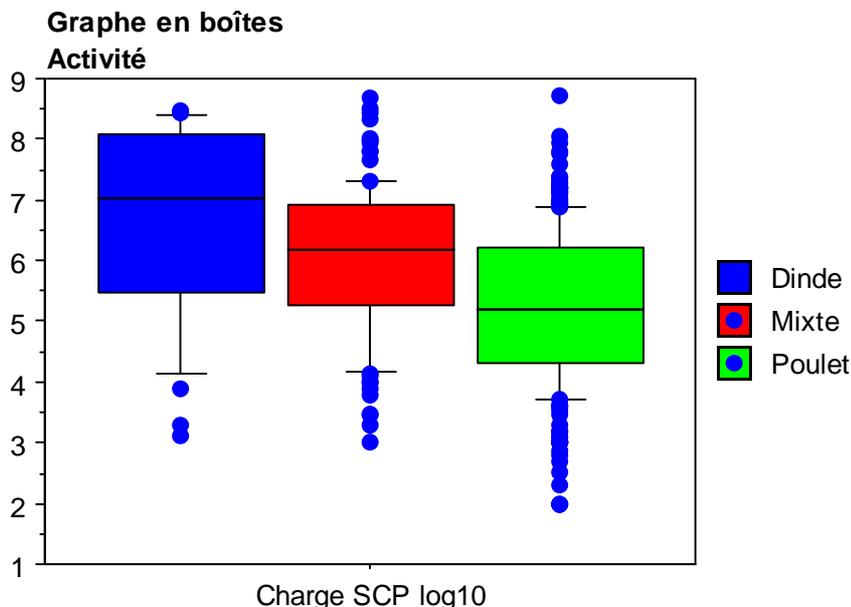


Figure 26: Evaluation globale de la qualité bactériologique des lots de volailles en fonction de l'activité

Les résultats obtenus montrent que les taux moyens de contamination des carcasses de volailles les plus élevés sont enregistrés dans les établissements d'abattage uniquement dinde (6,66 log₁₀ UFC/g) et ceux d'abattage mixte (6,01 log₁₀ UFC/g). La moyenne minimale enregistrée dans ces deux établissements est de l'ordre 3 log₁₀ UFC/g et la maximale est de l'ordre de 8 log₁₀ UFC/g. Cependant, le taux moyen de contamination enregistré dans les établissements d'abattage uniquement poulet est nettement inférieur aux autres établissements, avec une valeur minimale de 2 log₁₀ UFC/g et une valeur maximale de 8 log₁₀ UFC/g.

L'analyse statistique de la variance ANOVA, a montré une différence hautement significative entre les taux de contamination des carcasses provenant des trois établissements d'abattage ($p < 0,0001$).

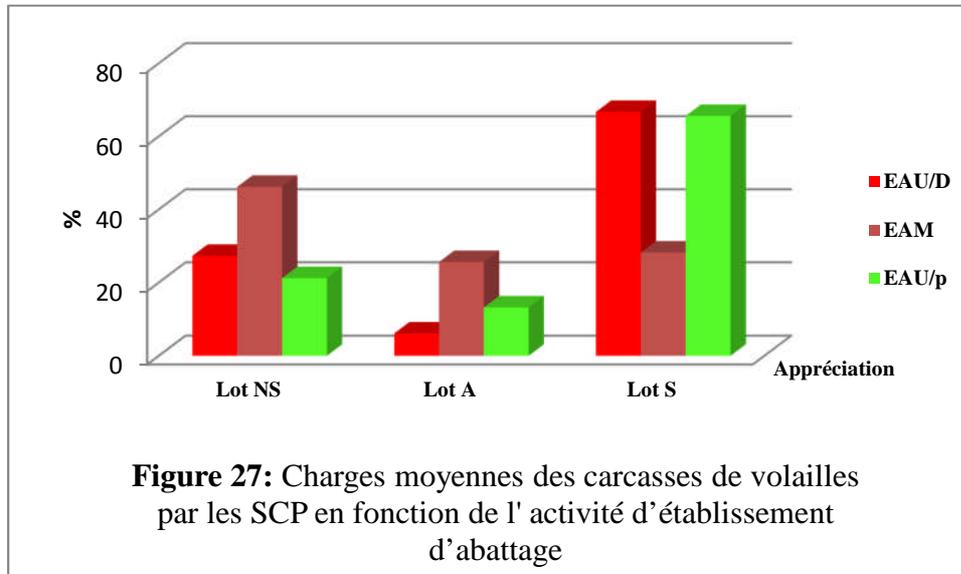
b) Appréciation qualitative de contamination des carcasses des volailles en fonction de l'activité des établissements d'abattage.

Les résultats de l'analyse qualitative effectuée sur les 256 lots de volailles prélevés dans les établissements à activité mixte, uniquement poulet et uniquement dinde sont présentés dans le tableau N°26 et illustrés par la figure N°27.

Tableau 26: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles par les SCP en fonction de l'activité de l'établissement d'abattage.

Activité	Appréciation des classes de contamination (%)				P value
	N	Lot NS	Lot A	Lot S	
EAU/D	66	27,3(18)	6,1(4)	66,7(44)	0,0001
EAM	39	46,2(18)	25,6(10)	28,2(11)	
EAU/p	151	21,2(32)	13,2(20)	65,6(99)	
Total	256	26,6(68)	13,3(34)	60,2(154)	

N: Nombre de lots. NS: non satisfaisant. S: Satisfaisant. A: acceptable.



Les résultats de l'appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de volailles, ont montré que 46,2 % des lots provenant des établissements d'abattage mixte sont non conformes; les lots provenant des établissements d'abattage uniquement dinde et uniquement poulet ont présenté respectivement des taux de 27,3% et 21,2%. En ce qui concerne les lots de qualité acceptable, un taux de 25,6% est enregistré dans les établissements d'abattage mixte, suivi des établissements d'abattage uniquement poulet (13,2%) et uniquement dinde (6,1%). Par ailleurs, un taux supérieur à 28% de lots de qualité satisfaisante est enregistré dans les trois établissements.

Le test statistique du khi-2, a montré une différence hautement significative entre les trois établissements ($p < 0,0001$).

II.4. Etude des facteurs de variation de la charge bactérienne chez le poulet de chair.

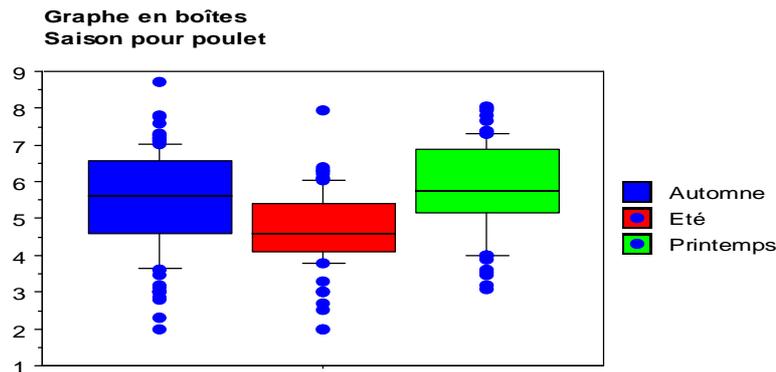
II.4.1. Variation de la contamination des carcasses de poulet par saison.

a) Evaluation des taux de contamination des carcasses de poulet par saison

Les résultats de l'analyse de la contamination (minimale, moyenne et maximale) des carcasses de Poulet, en fonction de la saison, sont résumés dans le tableau N°27 et illustrés par la figure N°28.

Tableau 27 : Moyennes générales des dénombrements des SCP chez le poulet en fonction de la saison

Saison	Dénombrement SCP (\log_{10} UFC/g)				P value
	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum	
Automne	5,48	1,31	2	8,72	< 0,001
Eté	4,69	1,04	2	8,72	
Printemps	5,82	1,22	3,08	8,04	
Total	5,4	1,29	2	8,72	

**Figure 28**: Evaluation globale de la qualité bactériologique des lots de poulet en fonction de la saison.

Le taux moyen le plus élevé de la charge des carcasses par les SCP est enregistré dans les échantillons prélevés en période printanière ($5,82\log_{10}$ UFC/g) avec une valeur minimale de $3,08 \log_{10}$ UFC/g et maximale de $8,04\log_{10}$ UFC/g. Le taux moyen de charge le plus bas est observé en été ($4,69\log_{10}$ UFC/g). Celui de l'automne est de $5,48\log_{10}$ UFC/g.

L'analyse statistique de la variance ANOVA, a montré une différence hautement significative de la charge bactérienne en fonction de la saison ($p < 0,001$).

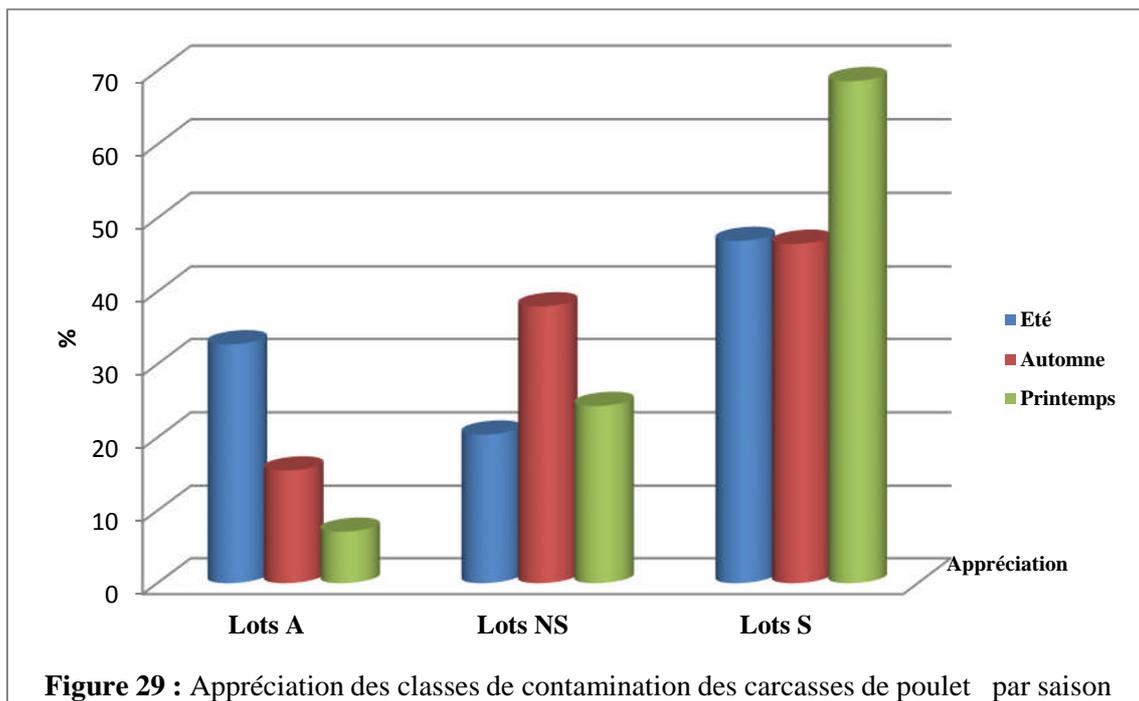
b) **Appréciation qualitative de contamination des carcasses de poulet par saison.**

Les résultats de l'analyse qualitative effectuée sur les 190 lots de poulet abattus dans les 14 établissements d'abattage étudiés sont représentés dans le tableau N°28 et illustré par la figure N°29.

Tableau 28: Appréciation des classes de contamination des carcasses de poulet par saison

Saison	Appréciation de la contamination (n=190 lots)			P value
	A (%)	NS (%)	S (%)	
Eté	32,7% (16)	20,4% (10)	46,9 (23)	0,001
Automne	15,5% (11)	38,0% (27)	46,5 (33)	
Printemps	7,1% (5)	24,3% (17)	68,6 (48)	
Total	16,8% (32)	28,4% (54)	54,7(104)	

n: Nombre de lots. NS : non satisfaisant. S : Satisfaisant. A : acceptable.

**Figure 29 :** Appréciation des classes de contamination des carcasses de poulet par saison

Sur la totalité des échantillons analysés, 38,0% de lots jugés de qualité non satisfaisante ont été enregistré en période d'automne; suivi par le printemps (24,3%) et de l'été (20,4%). Cependant, 68,6% de lots de qualité satisfaisante ont été enregistré au printemps, suivi de l'automne et de l'été avec des taux similaires (46%). En ce qui concerne les lots de qualité acceptable, nous avons enregistré des variations importantes entre les saisons; le taux le plus élevé est enregistré en période d'été (32,7%), suivi de l'automne (15,5%) et le taux le plus bas est observé en période printanière (7,1%).

Le test statistique du khi-2, a montré une différence hautement significative entre les saisons ($p < 0,001$).

II.4.2. Variations de la contamination des carcasses du poulet liées aux établissements d'abattage.

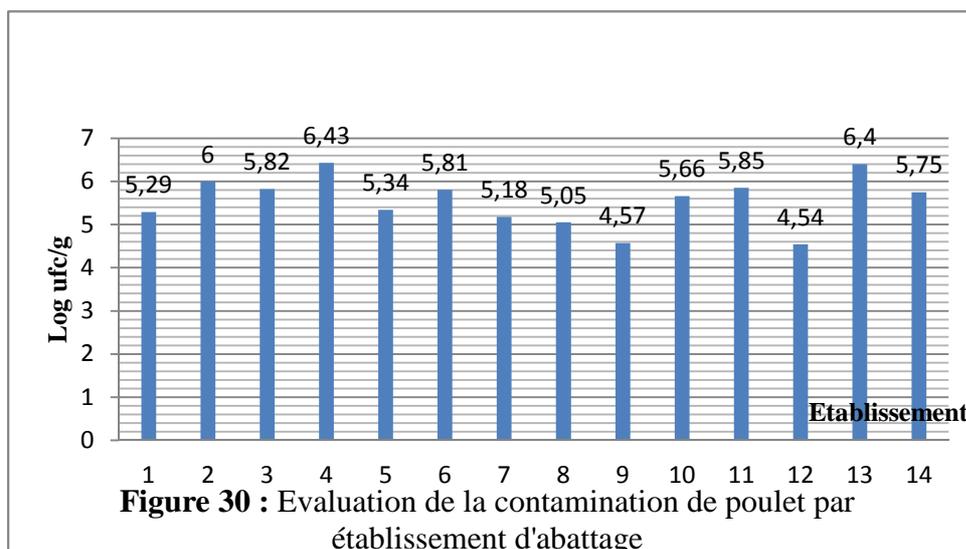
a) Evaluation des taux de contamination des carcasses du poulet par établissement d'abattage.

Les résultats du dénombrement des SCP sur les carcasses de poulet réparties sur les 14 établissements d'abattage sont rapportés dans le tableau N°29 et illustrés par la figure N°30. Ils sont exprimés sous forme de moyenne en Log_{10} UFC /g de produit.

Tableau 29: Taux de contamination des carcasses de poulet par les SCP par établissement d'abattage en Log_{10} UFC/g.

EA	Dénombrement SCP dans les Carcasses de poulet				P value
	Moyenne UFC/g	Ecart- type	Minimum	Maximum	
1	5,29	0,832	4	6	< 0,001
2	6,00	1,23	3	8	
3	5,82	1,14	3	8	
4	6,43	0,93	4	8	
5	5,34	0,91	4	7	
6	5,81	1,03	4	7	
7	5,18	1,63	3	8	
8	5,05	0,69	4	6	
9	4,57	1,19	2	7	
10	5,66	1,28	4	7	
11	5,85	1,15	4	7	
12	4,54	0,84	4	7	
13	6,47	1,25	3	8	
14	5,75	1,32	4	9	
Total	5,40	1,29	2	9	

N : Nombre de prélèvements.



Les résultats montrent que la charge moyenne de la contamination des carcasses de poulet par les SCP, varie entre 4,57 log₁₀ UFC/g et 6,47 log₁₀ UFC/g. Le taux le plus élevé (6,47 log₁₀UFC/g) est enregistré dans l'établissement d'abattage N°13 (6,47 log₁₀UFC/g) suivi de l'établissement N°2 (6 log₁₀UFC/g). Cependant, des taux de charge similaires (5log₁₀UFC/g) sont enregistrés dans les établissements N°1, 3, 5, 6, 7, 8, 10,11 et 14. La valeur minimale de la contamination est enregistrée au niveau des établissements N° 9 (4,57 log₁₀UFC/g) et 12 (4,54 log₁₀UFC/g).

L'analyse statistique a révélé une différence hautement significative entre les 14 établissements d'abattage étudiés (p<0,001).

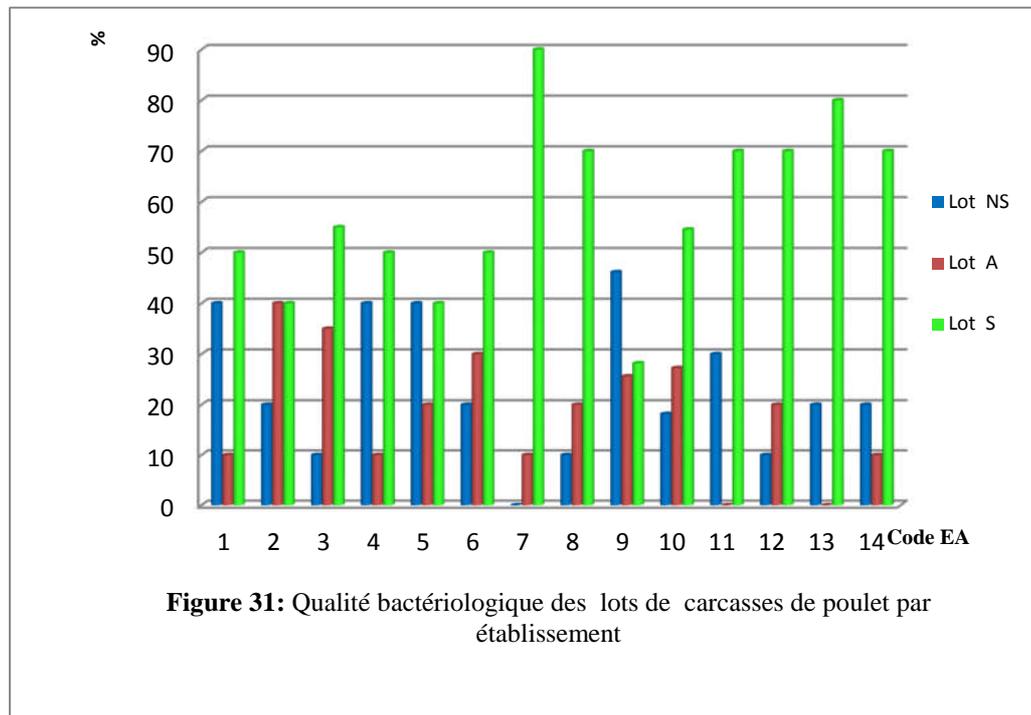
b) Appréciation de la qualité de contamination des carcasses de poulet par les SCP par établissement d'abattage.

Les résultats de l'appréciation des prélèvements obtenus par établissement d'abattage, sont rapportés dans le tableau N°30 et illustrés par la figure N°31.

Tableau 30: Appréciation des classes de contamination des carcasses de poulet de chair par établissement d'abattage.

Code EA	N (n=190)	Lot NS %	Lot A %	Lot S %	P value
1	10	40 (4)	10 (1)	50 (5)	0,058
2	10	20 (2)	40 (4)	40 (4)	
3	20	10 (2)	35 (7)	55 (11)	
4	10	40 (4)	10 (1)	50 (5)	
5	10	40 (4)	20 (2)	40 (4)	
6	10	20 (2)	30 (3)	50 (5)	
7	10	0 (0)	10 (1)	90 (9)	
8	10	10 (1)	20 (2)	70 (7)	
9	10	46,15 (18)	25,64 (10)	28,21 (11)	
10	11	18,18 (2)	27,27 (3)	54,55 (6)	
11	10	30 (3)	0 (0)	70 (7)	
12	10	10 (1)	20 (2)	70 (7)	
13	20	20 (4)	0 (0)	80 (16)	
14	13	20 (2)	10 (1)	70 (7)	
Total	190	25,79 (49)	19,47(37)	54,74(104)	

n: Nombre de lots. NS : non satisfaisant. S : Satisfaisant. A : acceptable.



Les résultats obtenus par établissement d'abattage montrent que les taux des lots de qualité non satisfaisante varient entre 10% et 46,15%. Le pourcentage le plus élevé est enregistré dans l'établissement N°9 (46,15%). Cependant, le pourcentage le plus faible (10%) est enregistré dans les établissements N° 3, N° 8 et N°12 (10%). Concernant les lots de qualité acceptable, le pourcentage le plus élevé est enregistré dans l'établissement N° 2 (40%), et le plus faible (10%) dans les établissements 1, 4, 6, 7 et 14.

Pour les lots de qualité satisfaisante, le taux le plus faible est enregistré dans l'établissement N°9. Pour les autres établissements, nous avons noté un taux supérieur à 40%.

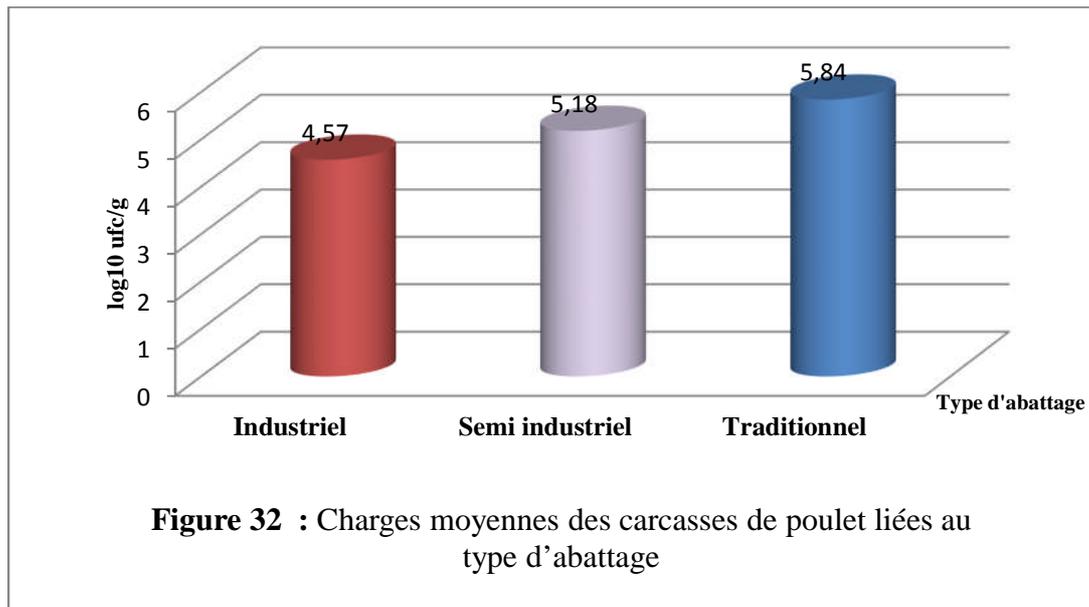
Le test statistique du khi-2, n'a montré aucune différence significative entre les établissements d'abattage ($p=0,058$).

c) Evaluation des taux de contamination des carcasses de poulet par type d'abattage

Selon le type d'abattage, l'évaluation du degré de contamination des carcasses de poulet est résumée dans le tableau N° 31 et illustré par la figure N 32.

Tableau 31 : Charges moyennes des carcasses de poulet liées au type d'abattage.

Type d'abattage	Dénombrement SCP (\log_{10} UFC/g)				P value
	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum	
Industriel	4,57	1,19	2	7,18	< 0,0001
Semi industriel	5,18	1,63	3,18	7,94	
Traditionnel	5,84	1,16	3,09	8,36	
Total	5,4	1,29	2	8,72	

**Figure 32** : Charges moyennes des carcasses de poulet liées au type d'abattage

Les taux de contamination enregistrés sont variables en fonction du type d'établissement d'abattage. Le taux moyen le plus élevé est enregistré dans les établissements d'abattage traditionnel (5,84 \log_{10} UFC/g), avec une valeur minimale de 3,09 \log_{10} UFC/g et une valeur maximale de 8,36 \log_{10} UFC/g. Des taux moins élevés que le précédent sont enregistrés dans les établissements d'abattage semi industriels (5,18 UFC/g). Cependant, Le taux de contamination le plus faible est observé dans les établissements d'abattage industriel (4,57 \log_{10} UFC/g).

L'analyse statistique de la variance ANOVA, a montré une différence hautement significative entre les résultats obtenus par type d'établissement ($p < 0,0001$).

d) Appréciation de la qualité de contamination des carcasses de poulet par les SCP par type d'abattage.

En fonction du type d'abattage, les résultats de l'appréciation de la qualité hygiénique des carcasses de poulet issus des divers abattoirs sont rapportés dans le tableau N°32 et schématisés par la figure N°33.

Tableau 32 : Appréciation des niveaux de la contamination des carcasses de poulet en fonction du type d'abattage.

Type d'abattage	N	NS	A	S	P value
Industriel	39	46,2 (18)	25,6 (10)	28,2 (11)	0,001
Semi industriel	10	0 (0)	10 (1)	90,0 (9)	
Traditionnel	141	25,5 (36)	14,9 (21)	59,6 (84)	
Total	190	28,4 (54)	16,8 (32)	54,7 (104)	

N : Nombre de lots. NS : non satisfaisant. S : Satisfaisant. A : acceptable.

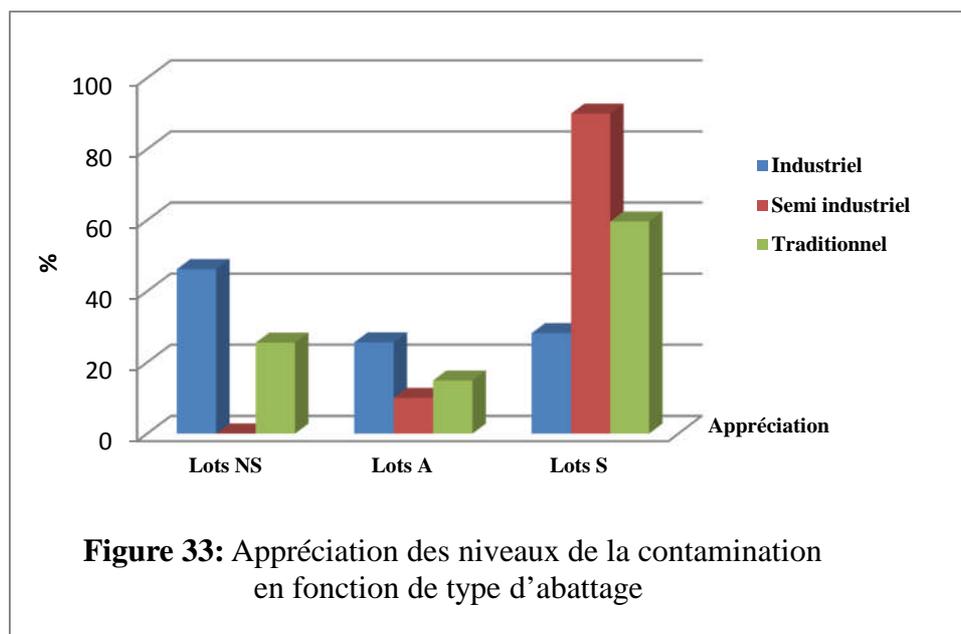


Figure 33: Appréciation des niveaux de la contamination en fonction de type d'abattage

Le tableau (N° 21) ci-dessus montre que 90% de lots provenant des établissements d'abattage semi industriel sont jugés de qualité satisfaisante, suivi par les établissements d'abattage traditionnel (59,6%) et industriel (28,2%). Par contre, le taux le plus élevé des lots de qualité non satisfaisante est enregistré au niveau des établissements d'abattage industriels (46,2%), suivi par les établissements d'abattage traditionnel (25,5%). En ce qui concerne les lots de qualité acceptable, le taux moyen enregistré ne dépasse pas les 26% pour l'ensemble des établissements étudiés.

L'analyse statistique de khie2 a révélé une différence hautement significative entre les trois types d'établissements ($p = 0,001$).

e) Evaluation de taux de contamination des carcasses de poulet par les SCP en fonction de l'activité des établissements d'abattage.

Les résultats de dénombrement (minimum, moyen et maximum) des carcasses de poulet, en fonction de l'activité des établissements d'abattage, sont récapitulés dans le tableau N°33 et représentés par la figure N°34.

Tableau 33: Moyennes générales des dénombrements des SCP chez le poulet en fonction de l'activité de l'établissement.

Activité	Dénombrement SCP (\log_{10} UFC/g)				P value
	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum	
Mixte	6,03	1,2	3	8,72	< 0,0001
Uniquement poulet	5,23	1,27	2	8	
Total	5,4	1,29	2	8,72	

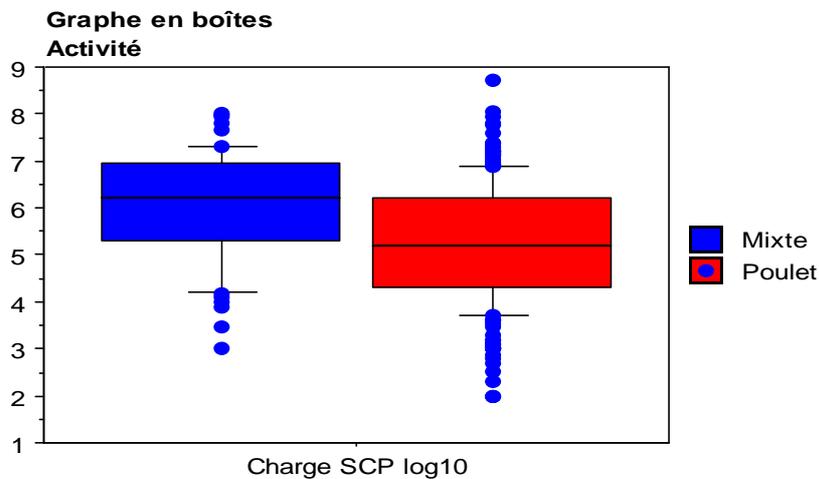


Figure 34 : Charges moyennes des carcasses de poulet en fonction de l'activité de l'établissement.

Les résultats obtenus en fonction de l'activité des établissements d'abattage de poulet, montrent que les carcasses prélevées dans les établissements à activité mixte (6,03 \log_{10} UFC/g) sont plus contaminées par rapport à celles prélevées dans les établissements à activité unique poulet (5,23 \log_{10} UFC/g).

L'analyse statistique a révélé une différence hautement significative entre les résultats obtenus ($p < 0,0001$).

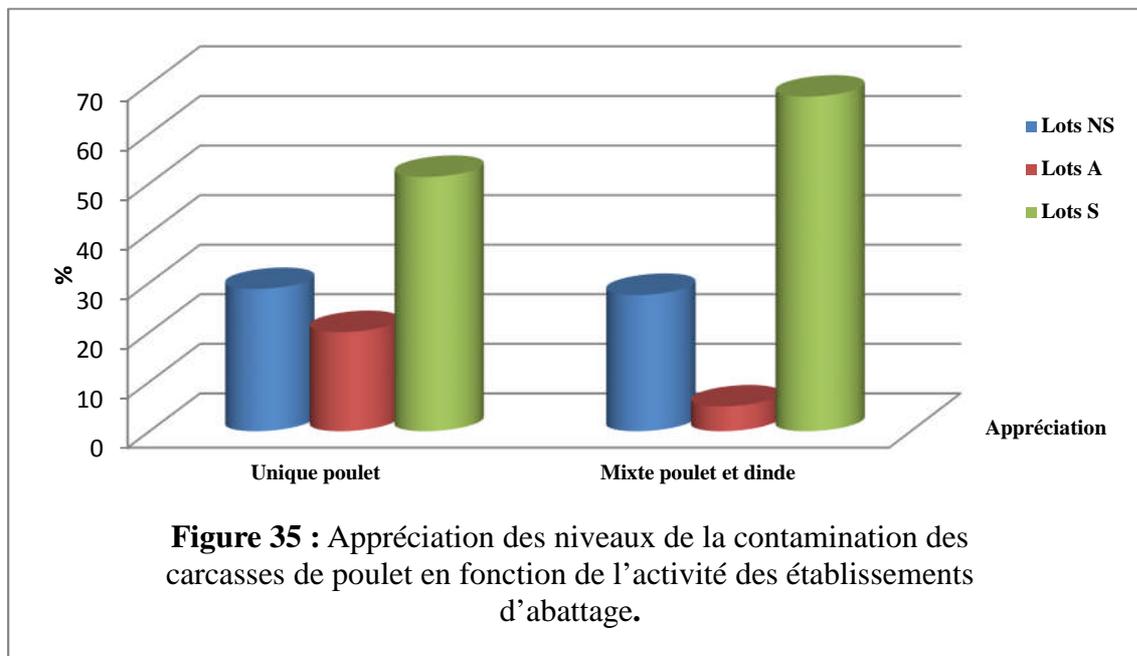
f) Appréciation qualitative de la contamination des carcasses de poulet par les SCP en fonction de l'activité des établissements d'abattage.

Les résultats de l'analyse qualitative effectuée sur les 190 lots de poulet abattus dans les 14 établissements d'abattage à activité unique poulet et mixte (poulet, dinde) sont représentés dans le tableau N° 34 et illustrés par la figure N° 35.

Tableau 34: Appréciation qualitative des niveaux de la contamination des carcasses de poulet en fonction de l'activité des établissements d'abattage.

Type d'abattage	N	NS	A	S	P value
Unique poulet	150	28,7 (43)	20 (30)	51,3 (77)	0,0576
Mixte poulet et dinde	40	27,5 (11)	05 (2)	67,5(27)	
Total	190	28,4 (54)	16,8 (32)	54,7 (104)	

N : Nombre de lots, NS : non satisfaisant, S : Satisfaisant, A : acceptable



Selon le plan à trois classes, les résultats obtenus montrent que 28,7% et 27,5% de lots provenant respectivement des établissements d'abattage à activité unique poulet et mixte, sont jugés de qualité hygiénique non satisfaisante. En revanche, plus de 50% des lots provenant des deux types d'établissements sont de qualité satisfaisante. Cependant, les taux des lots jugés de qualité acceptable, prélevés au niveau des établissements d'abattage à activité mixte (5%) sont nettement inférieurs par rapport à ceux prélevés au niveau des établissements d'abattage à activité unique poulet (20%).

Le test statistique du khi-2 a montré une différence non significative entre les niveaux de contamination des lots provenant des deux établissements ($P=0,057$).

II.5. Etude des facteurs de variations de la contamination des carcasses de dinde

II.5.1. Variation de la contamination des carcasses de poulet par saison.

a) Taux de contamination des carcasses de dinde par les staphylocoques à coagulase positive en fonction de la saison

Les résultats, obtenus par saison, de la contamination (minimale, moyenne et maximale) des carcasses de dinde, sont résumés dans le tableau N°35 et illustrés par la figure N°36.

Tableau 35: Comparaison des moyennes des niveaux de contamination des carcasses de dinde selon les saisons.

Saison	Dénombrement des SCP (Log_{10} UFC/g)				P value
	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum	
Automne	6,38	0,87	4,18	7	<0,0001
Eté	4,59	0,96	3,3	6,7	
Printemps	6,68	1,43	3,12	8,7	
Total	6,27	1,5	3,12	8,7	

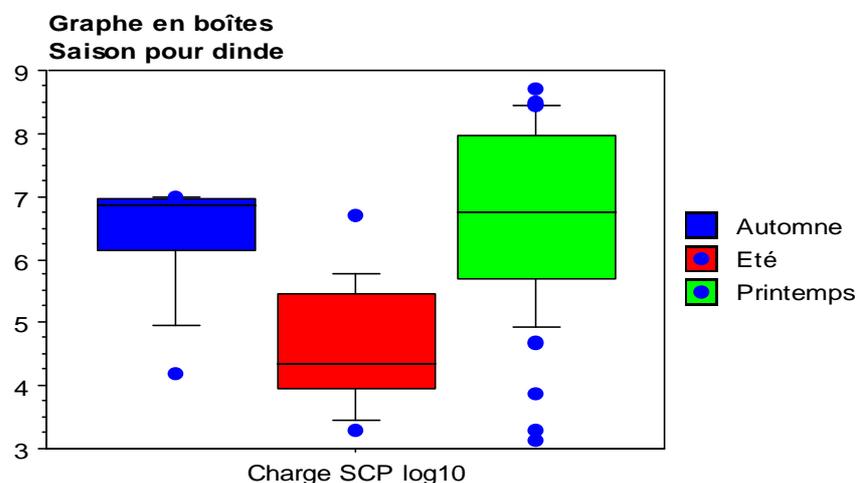


Figure 36 : Charges moyennes des carcasses de dinde en fonction de l'activité de la saison.

Le taux moyen le plus élevé de la charge des carcasses par les SCP est enregistré dans les échantillons prélevés en période printanière (6,68 log_{10} UFC/g) avec une valeur minimale de 3,12 log_{10} UFC/g et maximale de **8,7** log_{10} UFC/g. Le taux moyen de charge le plus bas est observé en été (4,59 log_{10} UFC/g). Celui de l'automne est de 6,38 log_{10} UFC/g.

L'analyse statistique de la variance ANOVA, a montré une différence hautement significative de la charge bactérienne en fonction de la saison ($p < 0,0001$).

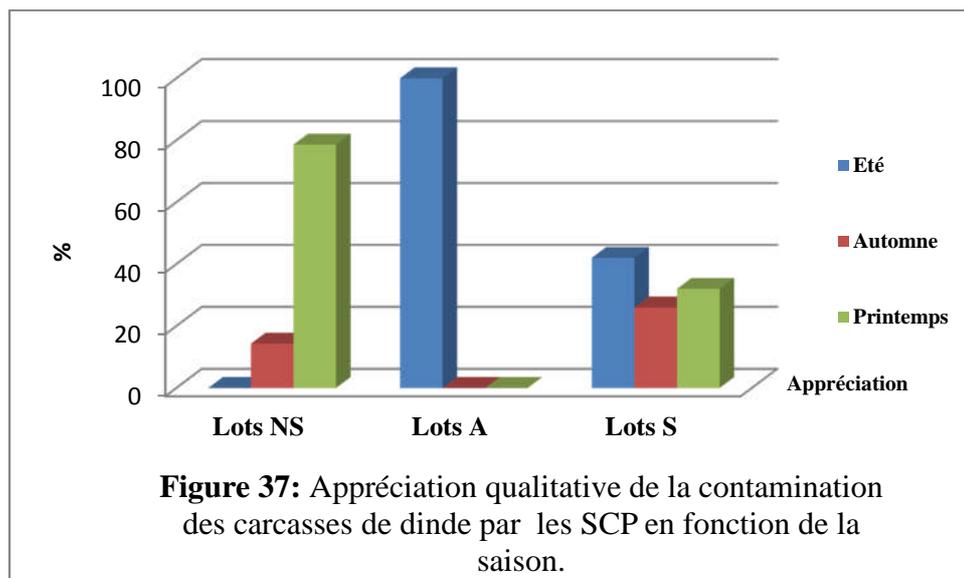
b) Appréciation qualitative de la contamination des carcasses de dinde en fonction de la saison.

Les résultats de l'analyse qualitative réalisée durant les périodes d'automne, été et printemps concernant les 66 lots de dinde abattus dans les 4 établissements d'abattage étudiés, sont présentés dans le tableau N° 36 et illustrés par la figure N°37.

Tableau 36: Appréciation qualitative de la contamination des carcasses de dinde par les SCP en fonction de la saison.

Saison	N	NS %	A %	S %	P value
Automne	15	14,3 (2)	0	26,0 (13)	0,008
Eté	24	7,1 (1)	100 (2)	42,0 (21)	
Printemps	27	78,6 (11)	0	32,0 (16)	

N : Nombre de lots. NS : non satisfaisant. S : Satisfaisant. A : acceptable.



Les résultats de l'analyse des prélèvements obtenus par saison ont révélé que 78,6% des lots abattus en période de printemps sont jugés de qualité hygiénique non satisfaisante, suivi de l'automne (14,3%) et de l'été (7,1%). En revanche, en été, les résultats sont très variables et on a enregistré le plus haut taux des carcasses de qualité satisfaisante (42%), suivi du printemps (32%) et de l'automne (26%). On note que 100% des carcasses prélevées en période du printemps sont de qualité acceptable.

Le test statistique du khi-2 a montré une différence hautement significative entre les niveaux de contamination des lots par saison ($P=0,008$).

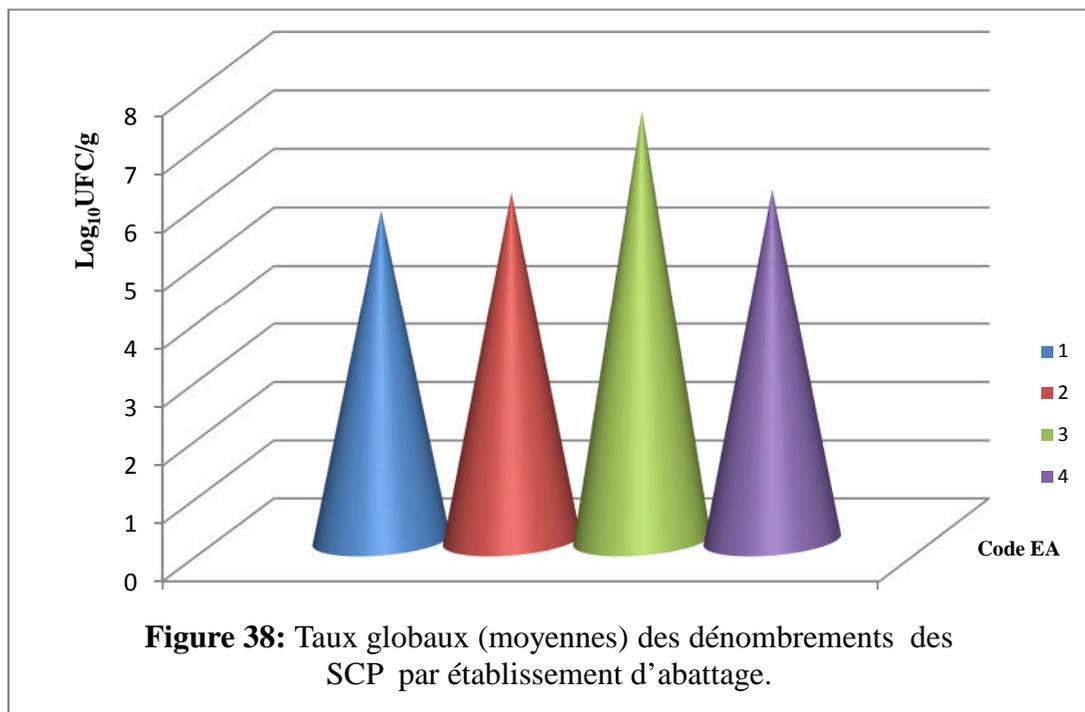
II.5.2. Variations de la contamination des carcasses de dinde liées aux établissements d'abattage.

a) Taux de la contamination des carcasses de dinde par établissement d'abattage.

Les résultats de l'analyse de dénombrement sur les des carcasses de dinde répartis sur les 4 établissements d'abattage, situés au niveau de 4 daïras, sont récapitulés dans le tableau N°37 et représentés par la figure N°38.

Tableau 37: Comparaison des moyennes de dénombrement des SCP dans les carcasses de dinde par établissement d'abattage.

Daïra	Code EA	Dénombrement des SCP (Log_{10} UFC/g)				P
		Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum	
Baraki	1	5,68	1,93	3,12	8,12	0,003
Birtouta	2	5,98	1,50	3,30	8,70	
Dar El Beïda	3	7,37	0,91	5,56	8,48	
Rouïba	4	6,03	1,01	4,00	7,30	
Total		6,27	1,50	3,12	8,70	



Les résultats de l'analyse réalisée sur les carcasses de dinde ont révélé une charge moyenne supérieure à 5 log_{10} UFC/g pour l'ensemble des 4 établissements d'abattage étudiés,. Le taux le plus élevé est enregistré au niveau de l'établissement N° 3 avec une charge

moyenne de 7,37 \log_{10} UFC/g, suivi des établissements N° 4 (6,03 \log_{10} UFC/g), N° 2 (5,98 \log_{10} UFC/g) et N°1 (5,68 \log_{10} UFC/g).

L'analyse statistique de la variance ANOVA, a montré une différence hautement significative entre les différentes circonscriptions et les établissements d'abattage ($p < 0,001$).

b) Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de dinde par les SCP en fonction de l'établissement d'abattage.

L'appréciation qualitative de la charge bactérienne des carcasses de dinde par les SCP est représentée dans le tableau N°38 et la figure N°39. Chaque pourcentage affère à un établissement d'abattage concerné par l'étude.

Tableau 38: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de dinde par établissement d'abattage.

Daira	Code	N	NS %	A %	S %	P value
Baraki	1	13	15,38 (2)	7,69 (1)	76,92 (10)	0,74
Birtouta	2	20	5 (1)	25 (5)	70 (14)	
Dar El	3	13	30,77 (4)	0 (0)	69,23 (9)	
Rouïba	4	20	15 (3)	0 (0)	85 (17)	

N : Nombre de lots, NS : non satisfaisant, S : Satisfaisant, A : acceptable

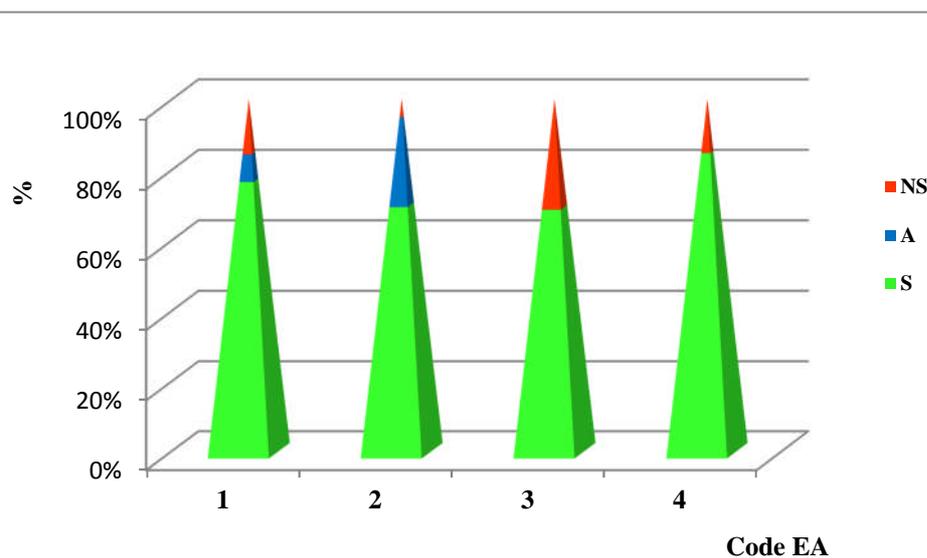


Figure 39 : Appréciation de la qualité bactériologique des lots de carcasses de dinde par établissement d'abattage

Les résultats obtenus (tableau N° 38 et figure N°39) montrent que le taux le plus élevé des lots jugés de qualité non satisfaisante est enregistré dans l'établissement N°3 (30,77%),

suivi de l'établissement N°1 (15,38%) et N°4 (15%).L'établissement N°2 vient en dernière position avec un taux de (5%).

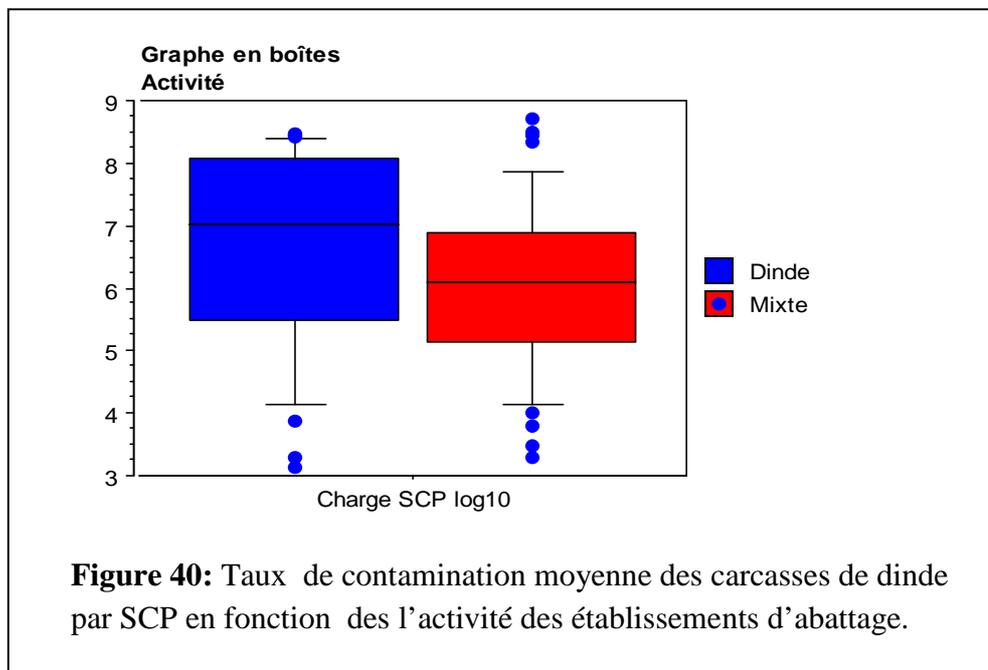
Le test statistique du khi-2 a montré une différence non significative entre les niveaux de contamination des lots par Daïra (P=0,74).

c) Evaluation de taux de contamination des carcasses de dinde par les staphylocoques à coagulase positive en fonction de l'activité (mixte ou unique).

Les résultats de la charge bactérienne (minimale, moyenne et maximale) des carcasses de dinde prélevées dans les établissements à activité unique dinde et mixte (Poulet et dinde) sont résumés dans le tableau N°39 et illustrés par la figure N°40.

Tableau 39: Comparaison des moyennes de dénombrement des SCP dans les carcasses de dinde en fonction de l'activité des établissements d'abattages.

Activité	Dénombrement des SCP (Log ₁₀ UFC/g)				P value
	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum	
Unique dinde	6,66	1,64	3,12	8,48	0,058
Mixte	6	1,34	3,3	8,7	
Total	6,27	1,5	3,12	8,7	



Ces résultats obtenus montrent que le taux de contamination des carcasses prélevées dans les établissements d'abattage unique dinde est de l'ordre de 6,66 log₁₀ UFC/g avec une valeur minimale de 3,12 log₁₀UFC/g et une valeur maximale de 8,48log₁₀UFC/g.

Cependant, un taux de $6 \log_{10}\text{UFC/g}$ est enregistré dans les établissements d'abattage mixte avec une valeur minimale de $3,3 \log_{10}\text{UFC/g}$ et une valeur maximale de $8,7 \log_{10}\text{UFC/g}$.

L'analyse statistique de la variance ANOVA, a montré une différence non significative, entre les niveaux de contamination des carcasses de dinde, liée à l'activité de l'établissement d'abattage ($P=0,058$).

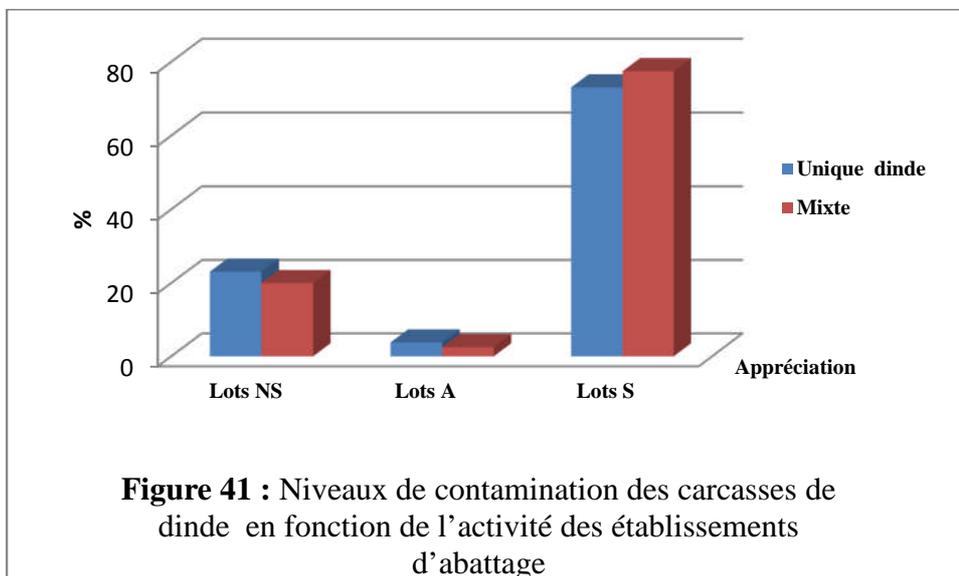
d) Appréciation qualitative globale des niveaux de contamination des carcasses de dinde en fonction de l'activité des établissements d'abattage.

Les résultats de l'analyse qualitative effectuée sur les 66 lots de dinde provenant des établissements d'abattage à activité unique dinde et à activité mixte (poulet, dinde), sont représentés dans le tableau N°40 et illustrés par la figure N°41.

Tableau 40: Appréciation qualitative des niveaux de contamination des carcasses de dinde en fonction de l'activité des établissements d'abattage.

Type d'abattage	N	NS %	A %	S %	P value
Unique dinde	26	23,1 (6)	3,8 (1)	73,1 (19)	0,902
Mixte	40	20,0 (8)	2,5 (1)	77,5 (31)	
Total	66	21,2 (14)	3,0 (2)	75,8 (50)	

N : Nombre de lots. NS : non satisfaisant. S : Satisfaisant. A : acceptable.



Ce tableau, ci-dessus, montre que plus de 73 % des lots abattus distinctement dans les deux types d'établissements d'abattage sont de qualité satisfaisante. Un pourcentage semblable de lots de qualité acceptable et de qualité non satisfaisante est respectivement enregistré dans les deux types d'établissements d'abattage.

Le test statistique du khi-2 a montré une différence non significative entre les niveaux de contamination entre les deux types d'établissements ($p=0,902$).

III. Résultat de l'étude de la prévalence de *S.aureus* isolé des carcasses de volailles.

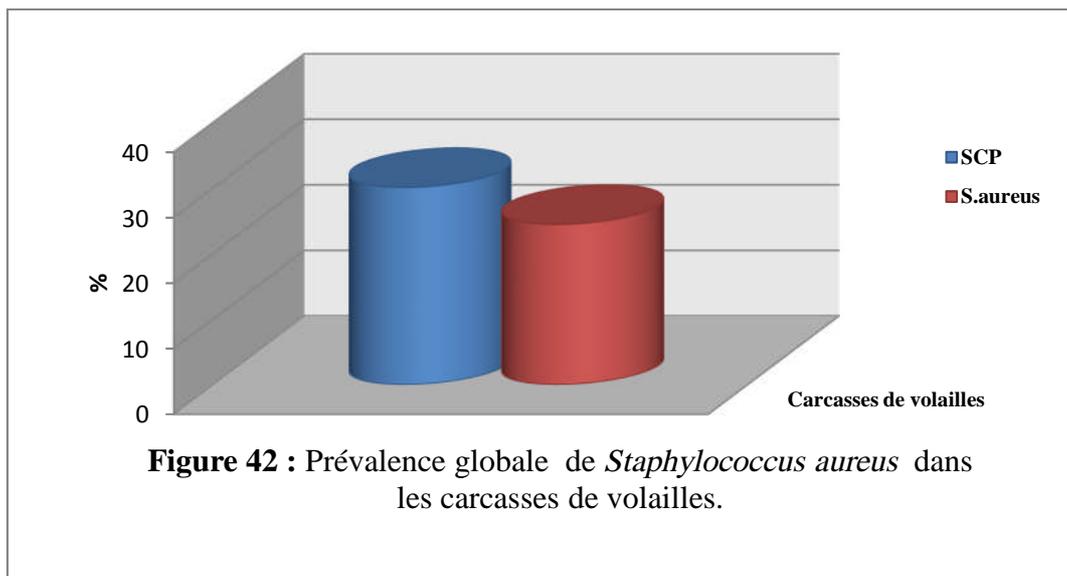
III.1. Prévalence globale de la contamination des carcasses de volailles par *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de l'étude de prévalence de *S.aureus*, isolé sur les 1280 carcasses de volailles, sont résumés dans le tableau N°41 et illustrés par la figure N°42.

Tableau 41 : Prévalence globale de *Staphylococcus aureus* isolé sur les carcasses de volailles.

N	SCP %		<i>S.aureus</i>	
	N	%	N	%
1280	385	30,08	313	24,45

N : nombre de prélèvement.



La recherche de *S.aureus* dans les 1280 échantillons de volailles prélevés dans les 16 établissements d'abattage a respectivement révélé un taux moyen global de contamination de 30,08% et de 24,45% pour les SCP et les *S.aureus*.

III.2. Facteurs de variation de la prévalence de *S.aureus* dans les carcasses de volailles.

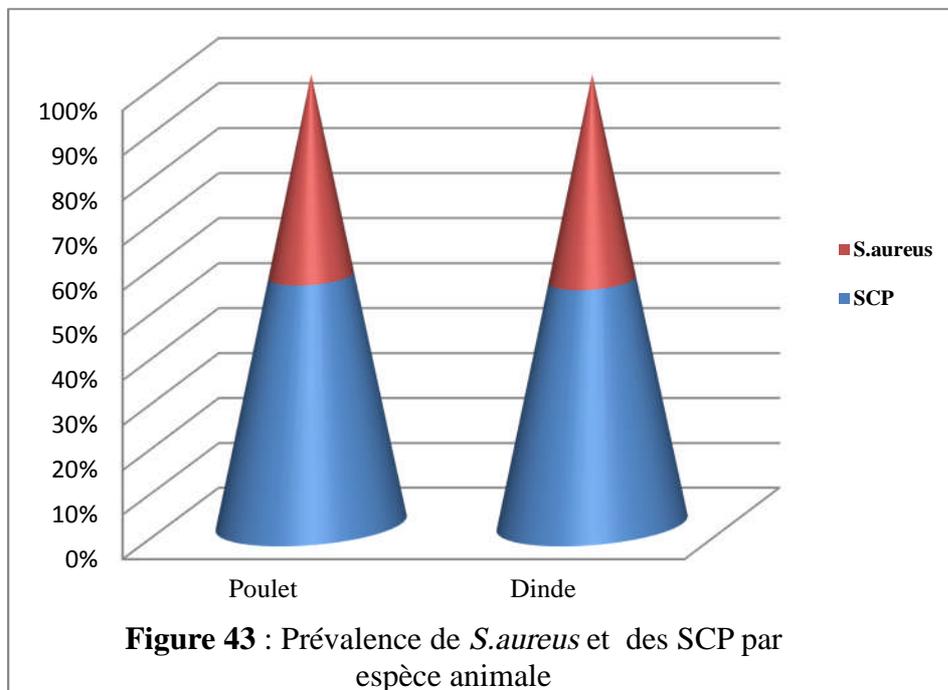
a) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de volailles par *S.aureus*, en fonction de l'espèce animale.

Les résultats de la comparaison globale des moyennes de prévalence de contamination des carcasses de poulet et de la dinde par les *S.aureus* et SCP sont résumés dans le tableau N°42 et illustrés par la figure N°43.

Tableau 42: Prévalences moyennes de contamination des carcasses de volailles par espèce animale

	Espèce	N	Prévalence %
SCP	Poulet	950	32,63
	Dinde	330	22,73
	Total	1280	30,08
	P value	0,001	
<i>S.aureus</i>	Poulet	950	26,32
	Dinde	330	19,09
	Total	1280	24,45
	P value	0,008	

N : Nombre de prélèvement



Le tableau N° 42 montre que les taux moyens de contamination des carcasses de volailles, par les SCP sont respectivement de l'ordre de 32,63% et de 22,73% chez le poulet

et la dinde. Cependant, les taux moyens de contamination par *S. aureus* sont de l'ordre de 26,32% chez le poulet et de 19,09 % chez la dinde (Tableau N°23 et Figure N°40).

L'analyse statistique a montré une différence hautement significative entre les deux espèces animales étudiées ($p=0,008$).

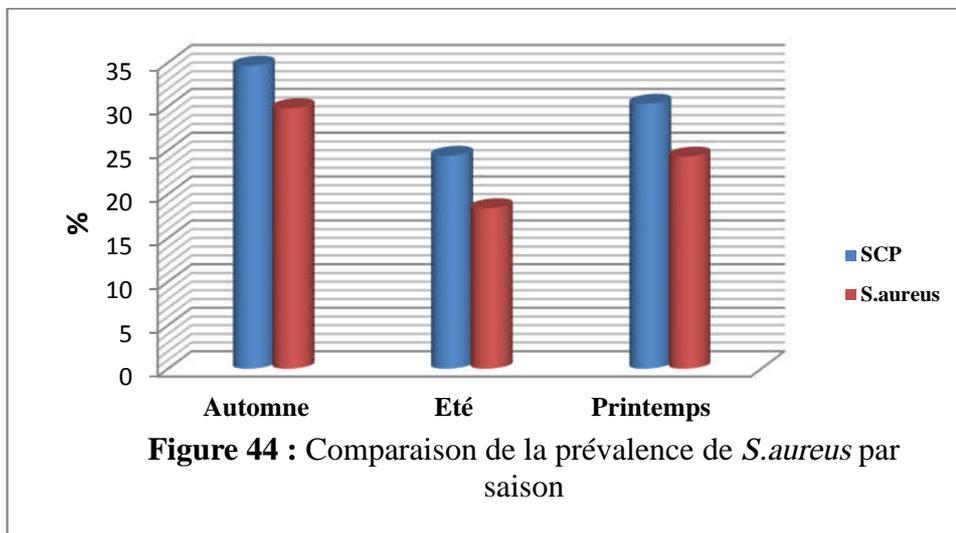
b) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de volailles par *S.aureus* en fonction de la saison.

Les résultats de l'étude de la prévalence moyenne de *S.aureus* dans les 1280 carcasses de volailles, répartis par saison d'étude, sont résumés dans le tableau N° 43 et représentés par la figure N° 44.

Tableau 43 : Prévalences moyennes de contamination des carcasses de volailles par saison.

Saison	N	SCP%	<i>S.aureus</i> %	P
Automne	430	34,65(149)	29,8 (128)	0,001
Eté	365	24,38(89)	18,4 (67)	
Printemps	485	30,31(147)	24,3 (118)	
Total	1280	30,08(385)	24,45(313)	

N : Nombre de prélèvement



L'étude de la prévalence de la contamination des carcasses de volailles par *S.aureus* en fonction de la saison, a révélé une variabilité observée entre les saisons. Le taux le plus élevé de la contamination est enregistré en période d'automne (29,8%), suivi de printemps (24,3%) et de l'été (18,4%). Le test statistique a montré une différence hautement significative entre les différentes saisons ($p < 0,001$).

c) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de volailles par *S.aureus* liées à l'activité des établissements d'abattage.

Les résultats obtenus selon le type d'établissement d'abattage, lors de l'étude de la prévalence de *S.aureus* sur les 1280 carcasses de volailles, sont résumés dans le tableau N°44 et illustrés par la figure N° 45.

Tableau 44 : Prévalence de *S.aureus* dans les carcasses de volailles en fonction de type d'établissement d'abattage.

Activité	Effectif total volaille	Prévalence SCP %	Prévalence <i>S.aureus</i> %	p
EAM	400	26,75(107)	22,8 (91)	0,205
EAU/P	750	32,93(247)	26,1 (196)	
EAU/D	130	23,85(31)	20,0 (26)	
Total	1280	30,08(385)	21,45(313)	

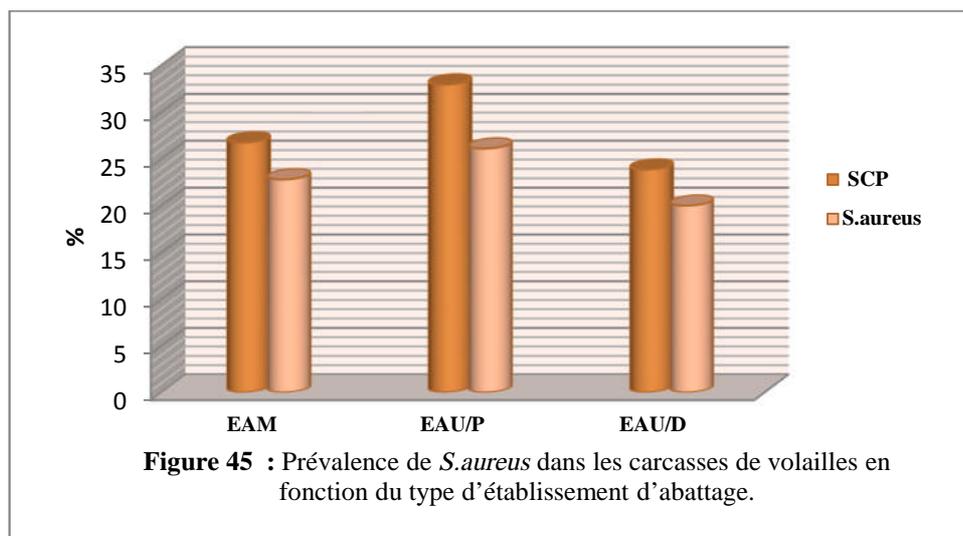


Figure 45 : Prévalence de *S.aureus* dans les carcasses de volailles en fonction du type d'établissement d'abattage.

Le tableau N°44 montre que, le taux le plus élevé de contamination des carcasses de volailles par *S.aureus* est enregistré sur les carcasses prélevées au niveau des établissements à abattage unique poulet (26,1%), suivi des établissements à abattage mixte (22,8%) et à abattage unique dinde (20%).

L'analyse statistique de khi-2 a montré une différence non significative entre les trois établissements étudiés.

III.3. Facteurs de variation de la prévalence de *S.aureus* dans les carcasses de poulet.

a) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de poulet par *S.aureus* en fonction de la saison.

Le tableau N°45 et la figure N°46 illustre les résultats répartis par saison de l'étude de la prévalence de *S.aureus* dans les 950 carcasses de poulet.

Tableau 45 : Prévalences moyennes de contamination des carcasses de poulet par *S.aureus* en fonction de la saison.

Saison	Effectif poulet	Prévalence SCP %	Prévalence <i>S.aureus</i> %	P value
Automne	355	38,87(138)	33,8(12)	0,0001
Été	245	31,02(76)	24,49(60)	
Printemps	350	27,43(96)	20(70)	
Total	950	32,63(310)	26,32(250)	

L'étude en fonction de la saison de la prévalence de la contamination des carcasses de poulet par *S.aureus* a révélé une variabilité entre les trois saisons,. Le taux le plus élevé est enregistré en période d'automne (33,8%) suivi de l'été (24,49%) et de printemps (20%). Concernant la prévalence de la contamination par les SCP, le taux le plus élevé est également enregistré en période d'automne (38,87%). Ceux de l'été et du printemps sont respectivement de l'ordre de 24,49% et de 20%.

Le test statistique a révélé une différence hautement significative entre les saisons ($p = 0,0001$).

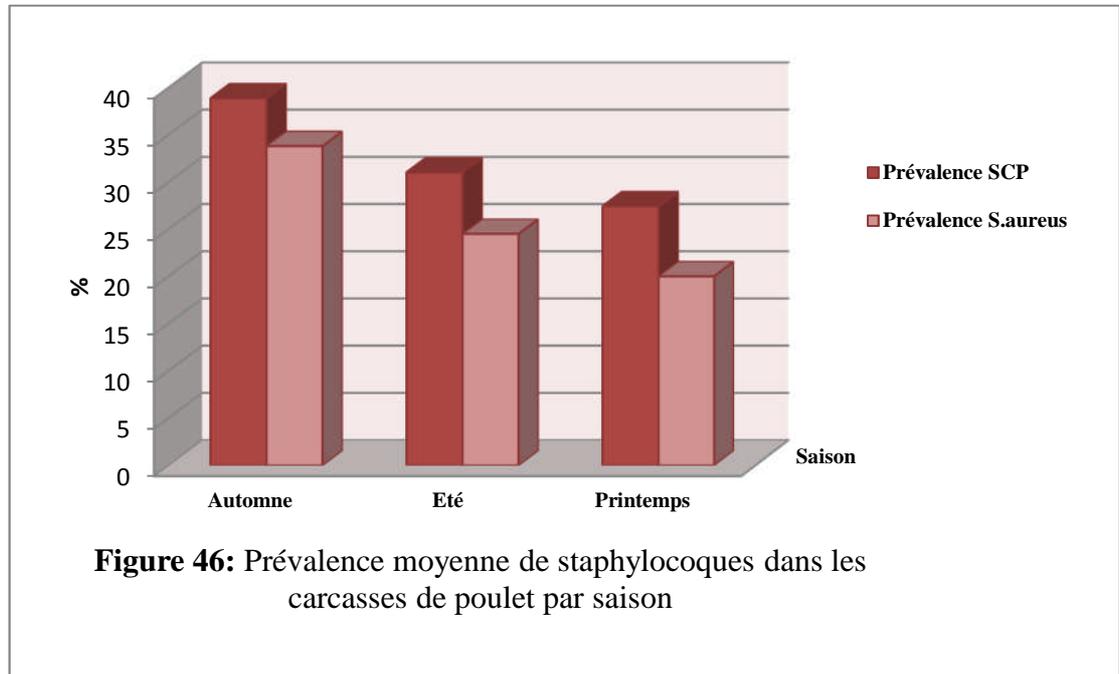


Figure 46: Prévalence moyenne de staphylocoques dans les carcasses de poulet par saison

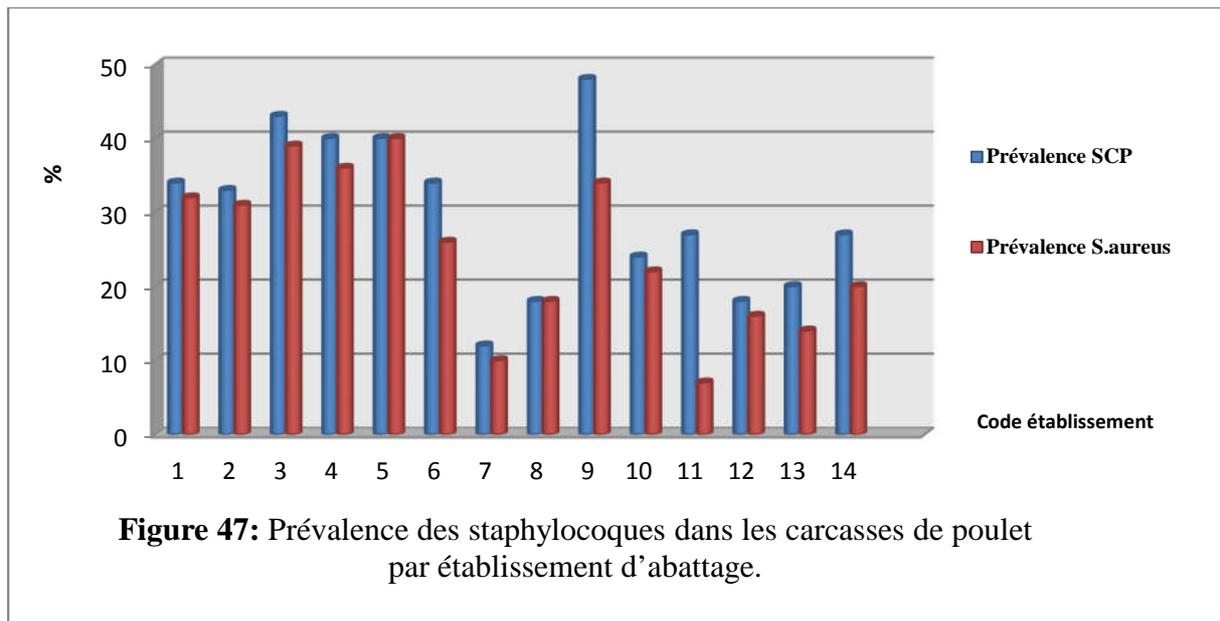
b) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de poulet par *S.aureus* par établissement d'abattage

Les résultats de la recherche de *S. aureus* sur les carcasses de poulet obtenus par établissement d'abattage sont résumés dans le tableau N°46 et illustrés par la figure N°47.

Tableau46: Prévalences moyennes de contamination des carcasses de poulet par les staphylocoques en fonction des établissements d'abattage.

Code établissement	Prévalence SCP (%)	Prévalence <i>S.aureus</i> (%)
1	34	32
2	33	31
3	43	39
4	40	36
5	40	40
6	34	26
7	12	10
8	18	18
9	48	34
10	24	22
11	27	07
12	18	16
13	20	14
14	27	20
Moyenne générale	32,63	26,32
P value	p<0,001	p<0,001

N : Nombre de prélèvement.



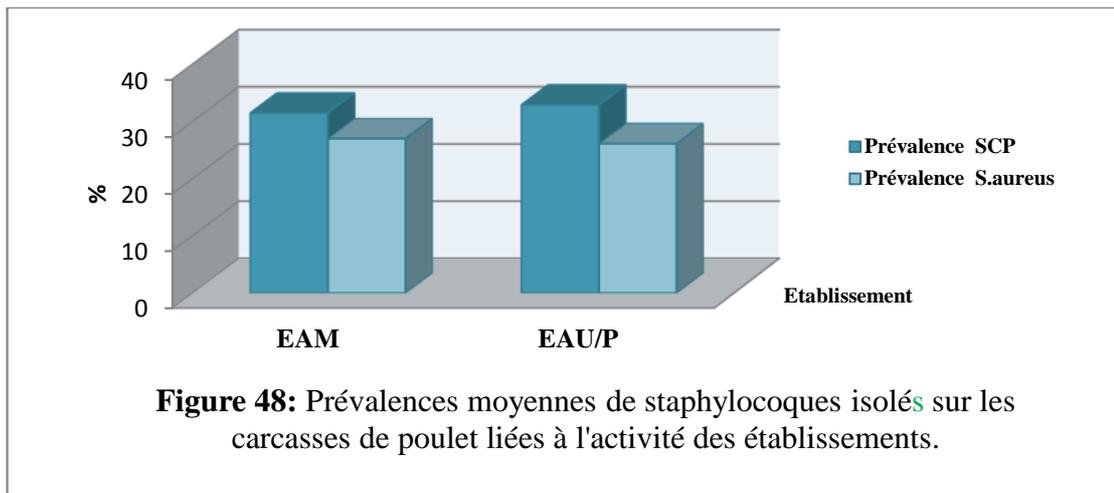
Les résultats des prévalences moyennes des SCP et de *S.aureus* obtenus par établissement d'abattage (tableau N°46 et figure 42) varient en fonction de l'établissement d'abattage. Ces prévalences vont de 12% à 48% pour les SCP et de 7% à 40% pour *S.aureus*. Les prévalences les plus élevées sont enregistrées dans l'établissement N° 9 (48%) pour les SCP et N°5 (40%) pour les *S.aureus*. L'analyse statistique a montré une différence hautement significative de la contamination des carcasses de poulet, entre les établissements d'abattage étudiés ($p < 0,001$).

c) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de poulet par *S.aureus* en fonction de l'activité des établissements.

Les résultats de l'étude de la prévalence de *S.aureus* isolé sur les 950 carcasses de poulet, classés en fonction de l'activité des établissements d'abattage sont résumés dans le tableau N° 47 et illustrés par la figure N° 48.

Tableau 47: Prévalence moyenne de contamination des carcasses de poulet en fonction de l'activité des établissements d'abattage.

Activité	Effectif total volaille	Prévalence SCP %	Prévalence <i>S.aureus</i> %	p
EAM	200	31,50(63)	27(54)	0,434
EAU/P	750	32,93(247)	26,13(196)	
Total	950	32,63(310)	26,34	



Le tableau N°47 montre que selon l'activité des établissements d'abattage, les taux moyens de contamination des carcasses de poulet par *S.aureus*, sont respectivement 27% et 26,13% sur les carcasses prélevées au niveau des établissements d'abattage mixte et unique poulet.

Cependant, les carcasses prélevées au niveau des établissements d'abattage unique poulet et mixte ont respectivement enregistré des taux de contamination par SCP de l'ordre de 32,93% et de 31,50%.

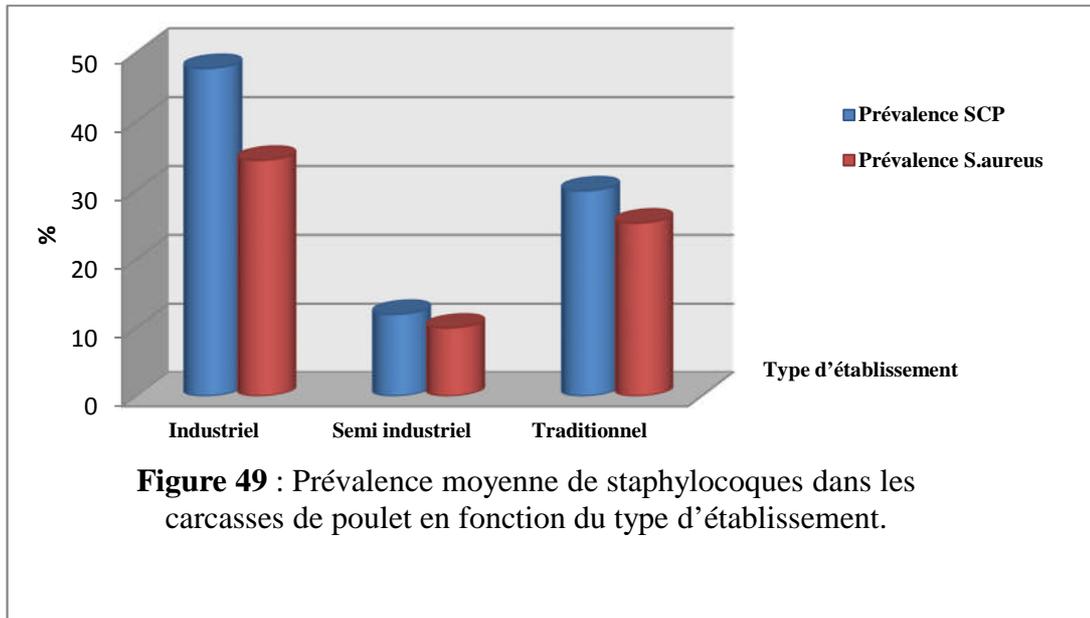
Le test statistique de khi-2 a révélé une différence non significative entre les deux établissements ($p=0,434$).

d) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de poulet par *S.aureus* en fonction de type d'établissement d'abattage.

Les résultats de l'étude de la prévalence de *S.aureus* isolé sur les 950 carcasses de poulet, obtenus par type d'établissement d'abattage sont résumés dans le tableau N°48 et illustrés par la figure N°49.

Tableau 48: Prévalence moyenne de contamination des carcasses de poulet par *S.aureus* en fonction du type d'établissement d'abattage.

Type d'établissement	Effectif total volaille	Prévalence SCP	Prévalence <i>S.aureus</i> %	p
Industriel	195	47,69 (93)	34,36 (67)	0.001
Semi industriel	50	12 (6)	10 (5)	
Traditionnel	705	29,92 (211)	25,25 (178)	
Total	950	32,63 (310)	26 ,32	



Le tableau N°48 montre que les taux moyens de contamination des carcasses de poulet par *S. aureus*, selon le type des établissements d'abattage, sont respectivement de l'ordre de 34,36%, de 25,25% et de 10% pour les carcasses prélevées au niveau des établissements d'abattage industriel, traditionnel et semi industriel.

Cependant, les taux de contamination par SCP enregistrés dans les différents établissements d'abattage sont 47,69% pour le type industriel, 29,92% pour le type traditionnel et 12 pour le type semi industriel.

Le test statistique de khi-2 a révélé une différence hautement significative entre les trois établissements ($p = 0.001$).

III.4. Facteurs de variation de la prévalence de *S.aureus* dans les carcasses de dinde.

a) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de dinde par *S.aureus* en fonction de la saison.

En fonction de la saison, les résultats de la recherche de *S.aureus* dans les carcasses de dinde sont résumés dans le tableau N°49 et représentés par la figure N°50.

Tableau 49: Prévalence des *S.aureus* dans les carcasses de dinde par saison.

Saison	N	Prévalence SCP%	Prévalence <i>S.aureus</i>	p
Automne	75	14,67 (11)	10,67 (8)	< 0.0001
Printemps	120	10,83 (13)	5,83 (7)	
Eté	135	37,78 (51)	35,56 (48)	
Total	330	22,73 (75)	19,09 (63)	

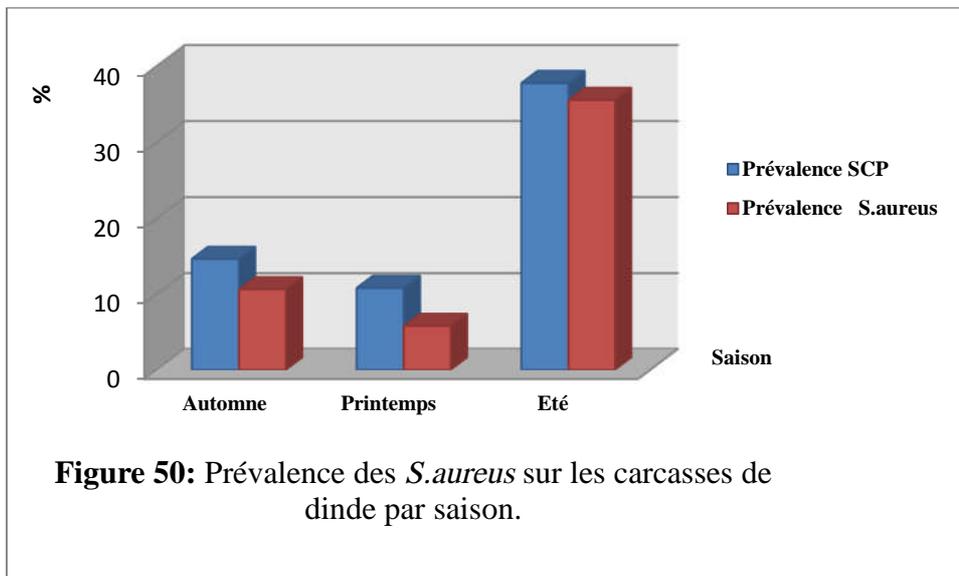


Figure 50: Prévalence des *S.aureus* sur les carcasses de dinde par saison.

L'étude de la prévalence de la contamination des carcasses de dinde par *S. aureus*, en fonction de la saison, a révélé une variabilité entre les saisons. Le taux le plus élevé est enregistré en période d'été (35,56%) suivi de l'automne (10,67%) et de printemps (5,83%). Concernant la prévalence de la contamination par les SCP, le taux le plus élevé est enregistré en période d'été (37,78%) suivi de l'automne (14,67%) et de printemps (10,83%).

Le test statistique de khi-2 n'a révélé aucune différence hautement significative entre les saisons ($p < 0.0001$).

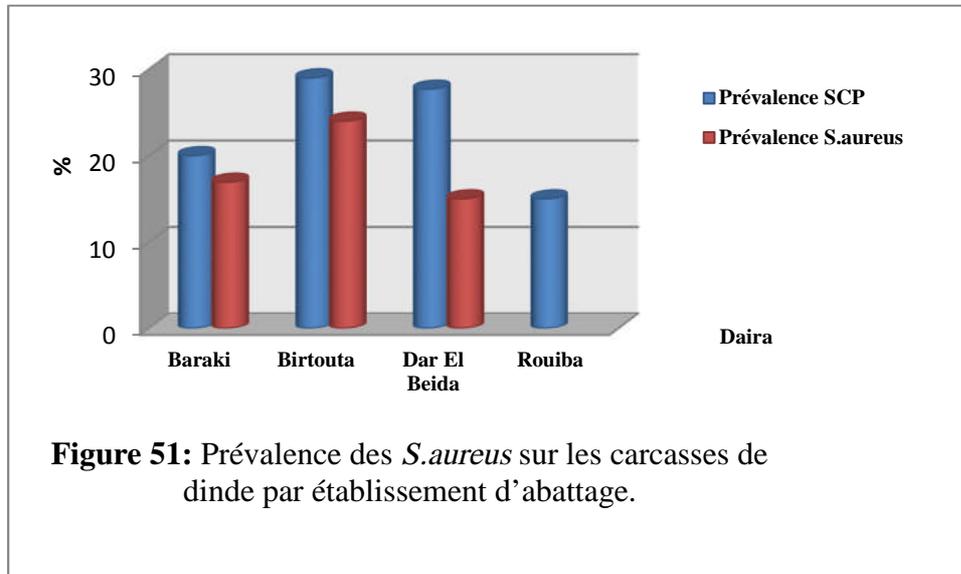
b) Variations de la prévalence de contamination des carcasses de dinde par *S.aureus* en fonction de l'établissement d'abattage.

Les résultats de la recherche de *S.aureus* sur les carcasses de dinde, répartis sur les 4 établissements d'abattage qui sont localisés au niveau de 4 Daïras différentes, sont récapitulés dans le tableau N°50 et représentés par la figure N°51.

Tableau 50: Prévalences moyennes de contamination des carcasses de dinde par *S.aureus* en fonction d'établissement d'abattage.

Daïra	Code EA	Prévalence SCP	Prévalence <i>S.aureus</i>
Baraki	1	20	16,92
Birtouta	2	29	24
Dar El Beida	3	27,69	15
Rouïba	4	15	13
P value		0.07	0.18

N : Nombre de prélèvement.



La recherche de *S.aureus* dans les 330 prélèvements de carcasse de dinde répartis sur les 4 établissements d'abattage situés dans les 4 Daïras, a révélé des variations des taux de contamination entre les différents établissements d'abattage. Le taux le plus élevé de la contamination par *S.aureus* (24 %), est enregistré dans l'établissement N°2 sis à Birtouta, suivi par les établissements N° 1, N° 3 et N° 4 situés respectivement à Baraki, Dar El Beida, et Rouïba.

L'analyse statistique de khi-2 a montré une différence significative de la contamination par les SCP ($p = 0.07$) et non significative par *S.aureus* ($p = 0.18$) entre les établissements étudiés.

IV. Facteurs de risque liés à la contamination des carcasses de volailles

a) Relation entre les prévalences de *S.aureus* sur les carcasses et les principaux facteurs de risques identifiés.

Les données du questionnaire et les résultats des analyses statistiques ont permis conjointement de déterminer plusieurs facteurs significativement associés à la prévalence de *S.aureus* sur les carcasses de poulet. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°51.

Tableau 51 : Facteurs significativement associés à la présence de *S. aureus* sur les carcasses du poulet.

Variabiles	Prévalence <i>S.aureus</i> %	OR	IC	P value
Poulet	26,3	1,514	[1,110 – 2,064]	0,009
Déchargement mécanique	74,4	2,313	[1,053 -5,082]	0,034
Eviscération Semi-mécanique	74,4	2,313	[1,053 -5,082]	0,034
Couteau éviscérateur manuel, main	74,4	2,313	[1,053 -5,082]	0,034
Douchage mécanique	74,4	2,313	[1,053 -5,082]	0,034
Douchage par jets d'eau et brosses	74,4	2,313	[1,053 -5,082]	0,034
Utilisation Chariot de ressuage	69,7	2,251	[1,239- 4,090]	0,007
Quai de débarquement	74,4	2,313	[1,053 - 5,082]	0,034
Absence aire de repos	74,4	2,313	[1,053 - 5,082]	0,034
Ventilation Artificielle	74,4	2,313	[1,053 -5,082]	0,034
Présence de chambre de ressuage	74,4	2,313	[1,053 -5,082]	0,034
Automne	73,2	2,602	[1,377- 4,918]	0,003

Pour chaque variable étudiée, les tests du χ^2 et OR ont été calculé pour faire ressortir et mettre en évidence les facteurs de risques les plus significatifs. Les données du questionnaire et les résultats des analyses statistiques ont permis simultanément d'associer 12 facteurs testés et associés à la présence de *Staphylococcus aureus* sur les carcasses du poulet fraîchement abattues. Il s'agit de:

- L'espèce poulet ;
- La saison d'abattage ;
- Le déchargement mécanique des sujets ;
- L'éviscération semi-mécanique ;
- L'usage de couteau éviscérateur manuel ;
- Douchage des carcasses par jets d'eau et brosses
- Le douchage mécanique des carcasses
- L'utilisation des chariots de ressuage ;
- Quai de débarquement ;
- Les chambres de ressuage ;
- La ventilation artificielle ;
- Absence d'aire de repos.

b) Relation entre les lots non conformes et principaux facteurs de risques identifiés.

Les données du questionnaire et les résultats des analyses statistiques ont simultanément permis de déterminer plusieurs facteurs significativement associés à l'obtention de lots de qualité non conforme. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N° 52.

Tableau N°52: Facteurs associés à la contamination des carcasses de poulet.

Variables	Lots NS %	OR	IC	P value
Automne	38,0	2,09	[1,10–3,98]	0,02
Citerne et réseau local	33,3	2,27	[1,08–4,80]	0,03
Chambre de ressuage	46,2	2,74	[1,32–5,70]	0,01
Ventilation artificielle	46,2	2,74	[1,32–5,70]	0,01
Absence d'aire de repos	46,2	2,74	[1,32–5,70]	0,01
Abattage industriel	46,2	2,74	[1,32–5,70]	0,01
Chambre de ressuage	46,2	2,74	[1,32–5,70]	0,01
Déchargement mécanique	46,2	2,74	[1,32–5,70]	0,001
Lieu d'attente sur camion	46,2	2,738	[1,316–5,696]	0,001
Éviscération semi mécanique	46,2	2,74	[1,316-5,696]	0,01
Couteau, éviscérateur manuel et mains	46,2	2,738	[1,316-5,696]	0,006
Douchage mécanique	46,2	2,738	[1,316-5,696]	0,006
Nettoyage et désinfection de l'aire de repos 1 fois/mois	31,1	1,943	[0,912-4,139]	0,083

Pour l'ensemble des variables étudiées, le taux moyen des lots de poulet de qualité non satisfaisante enregistré varie entre 31,1% et 46,2%. Les données du questionnaire et les résultats des analyses statistiques ont permis d'associer 19 facteurs testés et liés au pourcentage des lots de poulet de qualité non satisfaisante enregistrés pendant l'étude. Il s'agit de : la daïra de Dar El Beida, citerne et réseau local, ventilation artificielle, absence d'aire de repos, abattage industriel, chambre de ressuage, déchargement mécanique, lieu d'attente sur camion, durée d'attente ≤ 5 h, étourdissement, position de saignée verticale, absence de finition manuelle, éviscération semi mécanique, couteau, éviscérateur manuel et mains, douchage mécanique, T° de ressuage 1°C, durée de ressuage ≥ 120 , nettoyage et désinfection de l'aire de repos 1 fois/mois.

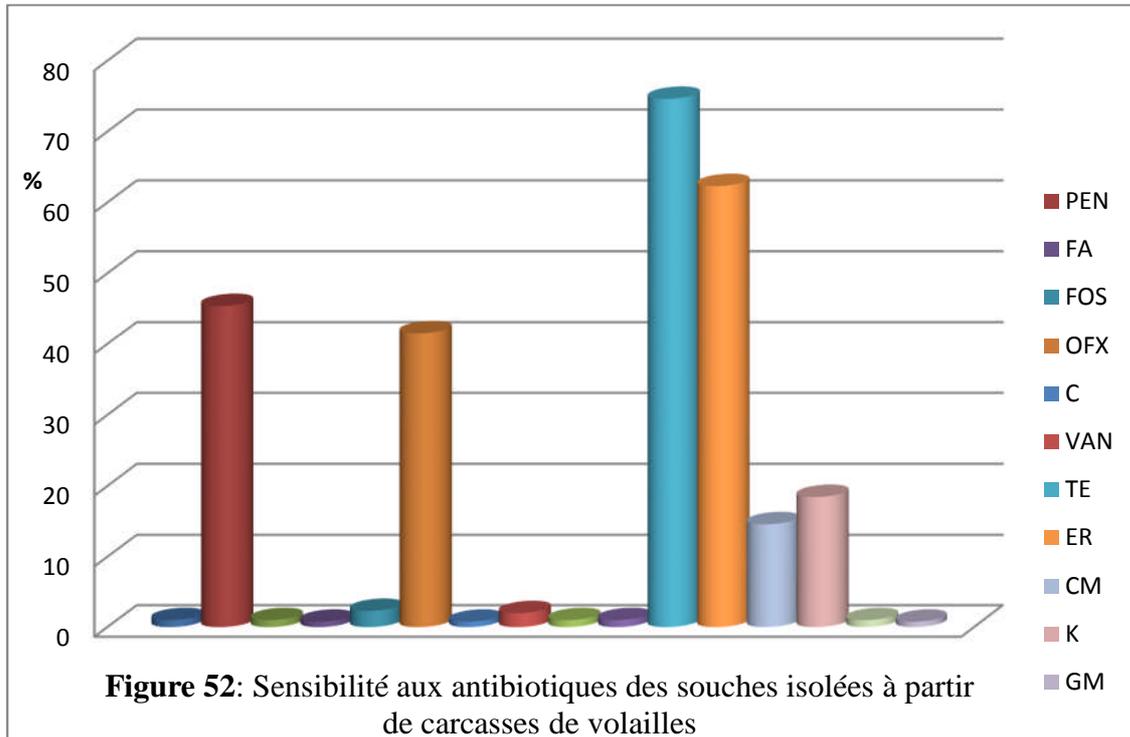
V. Etude de la sensibilité des souches de *S.aureus* aux antibiotiques.

V.1. Sensibilité des souches de *S.aureus* isolées à partir de carcasses de volailles.

La résistance des 130 souches a été testée vis-à-vis de 16 antibiotiques. Les proportions d'isolats résistants sont rapportées dans le tableau N°53 et illustrées par la figure N° 52.

Tableau 53: Représentation de la résistance globale des souches isolées à partir de carcasses de volailles.

ATB	Nombre de souches	Résistance (%)
Oxacilline (OX)	0	0,00
Penicilline(PEN)	59	45,38
Rifampicin (RA)	0	0,00
Acide fucidique (FA)	1	0,77
Fosfomycine (FOS)	3	2,31
Ofloxacin (OFX)	54	41,54
Chloramphénicol (C)	1	0,77
Vancomycine (VAN)	0	0
Teicoplanine (TEC)	0	0,00
Sulfaméthoxazole-triméthoprime(STX)	0	0,00
Tétracycline (TE)	97	74,62
Erythromycine (ER)	81	62,31
Clindamycine (CM)	19	14,62
Kanamycine (K)	24	18,46
Cefoxitine (FOX)	0	0,00
Gentamycine (GM)	1	0,77



L'étude de la résistance des souches à partir de carcasses de volailles a révélé que 74,62% des souches étaient résistantes à la tétracycline, 62,31% à l'érythromycine, 41,54% à l'ofloxacine et 45,38% à la pénicilline. Des résistances non négligeables sont observées vis-à-vis de la kanamycine (18,46%), clindamycine (14,62%), fosfomycine (2,31%), acide fusidique (0,77%), chloramphénicol (0,77%) et à la gentamycine (0,77%).

Aucune résistance n'a été observée pour la méticilline (oxacilline), la vancomycine, la céfoxitine, la teicoplanine, le sulfaméthoxazole + triméthoprim et la rifampicine pour l'ensemble des souches étudiées.

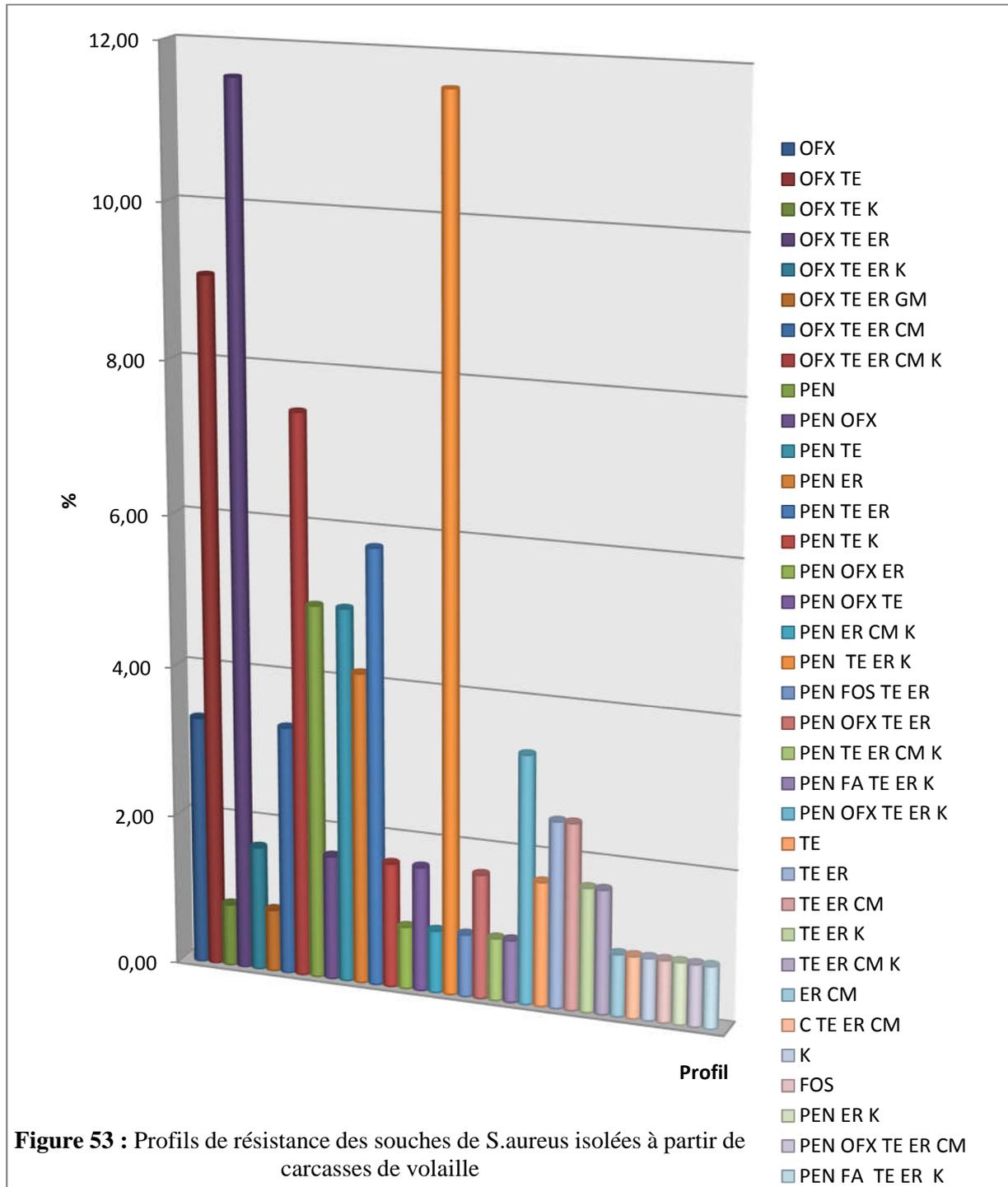
Il est à noter qu'aucune souche de SARM n'a été isolée à partir de carcasses de volailles étudiées.

V.2 Profils de résistances des souches isolées de carcasses de volailles.

Les résultats de l'étude des profils de résistance des isolats sont représentés dans le tableau N°54 et illustrés par la figure N°53.

Tableau 54 : Profils de résistance des souches isolées à partir de carcasses de volailles

Profil de résistance	Nombre de souches	Pourcentage %
OFX	4	3,31
OFX TE	11	9,09
OFX TE K	1	0,83
OFX TE ER	14	11,57
OFX TE ER K	2	1,65
OFX TE ER GM	1	0,83
OFX TE ER CM	4	3,31
OFX TE ER CM K	9	7,44
PEN	6	4,96
PEN OFX	2	1,65
PEN TE	6	4,96
PEN ER	5	4,13
PEN TE ER	7	5,79
PEN TE K	2	1,65
PEN OFX ER	1	0,83
PEN OFX TE	2	1,65
PEN ER CM K	1	0,83
PEN TE ER K	14	11,57
PEN FOS TE ER	1	0,83
PEN OFX TE ER	2	1,65
PEN TE ER CM K	1	0,83
PEN FA TE ER K	1	0,83
PEN OFX TE ER K	4	3,31
TE	2	1,65
TE ER	3	2,48
TE ER CM	3	2,48
TE ER K	2	1,65
TE ER CM K	2	1,65
ER CM	1	0,83
C TE ER CM	1	0,83
K	1	0,83
FOS	1	0,83
PEN ER K	1	0,83
PEN OFX TE ER CM	1	0,83
PEN FA TE ER K	1	0,83



Au total, 35 profils d'antibiotiques différents ont été observés pour les 130 souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline (SASM) testées.

Les profils de résistance OFX, TE, ER, et PEN, TE, ER, K sont les profils le plus dominants avec les mêmes pourcentages (11,57%) suivi du profil OFX, TE (9,09%), OFX TE, ER, CM, K (7,44%), PEN, TE, ER (5,79%), PEN (4,96%) et PEN, TE (4,96%), tandis que des pourcentages inférieurs à 5% ont été notés pour le reste des profils.

L'étude phénotypique de résistance des souches étudiées, a révélé que 27,50% des souches isolées à partir de carcasses de volailles sont résistantes à 3 antibiotiques, 30,83% à 4 antibiotiques et 6,67% sont résistantes à 5 antibiotiques.

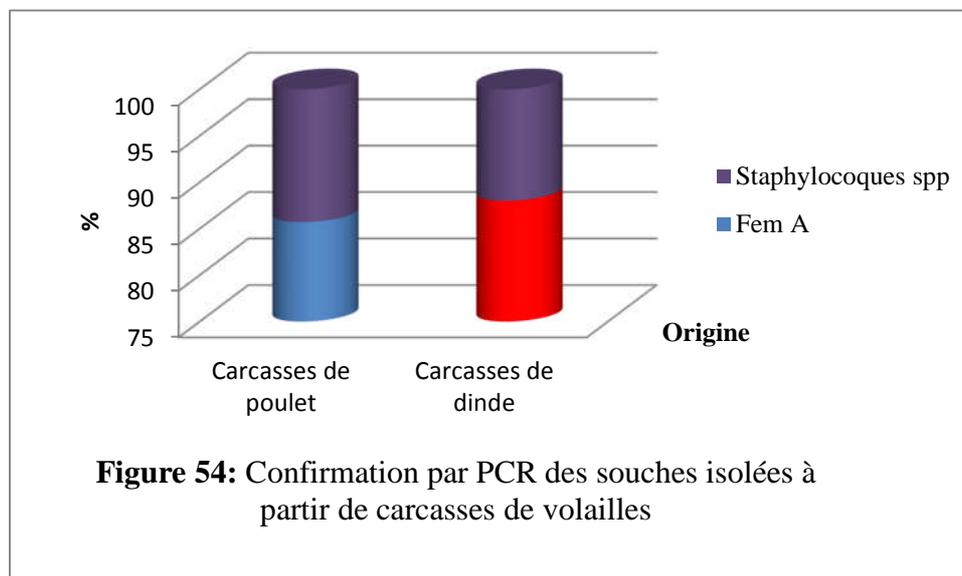
VI. Résultats de l'étude moléculaire.

VI.1. Confirmation des souches par PCR

Les résultats de la confirmation par PCR des 95 souches testées, isolées à partir de carcasses de volailles et confirmées par les tests biochimiques sont résumés dans le tableau N°55 et illustrés par les figures N°44 et 54.

Tableau 55: Confirmation des isolats par multiplex PCR

Origine des souches	Nombre de souches	Confirmation par PCR	
		<i>FemA</i> positive%	<i>Staphylocoques spp</i>
Carcasses de poulet	70	85,71 (60)	14.29 (10)
Carcasses de dinde	25	88,00 (22)	12 (3)
Total	95	86,32(82)	13.68 (13)



L'analyse moléculaire des 95 souches par PCR a révélé que 86,32% des isolats sont *FemA* positif, 85,71% d'entre elles ont été isolées à partir de carcasses de poulet et 88% à partir de carcasses de dinde.

L'analyse statistique n'a montré aucune différence significative entre les deux méthodes utilisées pour la confirmation des *S.aureus* ($p > 0,001$).

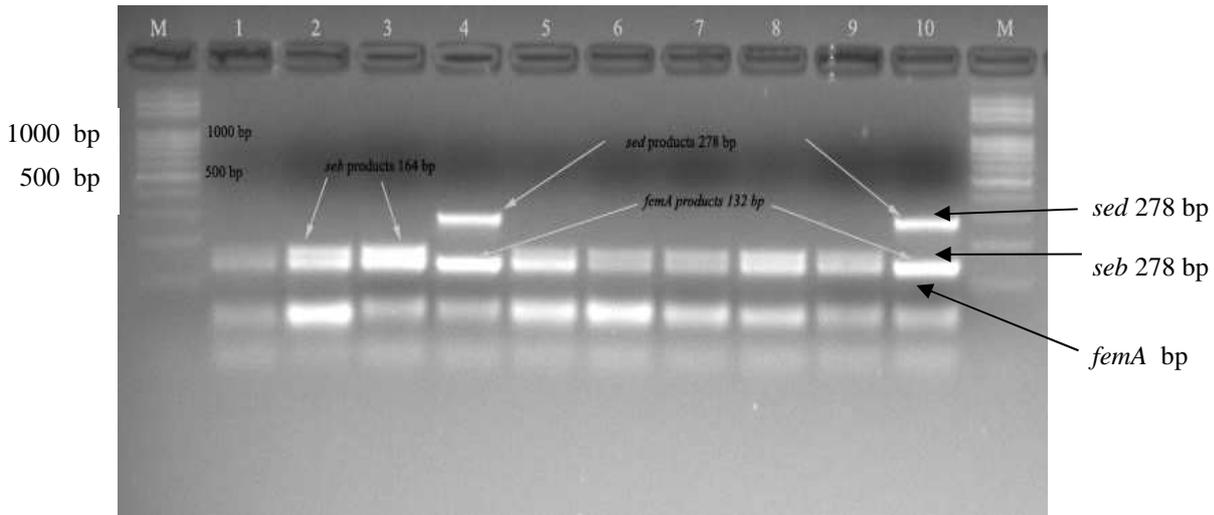


Figure 55: Résultat de la multiplex PCR.

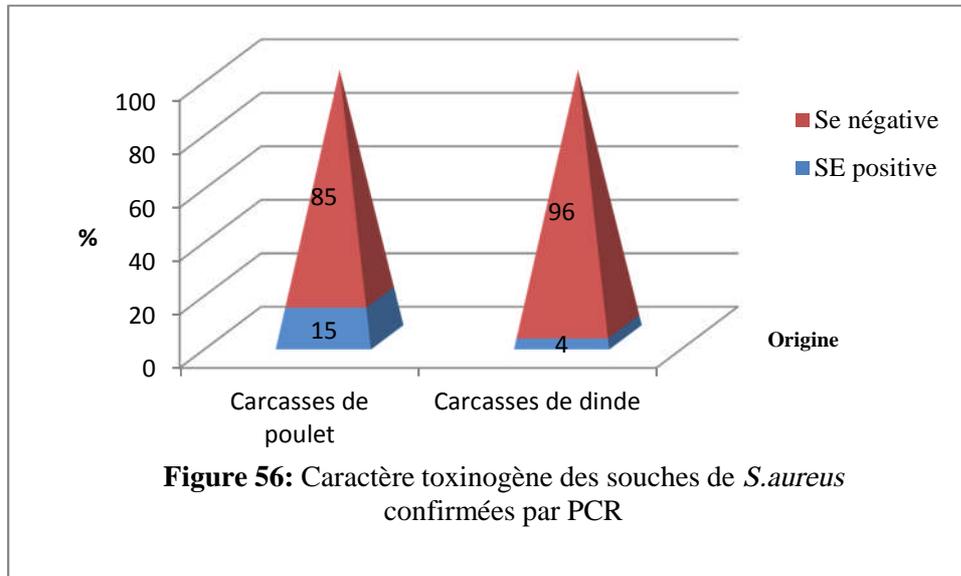
VI.2. Caractères toxigènes des souches de staphylocoques isolées.

VI.2.1. Toxinogénicité des souches de staphylocoques isolées.

Les résultats de l'étude de la capacité de produire des entérotoxines (SE) par les souches étudiées, sont rapportés dans le tableau N°56 et schématisés par les figures N° 55 et 56.

Tableau 56: Caractères toxigènes des souches de *S. aureus* confirmées par PCR

Origine	Souches	Souches entérotoxigènes (%)	Souches non entérotoxigènes (%)
Carcasses de poulet	60	15,0 (N=9)	85 (N=51)
Carcasses de dinde	22	4,0 (N=1)	96 (N=21)
Total	82	12,19 (10)	87.81



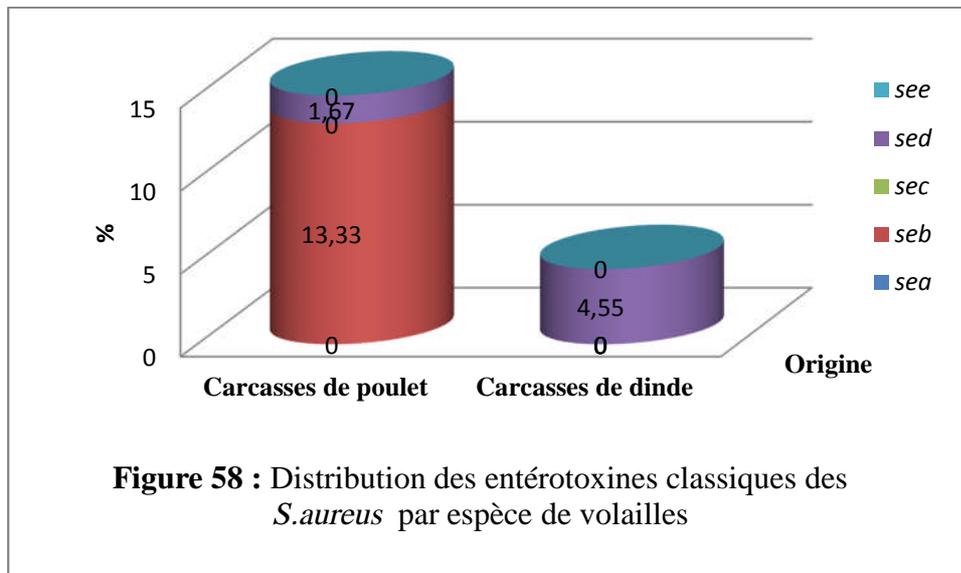
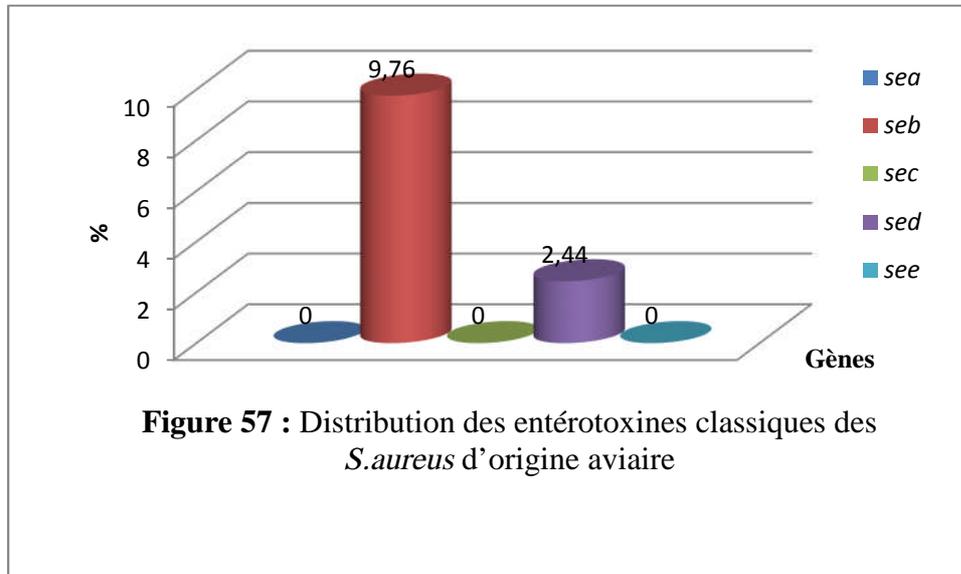
Sur les 95 souches de *S.aureus* isolées à partir de carcasses de volailles, 12,19 % se sont révélées être entérotoxigènes (tableau30). Chez le poulet et la dinde il a été enregistré des pourcentages de 15% et de 4% de souches entérotoxigènes respectivement. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative entre les deux espèces.

VI.2.2. Typage moléculaire des entérotoxines.

Les résultats du typage moléculaire des souches étudiées sont résumés dans le tableau N°57 et illustrés par les figures N°57 et 58.

Tableau 57: Distribution des entérotoxines classiques des *S.aureus* d'origine aviaire

Origine des isolats	Typage des entérotoxines (%)				
	<i>sea</i>	<i>seb</i>	<i>sec</i>	<i>sed</i>	<i>see</i>
Carcasses de poulet	0 (0)	8 (13.33)	0 (0)	1 (1.67)	0 (0)
Carcasses de dinde	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4.55)	0 (0)
Total	0 (0)	8 (9.76)	0 (0)	2 (2.44)	0 (0)



Le typage moléculaire des entérotoxines chez la volaille a révélé une prédominance de *seb* (9,76%) suivi de *sed* (2,44%), cependant une prédominance de *seb* (13,33%) suivie de *sed* est notée chez le poulet, en revanche chez la dinde seule *sed* (4,55%) a été détecté.

Discussion

1. Les dénombrements de SCP

Au cours de notre étude, il a été enregistré des niveaux élevés de contamination par les staphylocoques à coagulase positive (SCP) sur 30,08% des carcasses de volaille testées (5,57 log₁₀ UFC/g) par rapport aux normes Algériennes (JORADP N° 39, 2017), avec un taux relativement élevé d'échantillons de qualité non conforme (24,61%). Ces résultats ne sont pas satisfaisants et dénotent une mauvaise hygiène des carcasses de volailles échantillonnées.

Par ailleurs, il a été noté des variations des niveaux de contamination chez les deux espèces de volaille étudiées. Chez le poulet, les niveaux de contaminations varient en fonction de la saison et de l'établissement d'abattage, chez la dinde, ils sont liés uniquement à la saison.

L'étude de la variation de la contamination par les SCP en fonction de l'espèce animale, a révélé un taux élevé de la charge moyenne chez la dinde (6,27 log₁₀ UFC/g) par rapport au poulet (5,40 log₁₀ UFC/g), avec un taux significativement inférieur de lots de qualité non conforme (21,21%) à celui enregistré chez le poulet (25,79%). Les niveaux de contamination des carcasses de poulet enregistrés sont nettement supérieurs à ceux obtenus en Algérie par Alloui et *al.* en 2013 (1,08 log₁₀ UFC/g) et au Maroc par Khallaf et *al.*, en 2014 (2,67 log₁₀UFC/g). Chez la dinde, des taux nettement inférieurs à nos résultats ont été obtenus au Maroc par El-Allaoui et *al.* (2013) (6,67 log₁₀UFC/g). Cependant, aucune publication nationale n'a rapporté de résultats au cours de processus d'abattage.

Les divergences des résultats obtenus entre les deux espèces peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, parmi lesquels : le portage initial des sujets destinés à l'abattage, le degré de saleté des sujets destinés à l'abattage et la différence dans la conduite d'élevage entre les deux espèces. Les sites d'élevage constituent le principal lieu de contamination par les staphylocoques, et la durée d'élevage chez la dinde (4 à 6 mois) est plus longue que celle du poulet, où certaines défaillances au niveau des élevages peuvent être à l'origine des taux élevés de cette contamination. Chez la dinde la plumaison se fait manuellement à sec sans échaudage, ainsi, lors de la plumaison, les risques de contamination sont plus élevés. Ces contaminations pourraient avoir entre autres, comme origine la manipulation de plusieurs carcasses avec des mains souillées.

Une variation saisonnière des niveaux de contamination des carcasses par les SCP a été mise en évidence. L'effet saison est très marqué et va dans le sens d'un pic pendant les saisons humides chez les deux espèces étudiées. Des taux élevés ont été enregistrés au printemps chez les deux espèces de volaille (6,12 log₁₀ UFC/g), le poulet (5,82 log₁₀ UFC/g)

et la dinde ($6,68 \log_{10}$ UFC/g) avec des pourcentages relativement élevés de lots de qualité non conformes enregistrés au printemps pour la dinde (78,6%) et en automne chez la les volailles (33,7%) et le poulet (38%). Cette différence enregistrée entre les saisons, pourrait s'expliquer par l'augmentation du niveau de souillure des animaux pendant les saisons humides (printemps et automne). Il est évident qu'une litière très humide favorise le développement des micro-organismes et d'insectes. Ce qui peut expliquer le rôle joué par la litière dans la transmission des germes (Lecoanet, 1992).

La variation saisonnière de la contamination des carcasses a été confirmée par d'autres auteurs dans des études antérieures; où il a été rapporté des niveaux de contamination très élevés des carcasses ovines en période d'hiver (Le touze et *al.*, 1985). A signaler que d'autres auteurs ont obtenu leur plus forte contamination durant le mois d'août (Dennai et *al.*, 2000).

Une variation significative des niveaux de contamination des carcasses de volailles liée aux établissements d'abattage a été enregistrée. Cette variation est significative entre les carcasses de poulet provenant des 14 établissements d'abattage étudiés. Le niveau le plus élevé de la contamination est de $6,47 \log_{10}$ UFC/g. Il a été enregistré sur les carcasses prélevées dans l'établissement N° 13 sis au niveau de la Daïra de Bir-Mourad-Raïs. Les différences de contamination des carcasses de poulets notées entre les établissements d'abattage seraient probablement dues aux différents degrés du respect des bonnes pratiques d'hygiène au cours des opérations d'abattage. Selon l'enquête que nous avons mené, il a été constaté que l'établissement N°13 présente le taux de contamination le plus élevé. Cet établissement travaille sans arrêts tous les jours de la semaine y compris les week-ends, et l'abattage dans cet établissement se fait aléatoirement à n'importe quel moment de la journée.

Contrairement aux résultats obtenus chez la dinde où la structure d'abattage (site d'abattage) n'a pas d'effet sur le niveau de contamination des carcasses. Ceci pourrait être expliqué, selon le questionnaire, par le fait que ces établissements travaillent dans les mêmes conditions d'hygiène.

Les résultats obtenus par type d'établissement ont démontré que les carcasses de poulet les plus contaminées provenaient des structures à petite capacité d'abattage dont l'abattage est de type traditionnel ($5,84 \log_{10}$ UFC/g) et de celles qui présentaient une activité d'abattage mixte ($6,03 \log_{10}$ UFC/g). Ces constats ont été également rapportés par d'autres auteurs qui ont noté au niveau des abattoirs de petite capacité des niveaux de contamination des carcasses nettement supérieurs aux résultats observés dans les abattoirs de grande capacité

(Hanson, 2001 ; Fournaud, 1978 ; Hudson, 1996 ; Kathryn et al., 2001). Plus l'abattage est traditionnel, plus les contaminations sont importantes ; de même les établissements où sont abattues des espèces différentes apportent plus de contaminations croisées entre les carcasses de ces espèces.

Des variations de la qualité hygiénique des lots de volaille abattus ont été enregistrées selon le type d'établissement d'abattage. Un pic de 46,2% de lots de qualité non conforme est enregistré simultanément au niveau de l'établissement à abattage industriel sis au niveau de la daïra de Dar El Beïda, ainsi qu'au niveau des établissements traditionnels dont l'activité est mixte (46,2%). Les différences peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment, la capacité d'abattage de l'établissement, la cadence d'abattage, le processus d'abattage, les niveaux de contamination des élevages et le respect des bonnes pratiques d'abattage.

2. Prévalence de *S.aureus*

La prévalence de *S.aureus* obtenus au cours de notre étude (24,45%) confirme la contamination des carcasses des volailles par les *S. aureus*.

Chez le poulet, la prévalence globale enregistrée (26,32 %) est beaucoup plus faible comparativement à d'autres études réalisées précédemment, telles que celles de Alloui et al. en 2013 (46,66%) en Algérie, Nader et al. en 2016 (41,8%) en Égypte et Citak et al. en 2011 (47,2%) en Turquie. Cette prévalence est par contre plus élevée que celles enregistrées par Zargar et al. en 2014 (15,7%), Akbar et al., en 2013 (18,18%) et Khallaf et al. en 2013 (16,66 %).

Chez la dinde, la prévalence globale enregistrée (19,09%) est nettement supérieure à celles rapportées par Zargar et al. en 2014 (16,6%) et Boișteanu et al. en 2013 (16%). Kiliç et al. en 2009 et Mead et al. en 1989, ont enregistré respectivement des prévalences de 9,61%, 54% et 48% de *Staphylococcus* à coagulase positive à partir de viande et carcasse.

Aucune donnée nationale publiée n'a été retrouvée sur la contamination de carcasses de dindes par les SCP au cours du processus d'abattage.

Les variations des prévalences observées entre nos résultats et les différentes études réalisées dans d'autres pays peuvent être attribuées à plusieurs facteurs parmi lesquels : la taille des échantillons testés, le mode d'échantillonnage (poulet entier ou parties de carcasses),

les saisons au cours desquelles ont été réalisés les échantillonnages, les méthodes d'isolement utilisées et les conditions d'hygiène des établissements d'abattage.

L'étude des facteurs de variation de la prévalence de *S.aureus* dans les carcasses de volaille a révélé une variation significative en fonction de la saison. Cependant, aucune variation n'a été enregistrée, en relation avec l'activité de l'établissement ou avec le type d'abattage.

En ce qui concerne la mise en évidence d'une variation saisonnière, les prévalences obtenues ont été significativement différentes en fonction de la saison. Les taux le plus élevés de la contamination ont été enregistré en en période d'automne chez la volaille (29,8%) et chez le poulet de chair (33,8%) et en été chez la dinde (35,56%). Cependant, les taux les plus faibles ont été enregistrés en été (18,4%) chez les volailles et au printemps chez le poulet (20%) et chez la dinde (5,83%). L'élévation de température en période d'été ainsi que le taux d'humidité en période d'automne favorisent la multiplication des bactéries. Ce qui peut expliquer les variations saisonnières enregistrées.

Une variation de la prévalence a été également notée par établissement d'abattage chez le poulet. Nous avons enregistré des taux inférieurs ou égaux à 22% dans 5 établissements d'abattage et d'autres supérieurs à 30% dans 9 établissements d'abattage, Contrairement aux résultats notés chez la dinde, nous n'avons enregistré aucune variation significative par établissement ($p = 0,18$). Ceci peut être expliqué, selon le questionnaire, par le fait que ces établissements travaillent dans les mêmes conditions d'hygiène.

Cependant la différence observée entre les établissements d'abattage du poulet pourrait être attribuée aux différents degrés de maîtrise des bonnes pratiques d'hygiène appliquées.

Toutefois, aucune variation de la prévalence n'a été enregistrée en fonction de l'activité des établissements (mixte, unique poulet et unique dinde) et un taux inférieur à 27% a été enregistré dans les trois type d'établissement. Une variation significative a été enregistrée par type d'abattage où le taux le plus élevé a été enregistré dans les établissements à abattage industriel (34,36%) et le plus bas a été enregistré au niveau des établissements semi industriel (10%). Les fortes prévalences enregistrées chez les deux espèces indiquent souvent une insuffisance dans l'application des bonnes pratiques d'hygiène (Lindblad *et al.*, 2006) liée aux multiples manipulations des carcasses durant les opérations d'abattage (contacts multiples avec le matériel utilisé : tables, sacs, couteaux, torchons, bain d'échaudage et plumeuses) (Mead *et al.*, 1993 ; Kotula *et al.*, 1995). Le personnel représente l'une des principales sources de contamination et de dissémination de ce germe par l'insuffisance de l'hygiène

vestimentaire ou par le portage (plaies, angines, sinusites, rhinopharyngites. Elle peut être aussi reliée aux statuts sanitaires des volailles destinées à l'abattage (portage par la peau et les plumes ou diverses pathologies: ostéomyélite, arthrite, synovite).

3. Etude des facteurs de risque

L'approche épidémiologique employée pour réaliser cette étude a permis d'identifier 15 facteurs de risque associés à la contamination des carcasses de poulets de chair par *S. aureus*.

3.1. Facteurs liés aux animaux

Le risque de contamination des carcasses de volaille est augmenté 1,5 fois plus chez le poulet de chair par rapport à la dinde. Sachant que les volailles constituent elle mêmes des sources importantes de germes résidents au niveau du tube digestif, de la peau, des cavités nasales, des plumes et des lésions cutanées. La viande de volailles peut être contaminée au cours de l'abattage et du traitement par les contenus intestinaux des animaux (OMS, 1976). De la même manière, la saison influe directement sur la prévalence de *S. aureus* et sur la qualité hygiénique des carcasses du poulet. Une plus forte prévalence est enregistrée durant les mois d'automne (73,2%) avec un taux élevé de lots de qualité non satisfaisante (38,0%) d'où le risque de contamination par les SCP est multiplié en 2 fois. La saison a été décrite comme facteur de risque par des auteurs, qui rapportent que l'été et l'automne favorisent la présence des bactéries en élevage (Refrégier-Petton et al., 2001).

Le matériel entrant dans les opérations d'abattage a été déterminé comme facteur de risque, particulièrement le quai de débarquement, les chariots de ressuage et les camionnettes où le risque de contamination est 2 fois plus élevé. Ces matériels et équipements peuvent être à l'origine des contaminations croisées lorsqu'ils sont souillés.

3.2. Facteurs de risque liés aux procédés d'abattage.

L'abattage industriel a été identifié comme un facteur de risque non négligeable sur la qualité hygiénique des carcasses où le risque d'obtention des lots de qualité non satisfaisante (46,2%) est multiplié deux fois.

L'eau de citerne et le réseau local utilisés au cours des procédés d'abattage, constituent également un double facteur de risque d'obtention des lots de qualité non satisfaisante.

L'abattage industriel, l'éviscération semi-mécanique ainsi que l'usage de couteau éviscérateur manuel ; constituent un point à risque non négligeable (2 fois plus) sur la contamination des carcasses de poulet par *S. aureus* et l'obtention des carcasses de qualité

non satisfaisante (46,2%). Lorsque la cavité abdominale est ouverte avec peu de précaution de façon manuelle ou semi-automatique, il y a risque de rupture des intestins notamment si le réglage est déficient (Salvat et *al.*, 1995). L'arrachage de la grappe intestinale de façon manuelle est une possibilité de contamination de la carcasse par les mains souillées de matières fécales du manipulateur (ITAVI, 2010). La qualité de l'éviscération est fondamentale pour la maîtrise des contaminations par des germes d'origine digestive et doit faire l'objet d'une étroite surveillance par l'exploitant (DGAL/SDSSA, 2009).

Le risque de contamination par *S.aureus* et l'obtention de lots de qualité non satisfaisante est 2 fois plus élevé lors de douchage mécanique des carcasses par jets d'eau et brossage. Le rinçage des machines nécessaire à leur bon fonctionnement peut générer une brumisation de particules contaminants (Fédération des industries avicoles, 2011). Ce phénomène est particulièrement important lorsque les machines sont lavées en continu, sous haute pression et que ces dernières ne sont pas carénées. Le lavage peut secondairement être une source d'apport de bactéries d'origine intestinale lorsque les buses de lavage sont souillées par un biofilm (Fédération des industries avicoles, 2011).

Le déchargement mécanique des sujets et l'absence d'aire de repos (lieu d'attente sur camion) constituent un double risque de contamination des carcasses par *S.aureus* et un double risque de l'obtention des lots de qualité non satisfaisante. Les poulets approvisionnés à partir des élevages doivent être réceptionnés dans un local où ils vont être soumis à un repos et une diète hydrique (environ 12 heures) afin d'éviter la bactériémie et la rupture des intestins au cours de l'éviscération.

L'utilisation des camionnettes pour le transport de volailles constitue une source de contamination directe par l'intermédiaire de souillures et de déjections, car elles sont souvent non nettoyées et non désinfectées. Elles constituent également une source de contamination croisée entre les animaux.

Les chambres de ressuage et la ventilation artificielle constituent aussi un double risque de contamination des carcasses par *S. aureus* (74,4%) et l'obtention des lots de qualité non satisfaisante (46,2%). L'air peut contenir des spores de moisissures, des bactéries de germes divers, qui se dissimulent dans le milieu et constitue ainsi un élément de la contamination et la formation de biofilms sur les surfaces froides et humides. Les souillures par la matière organique favorisent la survie durable et la multiplication des germes. Il est à noter que la qualification du ressuage, cinétique temps / température doit tenir compte de plusieurs paramètres dont les poids des volailles et le type de ressuage (dynamique sur chaîne

ou chariots), facteur qui n'est pas respectée. La maîtrise du ressuage permet de limiter la multiplication des dangers biologiques (Fédération des industries avicoles, 2011).

4. Sensibilité aux antibiotiques

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des isolats de *S. aureus* a montré une résistance élevée envers la tétracycline (74,62%), l'érythromycine (62,31%), la pénicilline (45,38%) et l'ofloxacin (41,54%). Cette résistance serait liée à une mauvaise utilisation de ces médicaments à des fins méthyphylactiques ou thérapeutiques au cours de la période d'élevage de la volaille en Algérie.

Une forte prévalence de la résistance à la tétracycline a également été signalée dans des isolats de viande de volaille aux États-Unis (72%) (Abdallahman, 2015), en Allemagne (Fessler et al., 2011), en Pologne (Krupa et al., 2013) en Corée (Lim et al., 2010) et au Nigeria (Gousia et al., 2011) où la prévalence était de 100%.

En ce qui concerne la résistance à l'érythromycine, notre résultat est plus élevé que ceux observés aux États-Unis (Abdallahman, 2015) et en Italie (Pesavento et al., 2007) avec des valeurs respectives de 44,6% et 8,33%.

La résistance à la pénicilline enregistrée dans notre étude (45,38%) est supérieure à celle constatée en Italie (25,00%) (Pesavento et al., 2007) mais elle reste inférieure à celle observée aux États-Unis (70,8%) (Abdallahman, 2015).

Le faible taux de résistance enregistré dans cette étude au chloramphénicol (0,77%) est également observé par Abdallahman (2015) (5,4%). Cependant, au Nigeria et en Thaïlande, les taux de résistance notés sont supérieurs à 21% (Otalou et al., 2011, Akbar et al., 2013).

Parmi les 130 isolats étudiés, aucune résistance à l'oxacilline, rifampicine, vancomycine, teicoplanine et céfoxitine n'a été détectée (sensibilité 100 %). En revanche des auteurs ont rapporté des fortes résistances à l'oxacilline avec des taux de 66,66% (Pesavento et al., 2007) et 47,6% (Abdallahman, 2015).

Les forts taux de résistances observées vis-à-vis de la tétracycline, de l'érythromycine, de l'ofloxacin et de la pénicilline, s'expliqueraient par l'utilisation extensive, abusive et incontrôlée de ces antibiotiques en élevage de volailles.

Pour nos isolats, les résultats de l'étude de la sensibilité des isolats de *S.aureus* ont révélé des résistances multiples à trois antibiotiques ou plus. Dans la présente étude, le pourcentage d'isolats de résistance multiple est de 65% (N=78). Ce pourcentage confirme que la résistance aux antibiotiques a émergé dans l'élevage de volailles en Algérie.

Les profils de résistance les plus observés, étaient OFX, TE, ER, et TE, ER, K (11,57%), suivi du profil OFX, TE (9,09%), OFX TE, ER, CM, K (7,44%), PEN, TE, ER (5,79%), PEN (4,96%) et PEN, TE (4,96%).

Le déclenchement des pathologies à risque élevé chez la volaille pourrait être à l'origine de l'émergence de ces profils de résistance, où l'utilisation des antibiotiques est plus fréquente (Christopher et *al.*, 2013). À côté de cela, les antibiotiques lorsqu'ils sont utilisés à titre préventif ou comme promoteurs de croissance, ou bien administrés de façon inappropriée par des personnes non qualifiées pour traiter les animaux malades, peuvent être à l'origine de ces profils de résistance chez les volailles (Suleiman et *al.*, 2013) D'ailleurs, ces antibiotiques sont disponibles à des prix accessibles dans notre pays, et souvent même, ils sont livrés sans prescription médicale.

L'utilisation de la PCR et de l'identification biochimique pour la confirmation des souches de *S. aureus* (95) ont donné simultanément les mêmes résultats (86,32%). Ce qui confirme la concordance des deux techniques, déjà rapportée par les études de Bezzar (2014) et de Benhamed (2014).

5. Caractère toxigène des souches de *S. aureus* isolées

Cette étude confirme que les isolats d'origine aviaire peuvent être entérotoxigènes (12,19%). Ce résultat corrobore les travaux de différents auteurs qui révèlent que le pourcentage de souches de *S. aureus* productrices d'entérotoxines A à E, d'origine bovine et aviaire peut varier de 0 à 15 % (Bergdoll, 1991 ; Genigeorgis, 1989 ; Rosec et *al.*, 1997).

D'autres auteurs (Smyth et *al.*, 2005 ; Normanno et *al.*, 2007 ; Hazariwala et *al.*, 2002 et Jorgensen et *al.*, 2005) ont montré que les gènes codant pour les entérotoxines (SEs) classiques des *S. aureus* isolées de volailles, étaient absents dans moins de 3% des isolats testés.

Chez le poulet, certains auteurs notent des pourcentages relativement plus élevés que ceux enregistrés lors de notre étude. Ainsi, Nader et al. (2016) montrent que 7 souches sur 12 (58,3%) de *S. aureus* isolées de viande de poulet sont entérotoxigènes. En 2004, Kitai et *al.* révèlent que 21,7% des souches provenant de carcasses de poulet sont entérotoxigènes ; alors qu'en 2014, Nemati observe que 71 souches de *S. aureus* sur 100 (71%) isolées du nez et du cloaque de poulet sont entérotoxigènes.

Dans les isolats issus de carcasse de dinde, Koluman et *al.* ont montré en 2013 que la production des entérotoxines dans la viande de dinde est de 36%.

6. Typage des entérotoxines

Dans notre étude les souches isolées à partir de carcasses de poulet (15%) et de dinde (4,54%) ont montré un même pouvoir toxigène, mais avec une variabilité dans la fréquence de production des types d'entérotoxines. Chez le poulet, il a été enregistré une prédominance des gènes codant pour *seb* (13,33%) par rapport au *sed* (1,67%), cette observation est rapportée par Kitai et al. (2004). Chez la dinde, seul le gène codant pour l'entérotoxine de type D (100%) a été détecté. L'origine de cette variabilité entre les deux n'est pas encore élucidée.

Nader et al. (2016) ont montré la présence des gènes codant pour *sea*, *seb* et *sed*, isolés à partir de viande de poulet prélevée dans le commerce de détail. Leurs pourcentages étaient respectivement de 33,3%, 8,3% et 16,7%.

Madahi et al. (2014) ont montré la présence des gènes codants pour les entérotoxines des souches de *S. aureus*, isolées à partir de nuggets de poulet. Les valeurs étaient respectivement de 33,33%, 4,16%, 12,50%, 8,33%, 12,50%, 12,50% pour *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *sea+sec* et *sea+sed* ; alors qu'aucune entérotoxine de type E n'a été détectée. Nemati (2014), a montré que 33,3% des souches isolées du nez et du cloaque de poulet vivant étaient positives pour *sea* et 5% des souches produisent des entérotoxines mixtes de *sea* + *egc*, tandis que les gènes codant pour *seb*, *sec*, *sed* et *see* étaient absents.

Chez la dinde, Bystron et al. (2005), ont constaté que sur un total de 4 souches de Staphylocoques à coagulase positive, isolées à partir de 11 échantillons de viande hachée, 3 d'entre elles avaient des gènes d'entérotoxine de type B et une avait des gènes d'entérotoxine de type C.

En 1983, Adams et Mead ont isolé des Staphylocoques entérotoxigènes uniquement dans 2 des 3 abattoirs de dinde étudiés. Ils ont signalé que dans l'abattoir A, 60% des 55 isolats ont produit l'entérotoxine C, alors que dans l'abattoir B, 4% de 41 isolats ont produit de l'entérotoxine D et 2% ont produit l'entérotoxine F. Aucun pouvoir entérotoxigène n'a été détecté à partir des 50 isolats issus du troisième abattoir.

L'entérotoxine de type A est habituellement typique aux isolats d'origine humaine (Orden et al., 1992) et l'entérotoxine de type C est fréquemment produite par les isolats d'origine bovine (Stephen et al., 2001; Loncarevic et al., 2004; Da Silva et al., 2005 ; Jorgensen et al., 2005; Katsuda et al., 2005). Ce qui peut expliquer leur absence dans les isolats d'origine aviaire étudiés.

Les variabilités constatées dans la fréquence de la production d'entérotoxines par les souches de *S. aureus* peuvent être liées aux origines des isolats étudiées (alimentaire ou autre) ainsi qu'à leurs origines géographiques (Genigeorgis, 1989 ; Bergdoll, 1991 ; Rosec et *al.*, 1997 ; Larsen et *al.*, 2000).

Les entérotoxines de type A, B et D sont incriminées dans 95% des foyers de toxi-infections alimentaires déclarés (Letertre et *al.*, 2003).

Au cours de la période 2001-2003 à Taiwan, les entérotoxines A, B, C, et D ont été détectées chez des patients atteints de toxi-infections alimentaires à Staphylocoques. Leurs pourcentages étaient respectivement de 29,2% , 19,7% , 6,8% et 2,0% (Chiang et *al.*, 2008).

Plus de 50% des toxi-infections alimentaires à staphylocoques sont causées par l'entérotoxine de type A. On note aussi que Sea et Seb sont les deux agents les plus importants responsables des gastro-entérites et elles sont également les plus incriminées dans les toxi-infections alimentaires (> 60%) aux Etats-Unis et en Angleterre (Kluytmans et *al.*, 2005).

CONCLUSION

ET

RECOMMENDATION

Conclusion

Pour sa composition nutritionnelle intéressante, la viande de volaille occupe une place de choix dans notre alimentation; sa richesse en eau et en protéines de haute valeur biologique fait d'elle un aliment indispensable pour une nourriture équilibrée (Kotula et al., 1995). Cependant en raison même de ces qualités nutritionnelles, cette viande constitue un milieu très favorable au développement des agents microbiens (principalement les germes protéolytiques). Il s'agit donc d'un aliment hautement périssable et sa consommation par la majorité implique une surveillance étroite sur le plan organoleptique physicochimique et microbiologique.

Les résultats de la présente étude ont montré que 24,61% des lots de carcasses destinées à la consommation, sont de qualité non conforme par rapport aux normes Algériennes (JORADP N° 39, 2017),. En effet, 30,08% des carcasses, présentent des niveaux élevés de contamination par les staphylocoques à coagulase positive (5,57 log₁₀ UFC/g). Des défaillances hygiéniques ont été décelées comme des facteurs liés à la contamination de ces carcasses, il s'agit essentiellement des conditions de travail difficile tel que le manque d'hygiène des locaux, les défauts de matériel et des équipements et la non qualification du personnel.

La saison d'abattage et les multiples manipulations, lors des opérations de préparation de cette viande, ont été révélées comme facteurs de risque significativement liés à la prévalence et aux taux élevés de la contamination. Le déchargement mécanique des sujets, l'éviscération semi-mécanique, l'usage de couteau éviscérateur manuel, le douchage des carcasses par jets d'eau et brosses, l'utilisation des chariots de ressuage, le quai de débarquement, les chambres de ressuage, la ventilation artificielle et l'absence d'aire de repos, sont autant de facteurs ayant contribué à la contamination.

L'évaluation de la résistance aux antibiotiques d'intérêt thérapeutique vétérinaire et humain des souches de staphylocoque isolées, a montré l'existence d'un niveau alarmant de résistance contre les agents antimicrobiens couramment utilisés dans les élevages de volailles de l'Algérie. Globalement, les *S.aureus* isolés à partir de carcasses de volaille ont dévoilé un niveau élevé de résistance, particulièrement à la tétracycline (74,62%), l'érythromycine (62,31%) et à la pénicilline, (45,38%), avec un taux de multirésistance à trois antibiotiques en parallèle ou plus (évaluation à 65% (N=78)). Les profils de résistance les plus observés sont : OFX, TE, ER, et TE, ER, K (11,57%), suivis du profil OFX, TE (9,09%), OFX TE, ER, CM, K (7,44%), PEN, TE, ER (5,79%), PEN (4,96%) et PEN, TE (4,96%).

Cette situation semble être le reflet d'une utilisation irrationnelle d'antibiotiques et l'absence d'une politique nationale bien définie. Cet usage exerce une pression de sélection qui induit l'apparition de résistances multiples additionnelles. Pour préserver l'efficacité de ces antibiotiques, la vigilance de tous les soignants doit être renforcée vis-à-vis du *S.aureus* multirésistants aux antibiotiques en général.

En outre, L'étude a révélé que les souches de *S. aureus* provenant de carcasses de volailles peuvent être entérotoxinogènes avec la prédominance de gène codant pour les entérotoxines *seb* chez le poulet et *sed* chez la dinde. Si la viande est conservée dans des conditions favorables à la multiplication du germe et à la toxinogénèse, des entérotoxines peuvent être produites en quantité suffisante pour déclencher une toxi-infection alimentaire. Ces dangers potentiels doivent être considérés en termes de risque réel pour la santé publique.

Perspectives

Cette étude a montré que les viandes provenant du poulet de chair ou de la dinde chair, commercialisées dans la wilaya d'Alger, n'offre pas une garantie suffisante de salubrité, notamment avec une contamination aussi importante par les *S.aureus*. Des efforts restent à faire sur toute la chaîne de la production à la vente en passant par l'abattage pour offrir un produit final de qualité.

Il serait intéressant de regrouper tous les acteurs de cette filière au sein d'une organisation interprofessionnelle, destinée à l'amélioration technique de tous les maillons de la chaîne, en effet la sensibilisation des ouvriers chargés de l'abattage des volailles, à travers des formations de vulgarisation, pourrait permettre à ces derniers d'avoir une meilleure maîtrise des techniques modernes d'abattage, par la mise en application des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication. En effet, l'application du système HACCP, pour protéger la santé du consommateur et améliorer la sécurité sanitaire, s'avère plus que nécessaire.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

- Abdalrahman L S., Stanley A., Wells H., Fakhr M K., 2015. Isolation, Virulence, and Antimicrobial Resistance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) Strains from Oklahoma Retail Poultry Meats. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 12, 6148-6161.
- Achi O., Madubuik C., 2007. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from retail ready-to-eat food in Nigeria. *Res J Microbiol* 2: 516-523.
- Adams BW., Mead GC., 1983. Incidence and properties of *Staphylococcus aureus* associated with turkeys during processing and further-processing operations. *J Hyg (Lond)* 91: 479-490.
- AKANE A. 1996. Hydrogen peroxide decomposes the heme compound III forensic specimens and improves the efficiency of PCR. *BioTechniques* 21 , 392-394.
- Akbar A., Anal A K., 2013. Prevalence and antibiogram study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3, 163-168.
- Akhtar M., Park C E. et Rayman K., 1996. Effect of urea treatment on recovery of staphylococcal enterotoxin A from heat-processed foods. *Appl Environ Microbiol* 62 (9), 3274-6.
- Alderson M., D Speers K., Emslie. and S Nade., 1986. Acute haematogenous osteomyelitis and septic arthritis-A single disease. An hypothesis based upon the presence of transphy-seal blood vessels. *J. Bone Joint Surg. Br.* 68 : 268 -274.
- Alloui N., Guergueb N., Ayachi A., 2013. Relationship between the slaughtering hygienic practices and bacterial contamination of poultry carcass in the Biskra region (Algeria). *Actes des 10^{èmes} Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras . ITAVI, La Rochelle, France., pp. 480-484.*
- Alomar J., A Lebert, et al., 2008. Effect of temperature and pH on growth of *Staphylococcus aureus* in co-culture with *Lactococcus garvieae*. *Curr Microbiol* 56(4): 408-12.
- Anderson KL, et al., 2006. Characterization of the *Staphylococcus aureus* heat shock, cold shock, stringent, and SOS responses and their effects on log-phase mRNA turnover. *J. Bacteriol.* 188: 6739-6756.
- ANSES., 2013. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : "*Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococciques", [en ligne]. URL <http://www.anses.fr> (consultée le 15 mai 2013).
- Antri K., Rouzik N., Boubekri I, et al., 2009. Forte prévalence des infections communautaires et nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et portant le gène de la leucocidine de Pantone-Valentine dans l'Algérois. *PATBIO. Avr.* 58,2:15-20.
- Appelbaum P C., 2006. Microbiology of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*; 45:p165-167.
- Arbuthnott J P., Coleman D C. et de Azavedo J S., 1990. Staphylococcal toxins in human disease. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* 19 101S-107S.
- Ariza J., Pujol J., Cabo C., Pena N., Fernandez J., Linares J., Gudiol F., 1999. Vancomycin in surgical infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin. *Lancet*, 353: p. 1587-1589.

- Avril J.L., Dabernat H., Denis F. et Monteil H., 2003. Bactériologie clinique. 3^{ème} Edition. Ellipses, Paris. p. 8-28.
- Aydin A., Sudagidan M., Muratoglu K., 2011. Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *Int J Food Microbiol* 148: 99-106.

B

- Bemer-Melchior P., Dugeon H B., 2001. Choix de la concentration en NaCl pour optimiser la détection de la résistance à la pénicilline chez *Staphylococcus* par la méthode de diffusion en gélose. *Pathol Biol* ; 49: p. 216-221.
- Bergdoll M S., 1988. Monkey feeding test for staphylococcal enterotoxin, In: *Methods in Enzymology*. Academic Press, pp. 324-333.
- Bergdoll M S., 1991. Symposium on microbiology update: old friends and new enemies. *Staphylococcus aureus*. *J Assoc Off Anal Chem* 74, 706-710.
- Bergeron M G., Ouellette M., 1998. Preventing antibiotic resistance through rapid genotypic identification of bacteria and of their antibiotic resistance genes in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*; 36: p. 2169–2172.
- Berrang M E et Buhr R J., 2001. Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *J. Food Prot.* 64,12, 2063-6. In *Impact des opérations d'abattage dans les tueries traditionnelles sur la qualité bactériologique de la viande de volaille à Meknès (Maroc)* A. Chaiba 1 et F. Rhazi Filali 2.
- Bismuth R. et Leclercq R., 2000. *Staphylococcus aureus* et antibiotiques. In : *Précis de bactériologie clinique*. (ed. Freyney JRF, Hansen W, Bollet C), ESKA, Paris. p. 611-918.
- Bogard M., Lamoril J [Coordinateurs], 1998. *Biologie Moléculaire en Biologie Clinique*. Tome 1 : Méthodes, Collection Option/Bio, Elsevier Editeur Paris, 348p.
- Bore E., Langsrud S., Langsrud Q., Rode TM. et Holck A., 2007. Acid-shock responses in *Staphylococcus aureus* investigated by global gene expression analysis. *Microbiology* 153: 2289–2303.
- Bourgeois C M., Mescle J F. et Zucca J., 1988. *Microbiologie alimentaire*. Ed. Technique et documentation-Lavoisier. Paris, p 65-74.
- Breche P., Gaillard J. and Simonet M., 1988. *Collection de la biologie à la clinique*. Bactériologie“ Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, Paris. p. 267-277.
- Brisabois A., Lafarge V., Brouillauda., DE Buyser M L., Collette C., Garin-Bastuji B., Thorel M F., 1997. Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe.- *Rev. Sci. Tech., Off. Int. Epiz.*, 16, 2, 452-471.
- Brun Y., Bes M., 2000. *Staphylococcus*. In: *Précis de bactériologie clinique* (ed. Freyney J RF, Hansen W, Bollet C): 783-830. ESKA, Paris.
- Butterworth A., 1999. Infectious components of broiler lameness: *World's poultry science journal* Volume 55, Issue 4, pp. 327-352.
- Buttiaux R., Beerens H. et Tacquet A., 1966. *Manuel de techniques bactériologiques*. 2^{ème} Ed. Médicales Flammarion. Paris. p. 371-376.
- Bystron J., Molenda J., Bania J., Kosek-Paszowska K., Czerw M., 2005. Occurrence of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* in raw poultry meat. *Pol J Vet Sci* 8, 37-40.

C

- Camille D.,2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire. Ed. Tec et doc. Paris. p 357-361.
- CASFM.,2009. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- Chambers H F.,1997. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. ClinMicrobiol Rev. 10: p. 781–791.
- Chang S., Sievert D M. and Hageman J C. et al.,(2003). Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene.N Engl J Med. 348: p. 1342-1347.
- Charles P., Ward B P., Johnson D R., Howden B., Grayson L.,2004. Clinical Features Associated with Bacteremia Due to Heterogeneous Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*. Clinical Infectious Diseases., 38. p.448–451.
- Charlier C., Even S., Gautier M. et Le Loir Y., 2008. Acidification is not involved in the early inhibition of *Staphylococcus aureus* growth by *Lactococcus lactis* in milk. *International Dairy Journal* **18** (2), 197-203.
- Chiang Y C., Liao W W., Fan C M., Pai W Y., Chiou C S., Tsen H Y., 2008. PCR detection of Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. Int J Food Microbiol 121, 66-73.
- Chopra L., Roberts M., 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol Mol Biol Rev; 65(2). p. 232-260.
- Christopher A., Hora S., Ali Z., 2013. Investigation of plasmid profile, antibiotic susceptibility pattern multiple antibiotic resistance index calculation of *Escherichia coli* isolates obtained from different human clinical specimens at tertiary care hospital in Bareilly-India. Annals of Tropical Medicine and Public Health 6, 285-289.
- Citak S., Duman T., 2011. *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* from raw chicken samples in Turkey: Prevalence and antimicrobial resistance. Journal of Food, Agriculture & Environment 9, 156-158.
- Comey C T., Budowle B., 1991. Validation studies on the analysis of the HLA DQA locus using the polymerase chain reaction. J. Forensic Sci. 36, 1633-1648.
- Comey C T., Koons B W., Presley K W., Smerick L B., Sobieralski C A., Stanley D M. et al., 1994. DNA extraction strategies for amplified fragment length polymorphism analysis. J Forensic Sci. 39, 1254-1269.
- Conly JM., Hill S., Ross J., Lertzman J., Louie TJ.,1989. Handwashing practices in an intensive care unit: the effects of an educational program and its relationship to infection rates.Am J Infect Control. Dec; 17 (6): p. 330-339.
- Corne P.,2004. *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat, Montpellier I.p.18.
- Corry J E. et Atabay H I., 2001, Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. Symp Ser Soc Appl Microbiol. 30, 96S-114S. in Impact des opérations d'abattage dans les tueries traditionnelles sur la qualité bactériologique de la viande de volaille à Meknès (Maroc) A Chaiba 1et F Rhazi Filali 2.
- Cosgrove M., Carroll K., Perl T.,2004. *Staphylococcus aureus* with Reduced Susceptibility to Vancomycin.ClinicalInfection Disease. 39: p. 539–545.
- Couch J L., Soltis M T., Betley M J., 1988. Cloning and nucleotide sequence of the type E staphylococcal enterotoxin gene. J Bacteriol 170, 2954-2960.
- Couture B.,1990. Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification desbactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris.p.15-32.

- Crozes Didier., Izilox Ketek Zyvoxid., 2005. Place des « nouveaux » antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique existant. Thèse de doctorat : Pharmacie, Université de Toulouse, n° TOU3 2052.p111.

D

- da Silva E R., do Carmo L S., da Silva N., 2005. Detection of the enterotoxins A, B, and C genes in *Staphylococcus aureus* from goat and bovine mastitis in Brazilian dairy herds. *Vet Microbiol* 106, 103-107.

- David MZ., Daum RS., 2010. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microb Rev*;23:616–87.

- David R.,2013. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Univ. Angers. France. p.21.22 .

- DE Buyser M L., 1996. Les staphylocoques coagulase-positifs. In : Lavoisier(Ed), *Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires*, chapitre 6, 305-312.

- DE Buyser M L., 2008. Entérotoxines staphylococciques dans le lait cru et les fromages au lait cru. *Bulletin des GTV*, (43), p. 37–42.

- Del Rio S A., Marino M A., Belgrader P., 1996. PCR-Based human leukocyte antigen (HLA) DQ alpha typing blood stained light and dark blue denim fabric. *J. Forensic Sei.* 41 , 490-492.

- Delbes C., Alomar J., Chougui N., Martin J F. et Montel M C., 2006. *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production during the manufacture of uncooked, semihard cheese from cows' raw milk. *J Food Prot* 69(9), 2161-7.

- Dennai N., Karrati B. et EL Yachioui M., 2000. Une microbiologie fluctuante. f *Viandes Prod. Camés*, 21, 191 - 196.

- Denny C B., Humber J Y. et Bohrer C W., 1971. Effect of toxin concentration on the heat inactivation of staphylococcal enterotoxin A in beef bouillon and in phosphate buffer. *Appl Microbiol* 21 (6), 1064-6.

- Descloux E.,Mohammedi I., Gilleta Y., François B., Etienne J., 2007. Pneumonie nécrosante à *Staphylococcus aureus* communautaire résistant à la méticilline et producteur de leucocidine de Panton-Valentine chez un adulte. *Réanimation.* 16. p. 256–258.

- Devriese L A., 1980. Pathogenic staphylococci in poultry. *Journal of Applied Bacteriology*, 50, 357.

- Devriese L A., Hajek V., 1980. Identification of pathogenic staphylococci isolated from animals and foods derived from animals. *J. Appl. Bacterio.* 45, p. 1-11.

- Dila., 2010. Guide des bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP relatif à l'abattage et à la découpe des volailles maigres (toutes espèces).

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

- Dinges MM., Orwin PM., Schlievert PM., 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 13: 16-34, table of contents.

- Drugeon H., (2006). β -lactamines et staphylocoques. In: Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. *Antibiogramme*. ESKA, Paris. p117-123.

- Dworkin M.,Falkow S., Rosenberg E., SchkeuferKH.,Stackebrandt E., 2006. The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3^{ème} Ed.; Springer, New-York. Vol 4, Chap.1.2.1.The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*, p4-75.

E

- Etienne J., Gerbaud G., Fleurette J., Courvalin P., 1991. Characterization of staphylococcal plasmids hybridizing with the fosfomycin resistance gene fosB. FEMS Microbiol Lett. 68: 119-22.
- European Food Safety Authority (EFSA)., 2008. Report from the TaskForce on Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. from food animals. EFSA J.141, 1-44.
- Euzeby J P., 1997. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. Int J Syst Bacteriol. 47, 590-592.
- Eveillard M., 2007. Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la métricilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat, Université d'Angers, n°749. p. 158.

F

- FAO., 1994. Technique et règles d'hygiène en matière d'abattage et de la manipulation de la viande dans l'abatage. ISBN. Rome. pp23-24.
- Fasquelle R., 1974. Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris. p 27-36.
- Fauchere J L. et Avril J L., 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. p 213-217.
- Ferron A., 1984. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} édition. CROUAN et ROQUES, Paris. p 87-94.
- Fessler AT., Kadlec K., Hassel M., Hauschild T., Eidam C., Ehricht R., Monecke S., Schwarz S., 2011. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. Appl Environ Microbiol 77, 7151-7157.
- Fluit A C., Visser M R., Schmitz F J., 2001. Molecular detection of antimicrobial resistance. Clin Microbiol Rev. 14(4). p. 836-871.
- Forestier E., Rémy V., Mohseni-Zadeh M., Lesens O., Jaulhac B., Christmann D., 2006.
- Fournaud J., Graffino G., Rosset R. et Jacque R., 1978. Contamination microbienne des carcasses aux abattoirs. Jnd. Agri. Alim., 273 - 282.

G

- Galimand M., Sabtcheva S., Courvalin P., Lambert T., 2005. Worldwide disseminated armA aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. Antimicrob Agents Chemother. 49 : 2949 -2953.
- Gaudy C. et Buxeraud J., 2005. Antibiotiques pharmacologie et thérapeutiques, Elsevier SAS. p.21-22.
- Genigeorgis CA., 1989. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. Int J Food Microbiol 9: 327-360.
- Giguère S., 2006. Macrolides, azalides and ketolodes. In Antimicrobial therapy III veterinary medicine. 4thed., Ames, Blackwell publishing. p. 191-205.

- Gillet Y., Issartel B., Vanhems P. et al., 2002. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 359: 753-759.
- Gomez M I., Lee A., Reddy B. et al., 2004. *Staphylococcus aureus* protein A induces airway epithelial inflammatory responses by activating TNFR1. *Nat Med* 10: 842-848.
- Gordon R J. and F D Lowy., 2008. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases*. 46(Supplement 5): p. S.
- Gousia P., Economou V., Sakkas H., Leveidiotou S., Papadopoulou C., 2011. Antimicrobial resistance of major foodborne pathogens from major meat products. *Foodborne Pathog Dis* 8, 27-38.
- Greenfield R A., Brown B R., Hutchins J B., Iandolo J J., Jackson R., Slater L N. et Bronze M S., 2002. Microbiological, biological, and chemical weapons of warfare and terrorism. *Am J Med Sci* 323(6), 326-40.
- Grohs P., 2009. Évolution de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques : la méticilline est-elle encore un marqueur de multirésistance? *Pathologie Biologie*. 57 : p. 1-8.
- Gueudet T. et Lemblé C., 2004. Détection de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus aureus*: comparaison de cinq techniques utilisables en routine *Pathologie Biologie*. 52 : p. 617-621.

H

- Hagelberg E., Sykes B., Hedges R., 1990. Ancient bone DNA amplified. *Nature* 342, 485.
- Hamdad F., Donda F., Laurans G., Canarelli B., Rousseau F., Biendo M., Thomas D., 2006. Performances des différentes méthodes de détection de la résistance à l'oxacilline de souches atypiques de *Staphylococcus aureus*, *Pathologie Biologie*. 54 : p. 447-452.
- Hanson L., 2001. Microbiological meat Quality in high and low, capacity slaughterhouse in Sweden. 1. *Food Prot*, 64, 820-825.
- Harmsen D., Claus H., Witte W., Rothganger J., Turnwald D., Vogel U., 2003. Typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management, *J. Clin. Microbiol.* 41: p. 5442-5448.
- Harris T O., Grossman D., Kappler J W., Marrack P., Rich R R. et Betley M J., 1993. Lack of complete correlation between emetic and T-cell-stimulatory activities of staphylococcal enterotoxins. *Infect Immun* 61(8), 3175-83.
- Hawryluk T. et Hirshfield I., 2002. A superantigen bioassay to detect staphylococcal enterotoxin A. *J Food Prot* 65(7), 1183-7.
- Hazariwala A., Sanders Q., Hudson C R., Hofacre C., Thayer S G., Maurer J J., 2002. Distribution of staphylococcal enterotoxin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from poultry and humans with invasive staphylococcal disease. *Avian Dis* 46, 132-136.
- Henghold W B., 2nd, 2004. Other biologic toxin bioweapons: ricin, staphylococcal enterotoxin B, and trichothecene mycotoxins. *Dermatol Clin* 22 (3), 257-62, v.
- Hennekinne J.A., 2009. Nouvelles approches pour la caractérisation des toxico-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive, thèse de doctorat. Paris. p.16-17.
- Higuchi R., 1989. Simple and Rapid Preparation of Sample for PCR. In: Erlich HA editor. *PCR Technology: Principles and applications*. New York: Stockton Press. pp 31-38.
- Hiramatsu K., 2001. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *The Lancet Infectious Diseases*. 1: p. 147-155.

- Hiramatsu K., Katayama Y., Yuzawa H., Ito T., 2002. Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*. 292: p. 67–74.
- Hiramatsu K., Aritaka N., Hanaki H., Kawasaki S., Hosoda Y., Hori S., Fukuchi Y., Kobayashi I., 1997. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet*. 350: p.1670-1673.
- Hiramatsu K., Ito T., Hanaki H., 1999. Evolution of methicillin and glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus* In: Finch RG, Williams RJ, eds. *Bailliere's Clinical Infectious Disease*. London: Bailliere Tindall. p. 221–242.
- Hirsh D C., Biberstein E L., 2004. *Staphylococcus in veterinary microbiology*. 2ed. Oxford, Blackwell Publishing. p. 153-158.
- Hochmeister M N., Budowle B., Borer U V., Eggmann U., Comey C T., Dirnhofer R., 1991. Typing of DNA extracted from compact bone tissue from human remains. *J. Forensic Sci*. 36, 1649-1661.
- Hooper L V., Midtvedt T., Gordon JI., 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr*. 22: p. 283-307.
- Hougardy N., Louahabi A., Goffineta P., 2006. Détection directe et rapide du portage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline par extraction automatisée de l'acide nucléique et PCR en temps réel, *Pathologie Biologie*. 54 : p. 477–481.H
- Hovde C J., Marr J C., Hoffmann M L., Hackett S P., Chi Y I., Crum K K. et al., 1994. Investigation of the role of the disulphide bond in the activity and structure of staphylococcal enterotoxin C1. *Mol Microbiol* 13 (5), 897-909.
- Hu D L., Omoe K., Sasaki S., Yokomizo Y., Sashinami H., Sakuraba H. et al., 2003. Vaccination with nontoxic TSST-1 protects *Staphylococcus aureus* infection. *J. Infect. Dis*. 188, 743–752.
- Hu D L., Zhu G., Mori F., Omoe K., Okada M., Wakabayashi K. et al., 2007. Staphylococcal enterotoxin induces emesis through increasing serotonin release in intestine and it is downregulated by cannabinoid receptor 1. *Cell Microbiol* 9: 2267–2277.
- Hu D.-L., Omoe K., Shimoda Y., Nakane A. et Shinagawa K., 2003. Induction of Emetic Response to Staphylococcal Enterotoxins in the House Musk Shrew (*Suncus murinus*). *Infect*.
- Hudson W R., MEAD G E. et HINTON MH., 1996. Relevance of abattoir hygiene assessment to microbial contamination of British beef carcasses. *Vet Rec.*, ~, 587 - 589 21.

I

- Ikeda T., Tamate N., Yamaguchi K. et Makino S., 2005a. Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. *Appl Environ Microbiol* 71 (5), 2793-5.
- ISO., 2004. NF EN ISO 6888-1/A1, Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)-Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.
- Ito T., Katayama Y., Asada K., Mori N., Tsutsumimoto K., Tiensasitorn C. et al., 2001. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 45: p. 1323–1336.
- Ito T., Max X., Takeuchi E., Okuma K., Yuzawa H., Hiramatsu K., 2004. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC, *Antimicrob Agents Chemother*. 48: p. 2637-2651.118

J

- Jarraud S., Mouget C., Thioulouse J., Lina G., Meugnier H., Forey E., Nesme X., Etienne J., Vandenesch E., 2002. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease, *Infect. Immun.* 70: p. 631-641.
- Jean-Yves Madec(1). et Marisa Haenni., 2010. les staphylocoques dorés résistants à la pénicilline(sarm) chez les animaux en France : prévalence et résistances associées *Ann. Acad. Vét. France* -2010- tome 163 - n°3.
- Johler S. et Stephan R., 2010. Pathogene Mikroorganismen, *Staphylococcus aureus*, Infektions- und Intoxikationserreger, Behr's Verlag, 35-79.
- Jonas D., Grundmann H., Hartung D. et al., 1999. Evaluation of the mecA-femB duplex polymerase chain reaction for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 18: p. 643–647.
- Jorgensen H J., Mathisen T., Lovseth A., Omoe K., Qvale K S. et Loncarevic S., 2005a. An outbreak of staphylococcal food poisoning caused by enterotoxin H in mashed potato made with raw milk. *FEMS Microbiol Lett* 252 (2), 267-72.
- Jorgensen H J., Mork T., Hogasen H R., Rorvik L M., 2005. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. *J Appl Microbiol* 99, 158-166.
- Jung J M., Comey C T., Baer D B., Budowle B., 1991. Extraction strategy for obtaining DNA from blood stains for PCR amplification and typing of the HLA-DQA gene. *Int. J Leg. Med.* 104, 145-148.

K

- Katayama T., Ito T., Hiramatsu K., 1999. A new class of genetic element, *Staphylococcus* Cassette Chromosome mec, encode methicillin resistant in *S. aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 43: p. 1549–1555.
- Katayama Y., Zhang H., Hong D., Chambers H., 2003. Jumping the barrier to β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 185: p. 5465–5472.
- Kathryn A., Murrayk A., Gilmour A. and Manden R H., 2001. Microbial quality of (chilled beef carcass in Northern Ireland: a base line survey. 1. *Food Prot.*, 64, -498 - 502.
- Katsuda K., Hata E., Kobayashi H., Kohmoto M., Kawashima K., Tsunemitsu H., Eguchi M., 2005. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitic milk on the basis of toxin genes and coagulase gene polymorphisms. *Vet Microbiol* 105, 301-305.
- Kessah C., Ben Redjeb S., Odugbemi T O., Boye C S B., Dosso M., Ndinya Achola J O. et al., 2003. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. *Clin Microbiol Infect.* 9: p. 153–156.
- Khallaf M., Benbakhta B., Nasri I., Bouchaib S., Senouci S., Ennaji M M., 2014. Prevalence of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat marketed in Rabat, Morocco. *International Journal of Innovation and Applied Studies* 7, 1665-1670.
- Kitai S., Shimizu A., Kawano J., Sato E., Nakano C., Kitagawa H., Fujio K., Matsumura K., Yasuda R., Inamoto T., 2005. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken meat throughout Japan. *J Vet Med Sci* 67, 269-274.
- Kloos WE. et Shleifer K.H., 1975. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *Journal of clinical Microbiology.* 1: 82-88.
- Kluytmans J A J W., Wertheim H F L., 2005. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Prevention of Nosocomial Infections. *Infection* 33, 3-8.
- Koblinski L., 1992. Recovery and stability of DNA samples of forensic Science significance. *Forensic Science Rev.* 4, 67-87.

- Koluman A., Unlu T., Dikici A., Tezel A., Akcelik E., Burkan Z., 2011. Presence of staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins in different foods. Kafkas Univ Vet Fak Derg 17 S55-S60.
- Kotula K L. et Pandya Y., 1995. Bacterial contamination of broiler chickens before scalding. J. Food Prot. 58, 1326-1329.
- Krupa P., Bystron J., Bania J., Podkowik M., Empel J. and Mroczkowska A., 2014. Genotypes and oxacillin resistance of *Staphylococcus aureus* from chicken and chicken meat in Poland. Poult Sci. 93: 3179–3186.

L

- Lahellec C., Meurier C., 1973. Influence de l'utilisation d'un système d'échaudage sur la pollution superficielle des carcasses de volailles. Bulletin d'information de la Station Avicole de Ploufragan 13, 47-59.
- Larsen H D., Sloth K H., Elsberg C., Enevoldsen C., Pedersen L H., Eriksen N H., Aarestrup F M., Jensen N E., 2000. The dynamics of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in nine Danish dairy herds. Vet Microbiol 71, 89-101.
- Le Loir Y., Baron F., Gautier M., 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res 2, 63-76.
- Le Minor L. et Veron M., 1990. Bactériologie Médicale «*Staphylococcus* et *Micrococcus*». J. Fleurette 2^{ème} édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. p. 773794.
- LE Touze J C., Vendevre J L., Rozierj., 1985. Méthode d'évaluation de la qualité microbiologique des produits de la découpe primaire du porc., - Viande et Prod. Camés, Q, (6), 236.- 244.
- Leclercq R., 2002. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. Ann Fr Anesth Réanim. 21 : p. 375-383.
- Leclercq R., 2002. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. Clinical Infectious Diseases, 15, 482-492.
- Lecoanet J., 1992. Colibacilloses aviaires. In Manuel de pathologie aviaire (J. Brugère-Picoux & A. Silim, édit.). École nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort, 237–240.
- Lehuraux V., 1997. Nettoyage et désinfection en abattoir de volailles. Ecole nationale vétérinaire de Lyon. Lyon, Université Claude Bernard-Lyon I: 85.
- Letertre C., Perelle S., Dilasser F., Fach P., 2003. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. Journal of Applied Microbiology 95, 38-43.
- Lim S K., Nam H M., Park H J., Lee H S., Choi M J., Jung S C., Lee J Y., Kim Y C., Song S W., Wee S H., 2010. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meat in Korea. J Microbiol Biotechnol 20, 775-778.
- Lina G., Bohach G A., Nair S P., Hiramatsu K., Jouvin-Marche E. et Mariuzza R., 2004. Standard nomenclature for the superantigens expressed by *Staphylococcus*. J Infect Dis 189 (12), 2334-6.
- Lina G., Quaglia A., Reverdy M.E., Leclercq R., Vandenesch F., Etienne J., 1999. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. Antimicrob Agents Chemother. 43(5). p. 1062-1066.
- Lindblad M., Lindmark H., Lambertz S T., Lindqvist R., 2006. Microbiological baseline study of broiler chickens at Swedish slaughterhouses. J Food Prot 69, 2875-2882.

- Liu C., Graber CJ., Karr M., Diep BA., Basuino L., Schwartz BS. et al., 2008. A population-based study of the incidence and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in San Francisco, 2004–2005. *Clin Infect Dis* ;46:1637–46.
- Louie L., Matsumura S O., Choi E., Louie M., Simor A E., 2000. Evaluation of 3 rapid methods for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 38:p. 2170–2173.
- Lowy FD., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 339: 520-532.
- Lowy FD., 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* : 1265-1273

M

- Madahi H., Rostami F., Rahimi E., Safarpour Dehkordi F., 2014. Prevalence of Enterotoxigenic *Staphylococcus Aureus* Isolated From Chicken Nugget in Iran. *Jundishapur J Microbiol* 7, e10237.
- MADR, (Ministère de l’Agriculture et du Développement Rural), 2011. Statistiques agricoles, séries A et B. Alger, Algérie.
- McCullagh J J., McNamee P T., Smyth J A. et Ball H J., 1998. The use of pulsed field gel electrophoresis to investigate the epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in commercial broiler flocks. *Vet Microbiol* 63, 275–281.
- McNamee PT., Smyth JA., 2000. Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis (femoral head necrosis) of broiler chickens: a review. *Avian Pathol.* 29:253-270.
- McNamee PT., McCullagh J J., Rodgers J D., Thorp B H., Ball H J., Connor T J., McConaghy D. et Smyth J A., 1999. Development of an experimental model of bacterial chondronecrosis with osteomyelitis in broilers following exposure to *Staphylococcus aureus* by aerosol, and inoculation with chicken anaemia and infectious bursal disease viruses. *Avian Pathology*, 28, 26–35.
- Mead G C., Hudson W R., Hinton M H., 1993. Microbiological survey of five poultry processing plants in the UK. *Br Poult Sci* 34, 497-503.
- Mehrotra M., Wang G., Johnson W M., 2000. Multiplex PCR for Detection of Genes for *Staphylococcus Aureus* Enterotoxins, Exfoliative Toxins, Toxic Shock Syndrome Toxin 1, and Methicillin Resistance. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 1032-1035.
- Michel F., 2005. *Bactériologie alimentaire*. 2^{ème} Ed. Economica. Paris. P 45-47, 219.
- Michel-Briand Y., 2002. *Mécanismes moléculaires de l’action des antibiotiques*. 1^{ère} édition; Masson, Paris. p. 370.
- Mullis K B. and Faloona F., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 155, 335-350.
- Mullis K B., Faloona F A., 1986. Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* Vol.155, pp. 335-350.
- Munson S H., Tremaine M T., Betley M J. et Welch R A., 1998. Identification and characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 66 (7), 3337-48.
- Murray P R., Baron E J., Jorgensen J H., Pfaller M A. and Tenover F C., 2003. *Manual of Clinical Microbiology*, 8th edn. Washington, DC: American Society for Microbiology 125: 2334-2336.

N

- Nader YM, Reham MA, Engy FE., 2016. Incidence of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* in Poultry Meat. *Global Veterinaria* 16:570-578.

- Nauciel C., 2005. ABREGES connaissances et pratique « Bactériologie médicale ». 2^{ème} édition. MASSON, Paris. p. 83-85.
- Nemati M., 2013. Prevalence of Enterotoxin Genes in Poultry Staphylococcus aureus Isolates. Bull Env Pharmacol Life Sci 3, 277-281.
- Nemeghaire S. et al., 2013. Characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from healthy carrier chickens. Avian Pathology. 42(4): p. 342-346 50-S359.
- Normanno G., La Salandra G., Dambrosio A., Quaglia N C., Corrente M., Parisi A., Santagada G., Firinu A., Crisetti E., Celano G V., 2007. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from meat and dairy products. Int J Food Microbiol 115, 290-296.

O

- O'Neill A J., McLaws F., Kahlmeter G., Henriksen AS., Chopra I., 2007. Genetic basis of resistance to fusidic acid in staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 51, p. 1737-1740.
- Ogston A., 1882. *Micrococcus* poisoning. J Anat. 17: p.24-58.
- Oliveira D C., Tomasz A., de Lencastre H., 2002. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet Infect. Dis. 3: p. 180-189.
- Ono H K., Omoe K., Imanishi K., Iwakabe Y., Hu D L., Kato H., Saito N., Nakane A., Uchiyama T. et Shinagawa K., 2008. Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins, types S and T. *Infect Immun* 76 (11), 4999-5005.
- Orden J A., Goyache J., Hernandez J., Domenech A., Suarez G., Gomez-Lucia E., 1992. Detection of enterotoxins and TSST-1 secreted by Staphylococcus aureus isolated from ruminant mastitis. Comparison of ELISA and immunoblot. J Appl Bacteriol 72, 486-489.
- Organisation Mondiale de la Santé. Rapport d'un comité OMS d'experts réunis avec la participation de la FAO. Genève: OMS, 1976. -175 p. -(Série rapports techniques; 598).
- Organisation Mondiale de la Santé. Rapport d'un comité OMS d'experts réunis avec la participation de la FAO. Genève: OMS, 1976. -175 p. -(Série rapports techniques; 598)
- Orwin P M., Fitzgerald J R., Leung D Y., Gutierrez J A., Bohach G A. et Schlievert P M., 2003. Characterization of Staphylococcus aureus enterotoxin L. *Infect Immun* 71 (5), 2916-9.
- Orwin P M., Leung D Y., Tripp T J., Bohach G A., Earhart C A., Ohlendorf D H. et al., 2002. Characterization of a novel staphylococcal enterotoxin-like superantigen, a member of the group V subfamily of pyrogenic toxins. *Biochemistry* 41(47), 14033-40.
- Olatu O., Junaidu K., Emmanuel Chukwudi O., Veronica Jarlath U., 2011. Multi-drug Resistant Coagulase Positive Staphylococcus aureus from Live and Slaughtered Chickens in Zaria, Nigeria.

P

- Pesavento G., Ducci B., Comodo N., Lo Nostro A., 2007. Antimicrobial resistance profile of Staphylococcus aureus isolated from raw meat: A research for methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA).
- Pilet C., Bourdon J L., Toma B., Marchal N., Balbastre C., 1983. Bactériologie médicale et vétérinaire. 2^{ème} Ed. France. p. 40-46.
- Prescott J F., 2006. Beta-lactam antibiotics: penam penicillins. In Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 4th ed., Ames, Blackwell publishing. p.121-137.

- Prescott L M., Harley J P., Klein D., 2010. Microbiologie. Ed 2 Française. De Boeck Université.
- Purcell K., Fergie J., 2005. Epidemic of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: a 14-year study at Driscoll Children's Hospital. *Arch Pediatr Adolesc Med*; 159:980-5.

Q

- Quincampoix J C. et Mainardi J L., 2001. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation*. 10: p. 267-75.

R

- Rasooly R. et Do P M., 2009. In vitro cell-based assay for activity analysis of staphylococcal enterotoxin A in food. *FEMS Immunol Med Microbiol* 56 (2), 172-8.
- Reece R J., 2004. Analysis of Genes and Genomes, John Wiley & Sons, Ltd, England, 153-182 gène and genome.
- Refrégier-Petton J., Denis M., Rose N., Salvat G., 2001. Risks factors for *Campylobacter* spp. Contamination in French broiler-chickens flocks at the end of the rearing period, *Preventive Vet. Med.*, 50, 89-100.
- Reiter M G R., Fiorese M L., Morett G., Lopez M C., Jordano R., 2007. Prevalence of *Salmonella* in a poultry slaughterhouse. *Journal of Food Protection* 70, 1723-1725.
- Rivoal K. et Denis M., 1999. Molecular characterization of the diversity of *Campylobacter* spp. isolates collected from a poultry slaughterhouse: analysis of cross contamination. *Lett Appl Microbiol*. 29, 6, 370-4. In Impact des opérations d'abattage dans les tueries traditionnelles sur la qualité bactériologique de la viande de volaille à Meknès (Maroc) A. Chaiba 1 et F. Rhazi Filali 2.
- Robert D., 2013. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive, Thèse de doctorat d'état en pharmacie, Univ. Angers, France, p. 21-22
- Robinson D A., Enright M C., 2004. Multilocus sequence typing and the evolution of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol Infect.* 10: p. 92-9.
- Rosec J P., Guiraud J P., Dalet C., Richard N., 1997. Enterotoxin production by staphylococci isolated from foods in France. *Int J Food Microbiol* 35, 213-221.
- Rosenbach F J., 1884. *Microorganismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen*, Wiesbaden.
- Rozier J., 1990. Comprendre et pratiquer l'hygiène en cuisine. La cuisine collective. MILAN: imprimerie Maury. - P200.
- Rozier J., Carlier V. et Bolnot F., 1985. Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Paris, France, Sepaic, p. 230.

S

- Saiki R K., Gelfand D H., Stoffel S., Scharf S J., Higuchi R., Horn G T., Mollis K B. and Erlich B A., 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-493.
- Saiki R K., Scharf S., Faloona F., Mullis K B., Horn G T., Erlich B A. and Arnheim N., 1985. Enzymatic amplification of 13-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230: 1350-1354.

- Salvat G. et Pcolin., 1995. Le nettoyage et la désinfection dans les industries de la viande en Europe Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 14 (2), 313-327.
- Salvat G., 1997. Prévention des problèmes de santé publique liés aux produits issus de la filière avicole. Bult. Acad. vét. France. 70, 43-68.
- Sambrock J W., Russel D., 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual(3rd edition).
- Sarrafzadeh Zargar M H., Hosseini Doust R., Mohebati Mobarez A., 2014. Staphylococcus aureus Enterotoxin A Gene Isolated From Raw Red Meat and Poultry in Tehran, Iran. Int J Enteric Pathog 2, 2-16085.
- Sasidharan S., Prema B., Yoga LL., 2011. Antimicrobial drug resistance of Staphylococcus aureus in dairy products. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 1: 130-132.
- Scanvic-Hameg A., May-Michelangeli L., Le Turdu F., 2002. Apport du kit Servitex Staphylocoque MRSA dans le diagnostic rapide des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méticilline, Méd Mal Infect. 32 : p. 107-114.
- SCHUMM J W., Lins A M., Sprecher C J. and Micka KA., 1995. High throughput systems for analysis of STR loci. In Proceedings from the 6th International Symposium on Human Identification. Scottsdale, Az.
- Schwabe M., Notermans S., Boot R., Tatini S. R. et Kramer J., 1990. Inactivation of staphylococcal enterotoxins by heat and reactivation by high pH treatment. Int J Food Microbiol 10 (1), 33-42.
- Service d'épidémiologie et de médecine préventive de Sétif., 2010.
- Siegel J., Rhinehart E., Jackson M., Chiarello L., 2007. Management of multidrug resistant organisms in health care settings. Am J Infect Control 42. 5. p. 165–193.
- Skeeles J K., 1991. Staphylococcosis. Pages 293–299 in: Diseases of Poultry. 7th ed. M. S. Hofstad, ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Smyth D S., Hartigan P J., Meaney W J., Fitzgerald J R., Deobald C F., Bohach G A., Smyth C J., 2005. Superantigen genes encoded by the egc cluster and SaPI_{bov} are predominant among Staphylococcus aureus isolates from cows, goats, sheep, rabbits and poultry. J Med Microbiol 54, 401-411.
- Speller D C., Johnson A P., James D., Marples R R., Charlett A., George R C., 1989. Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid. England and Wales. Lancet. 350: p.323-325.
- Spicer W J., 2003. Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie Flammarion Médecine-Sciences, Paris. p.28-29.
- Stephan R., Annmuller C., Hassan A A., Lammler Ch., 2001. Characterization of enterotoxigenic Staphylococcus aureus strains isolated from bovine mastitis in north-east Switzerland / Veterinary microbiology, Vol.78, issue 7, pp.373 – 382.
- Su Y C. et Wong A C., 1995. Identification and purification of a new staphylococcal enterotoxin, H. Appl Environ Microbiol 61 (4), 1438-43.
- Sugiyama H. et Hayama T., 1965. Abdominal viscera as site of emetic action for staphylococcal enterotoxin in the monkey. J Infect Dis 115(4), 330-6.
- Sugiyama H. et Hayama T., 1965. Abdominal viscera as site of emetic action for staphylococcal enterotoxin in the monkey. J Infect Dis 115 (4), 330-6.
- Sugiyama H., Hayama T., Yagasaki O., 1966. Emetic action of bacterial endotoxin in the cat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121:278–281
- Sugiyama H., Chow K L., Dragstedt L R III., 1961. Study of emetic receptor sites for staphylococcal enterotoxin in monkeys. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 108:92–95.

- Sugiyama H., Hayama T., 1964. Comparative resistance of vagotomized monkeys to intravenous vs. intragastric staphylococcal enterotoxin B. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 115:243–246.

- Suleiman A., Zaria L T., Grema H., Ahmadu P., 2013. Antimicrobial resistant coagulase positive *Staphylococcus aureus* from chickens in Maiduguri, Nigeria.

T

- Tankovic J., Aubry-Damon H. et Leclercq R., 1997. Résistance aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. Méd Mal Infect. 27 Spécial : p. 207-216.

- Tenover F C., 1999. Implications of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Hospital Infection. 43 (Supplement): S3-S7.

- Tenover F C., James W., Biddle L E., Lancaster M V., 2001. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases, 7 (2): p. 327-332.

- Tiouiri Benaissa, H. 2012. Les fluoroquinolones [en ligne]. http://www.infectiologie.org.tn/pdf/cmi/college_monastir/fluoroquinolones.pdf.

- Todd J., Fishaut M., Kapral F., Welch T., 1978. Toxic-shock syndrome associated with phagegroup-I staphylococci. Lancet 2, 1116-1118.

V

- Villate D., 2001. Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France agricole.

W

- Walsh T R., Howe R A., 2002. The prevalence and mechanisms of vancomycin resistant in *Staphylococcus aureus*. Microbiol. 56: p. 657–675.

- Weese J S., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals. Institute for Laboratory Animal Research journal. 51(3): p. 233-244.

- Weigel L M., Clewell D B. and Gill S R. et al., 2003. Genetic analysis of a high level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus*. Science. 302: p. 1569-1571.

- Werckenthin C., Cardoso M., Martel J L., Schwarz S., 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). p. 341-362.

- Wiedbrauk D L., Farkas D H., 1994. Molecular methods for virus detection. San Diego, Academic Press. (CA). pp 386.

- Willey J M., Sherwood L M. et Woolverton C J., 2010. Microbiologie. 3^{ème} de Boeck université. Bruxelles. p. 582.

- Wray C., Davies R.H. et Evans S.J., 1997. Salmonella infection in poultry: the production environment. In: Richardson R.I., Mead C.C. Eds., Wallingford, UK, Poult. Meat Sci. 5, 257-276.

- Wright A., Andrews P L. et Titball R W., 2000. Induction of emetic, pyrexia, and behavioral effects of *Staphylococcus aureus* enterotoxin B in the ferret. Infect Immun 68 (4), 2386-9.

X

- Xia J. et al.,2013. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotic resistance and virulence. *Bioscience Trends*. 7(3).

Z

- Zangenberg G., Saiki R K., Reynolds R., 1999. Multiplex PCR : optimization guidelines, PCR Applications, Protocols for functional genomics, Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J. (ed.), Academic Press, 73-93.

- Zhou Q., Gu C Q., Hu X Y., Wang D H., Li X M., Zhou S Q., Cheng G F., 2007. role of Interleukin-6 in the Pathogenesis of an Avian Model of *Staphylococcus aureus* Arthritis *Poultry Science*, Volume 86, Issue 6, 1.

- Zilhao R.,Courvalin P.,1990. Nucleotide sequence of the fosB gene conferring fosfomycin resistance in *Staphylococcus epidermidis*. *FEMS Microbiol Lett*. 56 : p267-272.

ANNEXES

Annexe 1

Fiche de renseignement

Nom de l'opérateur :.....

Circonscription :.....

Date de la visite :.....

Espèces abattus :.....

Date de réception :.....

Age des sujets :.....

Nombre de sujets réceptionnés pour l'abattage :.....

Provenance :.....

Nombre de lots abattus :.....

Nombre de sujets abattus par lot :.....

Annexe 2

16	JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 29	8 Choumel 1438 2 juillet 2017			
3- Viandes de volailles, de lapins et leurs dérivés					
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		p	c	m	M
Volailles, lapins entiers ⁽¹⁾ et découpes de volailles avec peau	<i>Escherichia coli</i>	5	2	5.10 ³	5.10 ⁴
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ⁵	10 ⁶
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 10 g	
Découpes de volailles sans peau et coupes de lapins	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ⁵	10 ⁶
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 10 g	
Produits à base de volaille destinés à être consommés cuits	<i>Escherichia coli</i>	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	<i>Campylobacter</i> spp, thermotolérants	5	0	10 ²	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Abats crus de volaille	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ⁵	10 ⁶
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 10 g	
Viande hachée de volaille	Germe aérobie à 30 °C	5	2	5.10 ⁶	5.10 ⁷
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	<i>Campylobacter</i> spp, thermotolérants	5	0	10 ²	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Viandes séparées mécaniquement (VSM) ⁽²⁾	Germe aérobie à 30 °C	5	2	5.10 ⁵	5.10 ⁶
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	50	5.10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 10 g	
<p>⁽¹⁾ Les prélèvements sur les carcasses entières sont réalisés sur les volailles, de part et d'autre de tranches (tranches pectorales et peau). Sur les lapins, le prélèvement se fait sur la cuisse.</p> <p>⁽²⁾ Ces critères s'appliquent aux produits utilisant la viande entière des os, couverts de chair après le déossage ou des carcasses de volailles, à l'aide de moyens mécaniques entraînant la destruction ou la modification de la structure fibreuse des muscles.</p>					

Annexe3

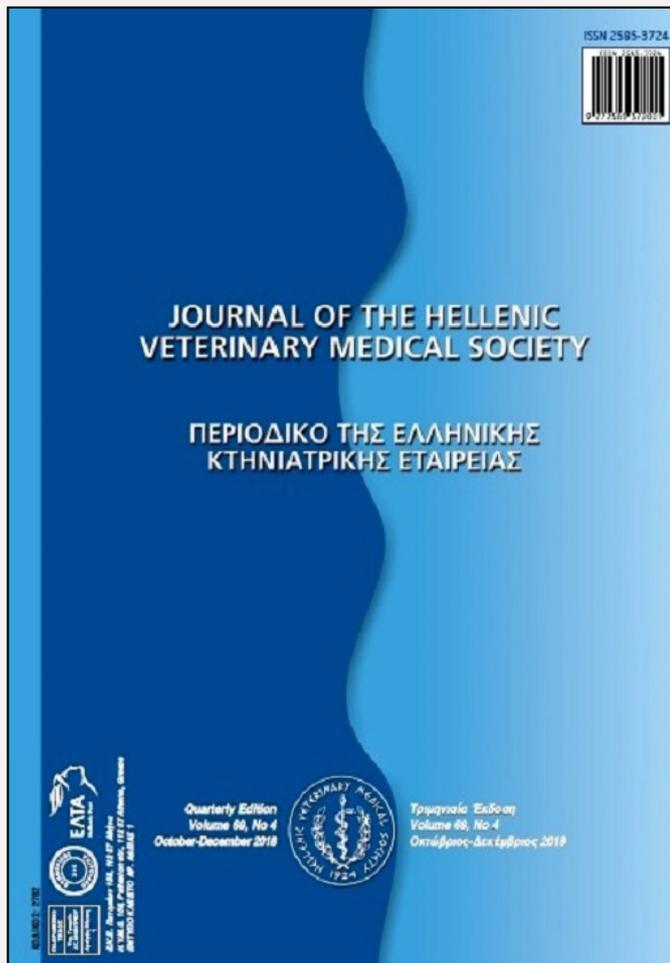
Interprétation des disques

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
<u>β-lactamines :</u>				
Pénicilline	10 UI	≤28	---	≥29
Oxacilline*	5μg			≥20
Cefoxitine	30μg	≤19	---	≥20
<u>Aminosides :</u>				
Gentamicine	10μg	≤12	13-14	≥15
Kanamycine	30μg	≤14	15-16	≥17
<u>Macrolides :</u>				
Érythromycine	15μg	≤13	14-22	≥23
Lincosamine*	2μg	≤14	15-20	≥21
<u>Glycopeptides :</u>				
Vancomycine	30μg	----	---	≥15
Teicoplanine	30μg	≤10	15-17	≥14
<u>Quinolones :</u>				
Ofloxacine	5μg	≤14		≥18
<u>Autres :</u>				
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].



Prevalence and distribuion of staphylococcal enterotoxin genes among Staphylococcus aureus isolates from chicken and turkey carcasses in Algeria

- | | |
|----------------------|---|
| Mebkhout F. | Food Hygiene and Quality Insurance System Laboratory, High National Veterinary School of Algiers, Algeria |
| Mezali L. | Food Hygiene and Quality Insurance System Laboratory, High National Veterinary School of Algiers, Algeria |
| Hamdi T. | Food Hygiene and Quality Insurance System Laboratory, High National Veterinary School of Algiers, Algeria |
| Cantekin Z. | Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Hatay, Turkey |
| Ergun Y. | Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Hatay, Turkey |
| Ramdani-Bouguessa N. | Laboratory of medical biology, Algiers, Algeria |
| Butaye P. | Ross University, School of Veterinary Medicine, Department of Biomedical Sciences, West Farm, St Kitts and Nevis Ghent University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Bacteriology and Poultry diseases, Merelbeke, Belgium |

<http://dx.doi.org/10.12681/jhvms.19621>

T.M. HAMDI, Z. CANTEKIN, Y. ERGUN, N.
RAMDANI-BOUGUessa, P. BUTAYE



To cite this article:

Mebkhout, F., Mezali, L., Hamdi, T., Cantekin, Z., Ergun, Y., Ramdani-Bouguesa, N., & Butaye, P. (2019). Prevalence and distribuion of staphylococcal enterotoxin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from chicken and turkey carcasses in Algeria. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 69(4), 1297-1304.

doi:<http://dx.doi.org/10.12681/jhvms.19621>

Prevalence and distribution of staphylococcal enterotoxin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from chicken and turkey carcasses in Algeria

**F. Mebkhout¹, L. Mezali¹, T. M. Hamdi¹, Z. Cantekin², Y. Ergun³,
N. Ramdani-Bouguessa⁴, P. Butaye^{5,6}**

¹Food Hygiene and Quality Insurance System Laboratory, High National Veterinary School of Algiers, Algeria.

²Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Hatay, Turkey.

³Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Hatay, Turkey.

⁴Laboratory of medical biology, Algiers, Algeria.

⁵Ross University, School of Veterinary Medicine, Department of Biomedical Sciences, West Farm, St Kitts and Nevis

⁶Ghent University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Bacteriology and Poultry diseases,
Merelbeke, Belgium

ABSTRACT. This study is aimed to determine the prevalence of *staphylococcus aureus* (*S.aureus*) by biochemical tests in poultry carcasses. It is also intend to detect the distribution of genes for classical staphylococcal enterotoxins A, B, C, D and E (*sea, seb, sec, sed* and *see*) and for gene *femA*, specific for *S.aureus* species, using multiplex PCR.

A total of 385 samples of neck skins from fresh poultry carcasses were collected during the period 2012-2013 from 16 different slaughterhouses located in the region of Algiers, Algeria.

The overall prevalence of *S.aureus* in freshly slaughtered poultry carcasses was 41.56%, with an individual prevalence of 40.63% and 45.71% for chicken and turkey respectively. From the 95 strains of *S.aureus* identified by biochemical tests, 82 (86.32%) isolates were *femA* positive using multiplex PCR. The investigation has also revealed the presence of both enterotoxins B and D, with a predominance of *seb* (13.33%) followed by *sed* (1.67%), in the chicken carcasses while in turkey only *sed* was detected (4.55%)

It has been found that strains of *S.aureus* of poultry origin can be enterotoxigenic with the predominance of genes encoding for enterotoxins *seb* in chicken and *sed* in turkey. As enterotoxins can be produced in adequate amounts to induce foodborne illnesses, these potential dangers must be considered in terms of a real risk to public health.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Poultry carcasses, Staphylococcal entérotoxine, Algiers.

Corresponding Author:
FaizaMebkhout
E-mail adress:faizamebkhout@yahoo.fr

Date of initial submission: 13-1-2018
Date of revised submission: 25-3-2018
Date of acceptance: 3-4-2018

INTRODUCTION

Recent studies have revealed that high risk of food-borne diseases is often related to the contamination of poultry carcasses by pathogens micro-organisms (Escudero-Gilete et al., 2007). Among the pathogen bacteria that maybe present in poultry carcasses is *Staphylococcus aureus*. Its presence in food indicates poor hygiene and improper storage conditions (Gundogan et al., 2005).

S.aureus is an opportunistic pathogen that can colonize the skin and mucous membranes particularly in the nose of both healthy humans and animals (Nader et al., 2016). In addition to colonizing various hosts, it can also be the origin of a wide range of different infections in poultry ranging from septicemia, pneumonia, endocarditis, and arthritis (Smyth and McNamee, 2008). Amongst the foodborne pathogens *S.aureus* is a major one contaminating meat products. It is considered the third largest cause of food related illnesses throughout the world (Achi and Madubuik, 2007; Aydin et al., 2011; Sasidharan et al., 2011).

S.aureus is characterized by its ability to produce a large variety of Staphylococcal enterotoxins (SEs) (A, B, C, D, E, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R and U), but 95 % of food poisoning are caused by the enterotoxins A, B, C, D and E (Letertre et al., 2003). It is notable that SEs are heat stable toxins. Indeed, the heat used in cooking and pasteurization is insufficient to destroy them. Moreover, they are difficult to be perceived in food due to the lack of taste and food appearance (Aycicek et al., 2005). For the case of food ingestion contaminated with SEs, food poisoning occurs shortly after, 30 min to 8 hrs while infected individuals usually recover from the toxicity within 24 - 48 hours (Argudin et al., 2010).

Based on recent published studies, just a little is known about enterotoxigenic *S.aureus* strains from poultry. Particularly in Algeria, the number of studies discussing the prevalence of enterotoxins genes of *S.aureus* in poultry meats is really limited. Therefore, the present study is aimed to determine the prevalence of *staphylococcus aureus* (*S.aureus*) by biochemical tests in poultry carcasses. It is also intend to detect the distribution of genes for classical staphylococcal enterotoxins A, B, C, D and E (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* and *see*) and for gene *femA*, specific for *S. aureus* species, using multiplex PCR.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection and microbiological analysis

A total of 385 samples of neck skins from fresh poultry carcasses were collected from 16 different slaughterhouses located in the region of Algiers, Algeria. These samples has been examined during 2012-2013. They consist of chicken carcasses (n=315), and turkey carcasses (n = 70). All samples were placed in sterile plastic bags and brought to the laboratory in cold chain and analyzed within the following 3 h. Microbiological analysis in this study has been carried out according to the international standard NF EN ISO 6888-1/A1 (ISO, 2004). Twenty-five portions of the samples were weighed into sterile stomacher bags diluted with 225 ml sterile buffered peptone water (BPW; Oxoid CM 509) and homogenized in a stomacher (Seward 400) for 2 min. The samples were diluted with BPW, and 0.1 ml portions of dilution levels were streaked on Baird-Parker (BP) agar (Oxoid CM 275) supplemented with egg yolk-tellurite emulsion (Oxoid SR 54) and incubated at 37°C for 24 - 48 h.

The colonies suspected for Staphylococci positive coagulase were cultured on 5% blood agar and identified by catalase, coagulase tests. *S. aureus* was identified by Staphaurex (Bio-Rad). The reference strain used for microbiological analysis was *S.aureus* ATCC 25923. The pure isolates were then stored at -20 °C in TSB-broth and 10% glycerol for future studies.

Statistical Analysis

Data collected from the detection of *S.aureus* on turkey and chicken were analyzed by SPSS Statistics 20 software, to test the significance of differences among the biochemical tests and the Polymerase-Chain Reaction (PCR), and the toxigenic potency of *S.aureus* between the two species (turkey and chicken).

Genomic DNA Extraction

The methodology of DNA extraction is taken from Sambrook and Russel, (2001). For nucleic acid isolation, 95 strains of *Staphylococcus* species isolated from poultry carcasses were activated on trypticase soya agar (TSA) (BioMérieux, France). After overnight incubation at 37°C, one to two colonies for each strain was re-suspended on 300 µl of TNE buffer (Tris- NaCl-EDTA-SDS) and then vortexed, 10 µl of lysozyme was added plus 200 µl of SETS (Sodium- EDTA- Tris- SDS). The mix was incubated at 37°C for 1 hour. After incubation

Table 1. Oligonucleotide primers sequences used for PCR amplification of *S. aureus*'s enterotoxins (SEs) genes.

Gene Primer	Oligonucleotide sequence	Size of amplified product (bp)	
<i>Sea</i>	GSEAR-1	GGTTATCAATGTGCGGGTGG	102
	GSEBR-2	CGGCACCTTTTCTCTTCGG	
<i>Seb</i>	GSEAR-1	GTATGGTGGTGTAAGTACTGAGC	164
	GSEBR-2	CCAAATAGTGACGAGTTAGG	
<i>Sec</i>	GSEAR-1	AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG	451
	GSEBR-2	CACACTTTTAGAATCAACCG	
<i>Sed</i>	GSEAR-1	CCAATAATAGGAGAAAATAAAAAG	278
	GSEBR-2	ATTGGTATTTTTTTTCGTTC	
<i>See</i>	GSEAR-1	AGTTTTTTTTCACAGGTCATCC	209
	GSEBR-2	CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC	
<i>femA</i>	GSEAR-1	AAAAAAGCACATAACAAGCG	132
	GSEBR-2	GATAAAGAAGAAACCAGCAG	

each tube was vortexed once every 15 min. Then, 10 µl of proteinase- K (Vivantis Technologies, Malaysia) and 100 µl of TNE were added. The final solution was vortexed and incubated at 50°C for 1 h. After that each microcentrifuge tube was vortexed once every 15 min. A volume of 150 µl of NaCl (5M) was added and vortexed. The obtained DNA was harvested by centrifugation at 10.000 rpm for 10 min at room temperature. The supernatant was transferred to a new microcentrifuge tube for washing by 99% cold ethanol and then stored at -20°C overnight. A second washing of DNA was done by 70% cold ethanol. The sample was dried for 10-30 min and re-suspend in 100 µl sterile distilled water and stored at -20°C until PCR analysis.

Multiplex PCR Conditions

The multiplex PCR has been performed as described by Mehrotra et al. (2000). The primers used in the multiplex PCR are presented in Table 2. Multiplex PCR mix contained 400 µM deoxynucleoside triphosphates (dNTPs); 5 µl of 10X reaction buffer (100 mM Tris-HCl [pH 8.3], 500 mM KCl); 4 mM MgCl₂; 20 pmol of each *sea*, *seb*, *sec*, *see*, and *femA* primers; 40 pmol of *sed* primers; 2.5 U of *Taq* DNA polymerase (AmpliTaq DNA polymerase, Perkin-Elmer), and 5µl of template DNA. The final volume was adjusted by adding 50µl with sterile ultra-pure water. DNA thermocycling (CFX 96thermal cycler, Bio-Rad)was carried out with the following thermal cycling profile: an initial denaturation at 94°C for 5 min was followed by 35 cycles of

amplification (denaturation at 94°C for 2 min, annealing at 57°C for 2 min, and extension at 72°C for 1 min), ending with a final extension at 72°C for 7 min. Ten microliters of the PCR products were then analyzed by electrophoresis on 2% agarose (BIOMAX) gel, stained with ethidium bromide. Note that the DNA fragments were visualized using a UV transluminator (EC3, UVP Biomaging systems, Inc (BioMax) while immigration was made by Electrophoresis Power Supply (Model EC 1000 XL Thermo Scientific, Inc.) in TBE buffer (0.09 M Tris-HCl, 0.09 M boric acid, 2 mM EDTA, pH 8.3) for 45 min at 120. Primers are shown in Table 1.

RESULTS

Table 2 illustrates the overall prevalence of *S.aureus* in freshly slaughtered poultry carcasses that are collected from 16 slaughterhouses. The prevalence was 160 of

Table 2. Isolation of *S.aureus* from chicken and turkey carcasses

Type of meat sample	No. of samples	<i>S. aureus</i> positive samples	
		No.	%
Chicken carcasses	315	128	40.63
Turkey carcasses	70	32	45.71
Total	385	160	41.56

Table 3. Confirmation of the isolated strains as *S.aureus* by multiplex PCR

Origin of the isolates	No. of the isolates	PCR confirmed as <i>S. aureus</i> isolates	
		<i>FemA</i> positive	%
Chicken carcasses	70	60	85.71
Turkey carcasses	25	22	88.00
Total	95	82	86.32

385 samples (41.56%), with an individual prevalence of (40.63%) and (45.71%) for chicken and turkey respectively.

Table 3 shows the confirmation of the isolated strains as *S.aureus* by multiplex PCR. The multiplex PCR has revealed that 82 (86.32%) from these isolates were *femA* positive, i.e., 60 (85.71%) in chicken and 22 (88%) for turkey. Statistical analysis showed no significant difference between the two methods (Classical method and PCR) ($p < 0.05$).

It has also been observed that 12.19% of *S.aureus* isolates encoded classical staphylococcal enterotoxins,

i.e., nine (15%) from chicken and 1 (4%) from turkey carcasses. Statistical analysis showed no significant difference for the prevalence of enterotoxigenic isolates from chicken carcasses and turkey for $p < 0.05$. Moreover, detected the presence of both enterotoxins B and D in poultry carcasses with a prevalence of 9.76% and 2.44% respectively.

As indicates in Figure 1 and Table 4, isolates from chicken present both enterotoxins B and D, with a predominance of *seb* (13.33%) followed by *sed* (1.67%), while in turkey only *sed* was detected (4.55 %). It is notable that none of the isolates was positive for *sea*, *sec* or *see* genes.

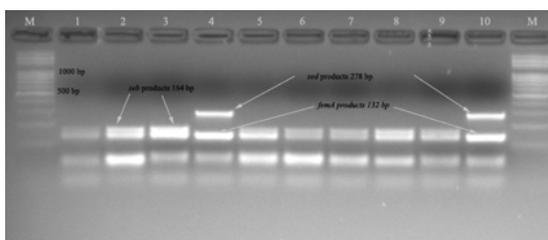


Figure 1. Agarose gel electrophoresis patterns showing multiplex PCR amplification. Lanes M represent 100bp DNA ladder. Lanes 1 to 7 represent PCR amplicons from primer set A. Lanes 8 to 10 represent PCR amplicons from set B. Lanes: 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 and 9 present the characteristic band of *seb* while 4 and 10 present the characteristic band of *sed*. In all cases the band *femA* is present.

DISCUSSION

The isolation of *S.aureus* from chicken and turkey carcasses (41.56%) confirms the contamination of the poultry carcasses by *Staphylococcus aureus*. Indeed, the present study is mainly focused on the determination of the prevalence of *S.aureus* in freshly slaughtered chicken and turkey, in 16 slaughterhouses in the Wilaya of Algiers. Moreover, it also aims to the molecular characterization of the isolated strains by highlighting the presence of enterotoxins genes.

The prevalence of *S.aureus* recorded for chicken (40.63%) was in good agreement with those advocated

Table 4. Distribution of *Staphylococcus aureus* enterotoxins genes in poultry carcasses

Origin of isolates	Screened isolates	Se positive (%)	Types of enterotoxin' genes(%)				
			<i>Sea</i>	<i>Seb</i>	<i>Sec</i>	<i>Sed</i>	<i>See</i>
Chicken carcasses	60	9 (15.0)	0 (0)	8 (13.33)	0 (0)	1 (1.67)	0 (0)
Turkey carcasses	22	1 (4.55)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4.55)	0 (0)
Total	82	10 (12.19)	0 (0)	8 (9.76)	0 (0)	2 (2.44)	0 (0)

by Citak and Duman (2011) and Nader et al.(2016). In Algeria a study conducted in the region of Biskra, carried out on 60 chicken carcasses revealed a prevalence similar to that obtained in the present study (Alloui et al., 2013). However, lower prevalence rates of *S.aureus* were found by others studies (Khallaf et al., 2014; Sarrafzadeh Zargar et al., 2014).

In our study, the recorded prevalence of *S.aureus* present in turkey carcasses (45.71%) was higher than that obtained by Sarrafzadeh Zargar et al.(2014) (16.6%) and El Allaoui (2013) (41.6%).

Two other studies that have been carried out in Turkey recorded a prevalence of 9.61% (Kiliç et al., 2009) and 48% (Bystron et al., 2005) of coagulase-positive *Staphylococcus* from meat and hash meat respectively.

The high prevalence recorded in both species often indicates a lack of good hygiene practices(Lindblad et al., 2006; Pacholewicz et al., 2016) which are linked to the multiple handling of carcasses during slaughter processing. The staff represents a source of contamination spreading the germs by inadequate clothing hygiene, or by hosting (sores, angina, sinusitis and nasopharyngitis).

The lack of control of good manufacturing practices can also be at the origin of these contaminations-multiple contacts with the equipment: tables, bags, knives, towels, scalding bath and feathery (Azelmad et al., 2017; Kotula and Pandya, 1995;Mead et al., 1993).

It could also be related to the sanitary status of poultry intended for slaughter (carried by the skin and feathers, or various pathologies as osteomyelitis, arthritis and synovitis).

The variations in the prevalence between our results and other studies, that have been carried-out in other countries, can be attributed to several factors, including the size of the samples tested, the sampling mode(Whole chicken or parts of carcasses), the seasons in which the sampling was done, the methods of isolation used and the hygiene conditions of the slaughterhouse(Teramoto et al., 2016; Wang et al., 2013).

The use of PCR and biochemical identification to confirm *S.aureus* strains revealed similar results (average86.32%), which confirms the concordance between the two techniques, already reported by the study ofBenhamed (2014).

The present study shows that the poultry isolates can

be enterotoxigenic (12.19%). These results are in good agreement with the previous published studies which revealed that the percentage of *S.aureus* strains producing enterotoxin A to E, bovine and avian, can vary from 0 to 15% (Bergdoll, 1991; Genigeorgis, 1989;Rosec et al., 1997). More recent studies showed that the genes encoding the classical enterotoxins, were absent or occur in less than 3% in *S.aureus* strains isolated from poultry (Hazariwala et al., 2002; Normanno et al., 2007; Smyth et al., 2005).

As for the chicken some authors note relatively higher percentages. For instance, Nader et al.(2016)show that 7 strains out of 12 (58.3%) of *S.aureus* isolated from chicken meat were enterotoxigenic.They also reported the presence of *sea*, *seb* and *sed* genes in chicken meat isolates, with percentages of 33.3%; 8.3% and 16.7% respectively.

Kitai et al.(2005) revealed that 21.7% of *S.aureus* strains, isolated from chicken carcasses were enterotoxigenic. Moreover, Nemati (2013) observed that71% of *S.aureus* strains isolated from chicken nose and cloaca were enterotoxigenic. As for the turkey isolates, Koluman et al.(2011) showed that the production of enterotoxins in turkey meat was 36%.

However, the present study demonstrated that the prevalence of enterotoxigenic isolates from chicken carcasses (15%) and turkey (4.54%) is relatively lower.

Although, there was a variability in the frequency of different enterotoxins types production, in chicken we observed the dominance of *seb* gene with a rate of 13.33% compared to the *sed gene* (1.67%).Similar results were stated by Kitai et al.(2005). Nevertheless, only type D enterotoxins (4.54%) were detected in turkey isolates. This variability between the two species had not yet been defined.

Madahi et al.(2014) showed that *S.aureus* strains isolated from chicken nuggets present staphylococcus enterotoxins genes, with values of 33.33%; 4.16%; 12.50%; 8.33%, 12.50%; 12.50% for *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *sea + sec* and *sea + sed* respectively. No *see* gene was detected. Another study by Nemati (2013) also reported that 33.3% of *S.aureus* strains isolated from the nose and cloaca of healthy chicken were positive for *sea* and 5% had a mixed *sea + egc* enterotoxins production, whereas the genes encoding *seb*, *sec*, *sed* and *see* were absent.

A study of the incidence of enterotoxigenic *S.aureus* strains in turkey meat, was carried out by Bystron et

al. (2005) presenting that from the 4 coagulase-positive *Staphylococcus* strains, isolated from 11 samples of turkey meat the 3 strains had enterotoxin genes of type B and one had type C. Adams and Mead (1983) isolated enterotoxigenic *Staphylococci* in 2 of the 3 turkey slaughterhouses studied. They reported that in the first slaughterhouse 60% of the 55 isolates produced enterotoxin C while in slaughterhouse B, 4% of the 41 isolates produced enterotoxin D and 2% produced enterotoxin F. No enterotoxigenicity was detected from the 50 isolates in the third slaughterhouse.

As type A enterotoxin is usually typical for the human origin isolates (Orden et al., 1992) and type C enterotoxin is frequently produced by bovine origin isolates (da Silva et al., 2005; Jorgensen et al., 2005; Katsuda et al., 2005) could explain their absence in poultry studies.

The variability observed in the frequency of enterotoxin production by *S.aureus* strains may be related to the origin of the studied isolates (food or other) and their geographic origin (Bergdoll, 1991; Genigeorgis, 1989; Larsen et al., 2000; Rosec et al., 1997).

Type A, B and D enterotoxins are implicated in 95% of reported foodborne illness outbreaks (Letertre et al., 2003). During the years 2001-2003 in Taiwan, enterotoxins A, B, C, and D were detected with respective percentages of 29.2%; 19.7%; 6.8% and 2.0% in patients associated with staphylococcal foodborne illness outbreaks (Chiang et al., 2008). Furthermore, more than 50% of staphylococcal food-borne infections were caused by type A enterotoxin. In addition, *sea* and *seb* enterotoxins are the two most important agents causing gastroenteritis, they are also the most implicated in foodborne illness (> 60%) in the United States and England (Kluytmans and Wertheim, 2005).

CONCLUSION

We have experimentally determined the prevalence and enterotoxins genes of *S.aureus* in fresh poultry carcasses that are collected from 16 different slaughterhouses located in the region of Algiers, Algeria. The investigation has revealed that the microbial risk by *S.aureus* in poultry carcasses is not negligible. It has been found that the prevalence of *S.aureus* in 385 carcasses was 41.56% with an individual prevalence of 40.63% and 45.71% for chicken and turkey respectively. The strains of *S.aureus* of avian origin can be enterotoxigenic with the predominance of the genes encoding for enterotoxin *seb* in chicken and *sed* in turkey.

When meat is preserved under favorable conditions for germs multiplication and toxinogenesis, enterotoxins can be produced in sufficient amount to trigger foodborne illnesses. These potential dangers must be considered in terms of real risk to public health. To ensure the safety and hygienic quality of meat, the application of good hygiene practice (GHP) and the implementation of HACCP in poultry slaughterhouses has become an absolute necessity to protect consumer health.

ACKNOWLEDGEMENT

We are grateful for the staff of laboratory of microbiology of University Mustafa Kemal, Hatay for their excellent technical support.

The first author would like to thank Omar Behar for his assistance during preparation of the article.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest. ■

REFERENCES

- Achi O, Madubuike C (2007) Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from retail ready-to-eat food in Nigeria. *Res J Microbiol* 2: 516-523.
- Adams BW, Mead GC (1983) Incidence and properties of *Staphylococcus aureus* associated with turkeys during processing and further-processing operations. *J Hyg (Lond)* 91: 479-490.
- Alloui N, Guergueb N, Ayachi A (2013) Relationship between the slaughtering hygienic practices and bacterial contamination of poultry carcass in the Biskra region (Algeria). *Actes des 10^{èmes} Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras*. ITAVI, La Rochelle, France., pp. 480-484.
- Argudin MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR (2010) Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins* 2: 1751-1773.
- Aycicek H, Cakiroglu S, Stevenson TH (2005) Incidence of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara, Turkey. *Food Control* 16: 531-534.
- Aydin A, Sudagidan M, Muratoglu K (2011) Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *Int J Food Microbiol* 148: 99-106.
- Azelmad K, Hamadi F, Mimouni R, Amzil K, Latrache H, Mabrouki M, El Boulani A (2017) Adhesion of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus xylosum* to materials commonly found in catering and domestic kitchens. *Food Control* 73: 156-163.
- Benhamed N (2014) Evaluation de la qualité microbiologique et sanitaire du lait cru de vache dans la région d'Oran, Algérie : Etude du profil moléculaire virulent des *Staphylococcus aureus* impliquées dans les mammites bovines., *Biologie*. Université d'Oran, Oran, Algérie, p. 122.
- Bergdoll MS (1991) Symposium on microbiology update: old friends and new enemies. *Staphylococcus aureus*. *J Assoc Off Anal Chem* 74: 706-710.
- Bystrom J, Molenda J, Bania J, Kosek-Paszowska K, Czerw M (2005) Occurrence of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* in raw poultry meat. *Pol J Vet Sci* 8: 37-40.
- Chiang YC, Liao WW, Fan CM, Pai WY, Chiou CS, Tsen HY (2008) PCR detection of *Staphylococcal* enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. *Int J Food Microbiol* 121: 66-73.
- Citak S, Duman T (2011) *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* from raw chicken samples in Turkey: Prevalence and antimicrobial resistance. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 9: 156-158.
- da Silva ER, do Carmo LS, da Silva N (2005) Detection of the enterotoxins A, B, and C genes in *Staphylococcus aureus* from goat and bovine mastitis in Brazilian dairy herds. *Vet Microbiol* 106: 103-107.
- El Allaoui A, Rhazi Filali F, Oumokhtar B (2013) Prevalence and Antibiogram Study of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in turkey meat in Morocco. *Anal Pharmaceut Acta* 4: 270.
- Escudero-Gilete ML, González-Miret ML, Temprano RM, Heredia FJ (2007) Application of a multivariate concentric method system for the location of *Listeria monocytogenes* in a poultry slaughterhouse. *Food Control* 18: 69-75.
- Genigeorgis CA (1989) Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. *Int J Food Microbiol* 9: 327-360.
- Gundogan N, Citak S, Yucel N, Devren A (2005) A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. *Meat Sci* 69: 807-810.
- Hazariwala A, Sanders Q, Hudson CR, Hofacre C, Thayer SG, Maurer JJ (2002) Distribution of staphylococcal enterotoxin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from poultry and humans with invasive staphylococcal disease. *Avian Dis* 46: 132-136.
- ISO (2004) NF EN ISO 6888-1/A1, Microbiology of food and animal feeding stuffs -Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)-Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.
- Jorgensen HJ, Mork T, Hogasen HR, Rorvik LM (2005) Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. *J Appl Microbiol* 99: 158-166.
- Kiliç S, Kuplulu O (2009) Detection the enterotoxin producing capacity of coagulase positive *Staphylococcus* by EIA (Enzyme Immuno Assay) isolated from turkey meat . *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 56, 183-186, 2009
- Katsuda K, Hata E, Kobayashi H, Kohmoto M, Kawashima K, Tsunemitsu H, Eguchi M (2005) Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitic milk on the basis of toxin genes and coagulase gene polymorphisms. *Vet Microbiol* 105: 301-305.
- Khallaf M, Benbakhta B, Nasri I, Bouchaib S, Senouci S, Ennaji MM (2014) Prevalence of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat marketed in Rabat, Morocco. *International Journal of Innovation and Applied Studies* 7: 1665-1670.
- Kitai S, Shimizu A, Kawano J, Sato E, Nakano C, Kitagawa H, Fujio K, Matsumura K, Yasuda R, Inamoto T (2005) Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken meat throughout Japan. *J Vet Med Sci* 67: 269-274.
- Kluytmans JAJW, Wertheim HFL (2005) Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Prevention of Nosocomial Infections. *Infection* 33: 3-8.
- Koluman A, Unlu T, Dikici A, Tezel A, Akcelik E, Burkan Z (2011) Presence of *staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in different foods. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 17 S55-S60.
- Kotula KL, Pandya Y (1995) Bacterial contamination of broiler chickens before scalding. *J Food Prot* 58: 1326-1329.
- Larsen HD, Sloth KH, Elsberg C, Enevoldsen C, Pedersen LH, Eriksen NH, Aarestrup FM, Jensen NE (2000) The dynamics of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in nine Danish dairy herds. *Vet Microbiol* 71: 89-101.
- Letertre C, Perelle S, Dilasser F, Fach P (2003) Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology* 95: 38-43.
- Lindblad M, Lindmark H, Lambert ST, Lindqvist R (2006) Microbiological baseline study of broiler chickens at Swedish slaughterhouses. *J Food Prot* 69: 2875-2882.
- Madahi H, Rostami F, Rahimi E, Safarpour Dehkordi F (2014) Prevalence of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* Isolated From Chicken Nugget in Iran. *Jundishapur J Microbiol* 7: e10237.
- Mehrotra M, Wang G, Johnson WM (2000) Multiplex PCR for Detection of Genes for *Staphylococcus aureus* Enterotoxins, Exfoliative Toxins, Toxic Shock Syndrome Toxin 1, and Methicillin Resistance. *Journal of Clinical Microbiology* 38: 1032-1035.
- Nader YM, Reham MA, Engy FE (2016) Incidence of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* in Poultry Meat. *Global Veterinaria* 16: 570-578.
- Nemati M (2013) Prevalence of Enterotoxin Genes in Poultry *Staphylococcus aureus* Isolates. *Bull Env Pharmacol Life Sci* 3: 277-281.

- Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A, Santagada G, Firinu A, Crisetti E, Celano GV (2007) Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int J Food Microbiol* 115: 290-296.
- Orden JA, Goyache J, Hernandez J, Domenech A, Suarez G, Gomez-Lucia E (1992) Detection of enterotoxins and TSST-1 secreted by *Staphylococcus aureus* isolated from ruminant mastitis. Comparison of ELISA and immunoblot. *J Appl Bacteriol* 72: 486-489.
- Pacholewicz E, Sura Barus SA, Swart A, Havelaar AH, Lipman LJA, Luning PA (2016) Influence of food handlers' compliance with procedures of poultry carcasses contamination: A case study concerning evisceration in broiler slaughterhouses. *Food Control* 68: 367-378.
- Rosec JP, Guiraud JP, Dalet C, Richard N (1997) Enterotoxin production by staphylococci isolated from foods in France. *Int J Food Microbiol* 35: 213-221.
- Sambrook J, W. Russel D (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd edition).
- Sarrafzadeh Zargar MH, Hosseini Doust R, Mohebbati Mobarez A (2014) *Staphylococcus aureus* Enterotoxin A Gene Isolated From Raw Red Meat and Poultry in Tehran, Iran. *Int J Enteric Pathog* 2: 2-16085.
- Sasidharan S, Prema B, Yoga LL (2011) Antimicrobial drug resistance of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1: 130-132.
- Smyth DS, Hartigan PJ, Meaney WJ, Fitzgerald JR, Deobald CF, Bohach GA, Smyth CJ (2005) Superantigen genes encoded by the egc cluster and SaPIbov are predominant among *Staphylococcus aureus* isolates from cows, goats, sheep, rabbits and poultry. *J Med Microbiol* 54: 401-411.
- Smyth JA, McNamee PT (2008) Chapter 17 - *Staphylococci, streptococci and enterococci A2* - Pattison, Mark. in: McMullin, P.F., Bradbury, J.M., Alexander, D.J. (Eds.), *Poultry Diseases* (Sixth Edition), W.B. Saunders, Edinburgh: pp. 191-199.
- Teramoto H, Salaheen S, Biswas D (2016) Contamination of post-harvest poultry products with multidrug resistant *Staphylococcus aureus* in Maryland-Washington DC metro area. *Food Control* 65: 132-135.
- Wang X, Tao X, Xia X, Yang B, Xi M, Meng J, Zhang J, Xu B (2013) *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken in China. *Food Control* 29: 103-106.