

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة ابن خلدون تيارت



UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET  
معهد علوم البيطرة  
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES  
قسم الصحة الحيوانية  
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE



## Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de Master complémentaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Vétérinaires

Présenté par:

CHEBBOUBI Ilhem

Thème :

**Recherche et caractérisation des souches de  
*Staphylococcus aureus* d'origine canine chez les  
chiens reçus au service de pathologie des  
carnivores**

### Jury

Président : Dr. SLIMANI Khaled Mabrouk

Encadreur : Dr. BOUMEZRAG Assia

Examineur : Dr. CHIKHAOUI Mira

### Grade

MCB

MCB

MCA

Année universitaire 2019 / 2020

# *Remerciements*

*En toute simplicité, je tiens à remercier Allah de m'avoir guidé, aidé et éclairé mon chemin.*

*Un grand merci à ma directrice de thèse **Dr BOUMEZRAG Assia** pour m'avoir accueillie dans son unité de recherche pour la confiance qu'elle m'a accordée pour la réalisation de ce projet et de m'avoir pour cela si bien encadrée.*

*Je lui suis très reconnaissante de l'aide et des conseils qu'elle m'a apportés pendant l'ensemble du travail de ma thèse,  
Pour sa gentillesse, sa disponibilité, et ses conseils judicieux  
Puisse-t-elle trouver dans ce travail le témoignage de mon respect et ma profonde gratitude.*

*Je souhaite remercier l'ensemble des membres du jury,  
**Dr. SLIMANI Khaled** de m'avoir fait l'honneur d'accepté de présider ce jury et **Dr. CHIKHAOUI Mira** d'accepter d'être mon examinateur.  
Je suis honorée et profondément reconnaissante de leur siège dans mon jury de thèse.*

*Je tiens à remercier également **Mlle AIT NAMANE Karima** pour tout le temps qu'elle m'a accordé tout au long de ce travail pour ses efforts, sa patience et son amitié le travail avec elle fût un réel plaisir, toujours dans la joie et la bonne humeur.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*A ma **mère**, je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour ses sacrifices consentis et pour toute son assistance, quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point la remercier comme il se doit.*

*A mes sœurs **Asma, Lilia et Douaa** qui m'ont constamment soutenue tout au long de ce travail je ne vous remercierai jamais assez pour cela.*

*A mes chers proches **Rachda et Mouloud** qui m'ont tant apporté par leur vision de la vie et qui m'ont permis de voir les choses différemment dans les moments les plus difficiles. Pour leur accueil, leurs précieux conseils et leur soutien exemplaire.*

*A toute les personnes de ma grande famille.*

*A mes meilleures amies **Djihad et Noudjoud** pour leur amour, leur amitié et leur indéfectible soutien. Puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.*

*À ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail, je les dédie du fond du cœur.*

*Table*  
*des matières*

## Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des Abréviations.....	i
Liste des illustrations.....	ii
Introduction.....	1

### Partie bibliographique

#### CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES STAPHYLOCOQUES

I.1. Historique.....	2
I.2. Taxonomie.....	2
I. 3. Habitat.....	2
I.4. Classification.....	3
I. 5. Pathogénicité.....	3
I.6. Facteurs de virulence.....	3
I.6.1. Composants de la paroi et de la capsule.....	4
I.6.1.1. Capsule.....	4
I.6.1.2. Peptidoglycane et acides lipoteichoïques.....	4
I.6.1.3. Protéines de surface.....	5
I.6.1.3.1. Adésines.....	25
I.6.1.3.2. La protéine A.....	5
I.6.2. Protéines sécrétées.....	6
I.6.2.1. Enzymes.....	6
I.6.2.1.1. Coagulase libre.....	6
I.6.2.1.2. Fibrinolysine.....	6
I.6.2.1.3. Hualuronidase.....	6
I.6.2.1.4. Désoxyribonucléase (DNase).....	6
I.6.2.1.5. Lipases.....	6
I.6.2.1.6. Catalase.....	7
I.6.2.1.7. Protéases.....	7
I.6.2.1.1.8. Pénicillinase.....	7
I.6.2.2. Toxines.....	7
I.6.2.2.1. $\alpha$ -hémolysine.....	7

I.6.2.2.2. $\beta$ -hémolysine .....	7
I.6.2.2.3. $\delta$ -hémolysine .....	8
I.6.2.2.4. $\gamma$ -hémolysine .....	8
I.6.2.2.5. Leucocidine.....	8
I.6.2.2.6. Exfoliatines .....	8
I.6.2.2.7. Entérotoxines .....	9
I.6.2.2.8. Toxine du choc toxique staphylococcique (TSST).....	9
I.7. Pouvoir pathogène .....	9
I.7.1. Chez l'Homme .....	9
I.7.1.1. les infections suppuratives .....	9
I.7.1.2. Les infections toxiques .....	10
I.7.2. Chez les animaux .....	10
I.8. Caractères bactériologiques .....	11
I.8.1. Caractères morphologiques.....	11
I.8.2. Caractères cultureux.....	11
I.9. Caractères biochimiques .....	12
I.9.1. La coagulase.....	12
I.9.1.1. La coagulase libre ou staphylocoagulase .....	13
I.9.1.2. La coagulase liée ou clumping factor .....	13
I.9.2. La DNase thermostable.....	13
I.9.3. La catalase.....	13
I.9.4. La fermentation du mannitol.....	13

## **CHAPITRE II : RESISTANCE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS AUX ANTIBIOTIQUES**

II. 1. Les antibiotiques.....	15
II.2. Antibiorésistance .....	16
II.2.1. Résistance naturelle constitutionnelle .....	16
II.2.2. Résistance acquise .....	16
II.2.2.1. Chromosomique.....	16
II.2.2.2. Extra-chromosomique .....	16
II.3. Mécanismes de résistance.....	17
II.4. Résistance de Staphylococcus aureus aux antibiotiques .....	17
II.4.1. Résistance aux bêta-lactamines .....	17

II.4.1.1. Résistance par production de $\beta$ -lactamases .....	18
II.4.1.2. Résistance par modification ou acquisition de nouvelles protéines .....	19
II.4.2. Résistance à la méthicilline .....	19
II.4.3. Résistance aux tétracyclines .....	20
II.4.4. Résistance aux sulfamides et le triméthoprimé .....	21
II.4.5. Résistance aux aminosides .....	22
II.4.6. Résistance aux glycopeptides .....	23
II.4.7. Résistance aux macrolides.....	23
II.4.8. Résistance aux Phénicolés .....	24
II.4.9. Résistance aux Fluoroquinolones .....	25
II.4.10. Résistance aux Fusidanines .....	25

### **Partie expérimentale**

#### **CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES**

III.1 Objectifs du travail.....	26
III.2. Lieu et durée de l'étude.....	26
III.3. Matériel .....	26
III.3.1. Matériel biologique .....	26
III.3.2. Matériels de laboratoire.....	26
III.4. Méthodes .....	27
III.4.1. Les cas étudiés.....	27
III.4.2. Démarche expérimentale.....	27
III.4.2.2. Diagnostic bactériologique.....	29
III.4.2.2.1. Isolement .....	29
III.4.2.2.2. Identification des souches .....	29
III.4.2.2.3. Antibiogramme.....	30

#### **CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION**

IV.1. Diagnostic bactériologique .....	32
IV.1.1. Nombre des prélèvements positifs .....	32
IV.1.2. Classification des prélèvements positifs selon leurs natures .....	32
IV.1.3. Identification des souches isolées .....	33
IV.1.3.1. Aspect macroscopique .....	33
IV.1.3.2. Aspect microscopique .....	33
IV.1.3.3. Test de la catalase .....	33

IV.1.3.4. Identification des espèces de Staphylococcus par galerie Api Staph.....	34
IV.1.4. Antibiogramme .....	36
Conclusion.....	38
Références bibliographiques .....	39
Annexes	
Résumé.	



## LISTE DES ABREVIATIONS

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AHL** : Amoxicilline

**Ala** : Alanine

**AMC** : Amoxicilline + Acide clavulanique (Augmentin)

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ARNt** : Acide Ribonucléique de transfert

**Aw** : Activity water

**BORSA** : Bordeline *Staphylococcus aureus*

**CN** : Gentamicine

**DHFR** : Dihydrofolate réductase

**DHPS** : Dihydroptéroate synthétase

**DNase** : Déoxyribonucléase

**FOX** : Cefoxitine

**GC%** : Pourcentage en guanine + cytosine du génome (anciennement coefficient de Chagraff)

**IFN** : Interférons

**Ig M** : Immunoglobuline M

**IL** : Interleukines

**LTA** : acides lipotéichoïques (« LipoTeichoic Acids »)

**Mb** : méga-bases

**MLS** : Macrolides, Lincosamides et Synergystines

**MODSA** : Modified *Staphylococcus aureus*

**MSCRAMMs** : Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules

**OX** : Oxacilline

**P** : Pénicilline G

**PABA** : Acide para-amino benzoïque

**pH** : Potentiel hydrogène

**PLP** : Protéines liant la pénicilline

**PLP2a** : Protéines liant la pénicilline additionnelle

**R** : Résistance

**S** : Sensible

**SARM** : Staphylococcus Aureus Résistant à la Méthicilline

**SASM** : Staphylococcus Aureus Sensible à la Méthicilline

**SCC*mec*** : Staphylococcal cassette chromosome *mec*

**SCN** : Staphylocoque à coagulase négative

**SCP**: Staphylocoque à coagulase positive

**SERAMs** : Secretable expanded repertoire adhesive molecules

**SXT**: Trimethoprim- sulfamethoxazol

**TA** : Acides téichoïques

**TE** : Tétracyclines

**TNF** : Tumor necrosis factor

**TR** : Très résistante

**TS** : Très sensible

**TSST-1** : Toxine du choc toxique staphylococcique

**WTA** : Acides téichoïques de paroi « Wall Teichoic Acids »

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

### LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01:</b>	Facteurs de virulence de <i>staphylococcus aureus</i> .....	04
<b>Figure 02:</b>	Mécanisme d'action des exfoliatines.....	09
<b>Figure 03:</b>	Mécanismes d'action des antibiotiques.....	15
<b>Figure 04:</b>	Structure du noyau beta-lactame.....	18
<b>Figure 05:</b>	Mécanisme de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> à la méthicilline par PLP2.....	20
<b>Figure 06:</b>	Résistance aux tétracyclines .....	21
<b>Figure 07:</b>	Mécanisme d'action des sulfamides et le triméthoprim.....	22
<b>Figure 08:</b>	Mécanisme d'action et de résistance aux glycopeptides.....	23
<b>Figure 09:</b>	Mécanisme de résistance aux macrolides.....	24
<b>Figure 10:</b>	Organigramme du protocole expérimental.....	27
<b>Figure 11:</b>	Pourcentage des prélèvements positifs et négatifs à la culture.....	32
<b>Figure 12:</b>	Pourcentage des prélèvements positifs selon leurs natures.....	32
<b>Figure 13:</b>	Pourcentage des espèces du genre <i>staphylococcus aureus</i> dans tous les prélèvements.....	34
<b>Figure 14:</b>	Pourcentage des espèces du genre <i>staphylococcus</i> identifiées par Galerie API Staph dans chaque prélèvement.....	35

### LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01:</b>	Différents caractères bactériologiques de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
<b>Tableau 02:</b>	Matériel et produits utilisés.....	26
<b>Tableau 03:</b>	Les cas reçus en clinique et les prélèvements effectués.....	28
<b>Tableau 04:</b>	Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme standard.....	31
<b>Tableau 05:</b>	Tests de pré-identification des souches de <i>Staphylococcus</i> .....	33
<b>Tableau 06:</b>	Sensibilité des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> d'origine nasale aux antibiotiques.....	36
<b>Tableau 07:</b>	Sensibilité des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> d'origine oculaire aux antibiotiques.....	36
<b>Tableau 08:</b>	Sensibilité des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> d'origine auriculaire aux antibiotiques.....	37

# *Introduction*

## Introduction

---

*Staphylococcus aureus* est un commensal parmi les plus fréquents de la flore normale, il est également très souvent rencontré en pathologie animale à l'origine d'une grande variété d'infections. L'expression clinique de ces infections dépend de nombreux facteurs de virulence que *S. aureus* est capable de produire. En effet, les infections staphylococciques relèvent d'un véritable problème de santé tant par la virulence de la bactérie que par l'émergence de souches multirésistantes aux antibiotiques.

*Staphylococcus aureus* est naturellement sensible à presque tous les antibiotiques mais il a montré au cours de l'histoire une incroyable faculté à s'adapter rapidement à la pression antibiotique qui a engendré une résistance. Cette résistance est liée à sa grande plasticité génomique par acquisition ou par apport des gènes de résistance.

Chez *S. aureus*, l'émergence de la résistance aux antibiotiques peut être considérée comme une série de vagues de résistance. La première vague correspond à l'introduction de la pénicilline dans les années 1940 et à l'apparition quelques années plus tard de souches résistantes produisant des enzymes, les pénicillinases, qui inactivent la pénicilline. La deuxième vague correspond au développement d'antibiotiques non sensibles aux  $\beta$ -lactamases (méthicilline, oxacilline) et d'inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique). Dans les années 1960, des premières souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline SARM ayant acquis le gène *mecA* codant pour une nouvelle protéine de liaison à la pénicilline ont alors émergé.

La conséquence de cette antibiorésistance est bien l'augmentation du taux de bactéries multirésistantes ainsi que les impasses thérapeutiques réduisant les possibilités de traitement en cas d'infection.

Ce travail exposera dans un premier temps les généralités sur la bactérie, les facteurs de virulence et la pathogénie de *S. aureus* ainsi que ses caractères bactériologiques, et dans un deuxième temps un aperçu sur les antibiotiques, leurs modes d'actions et les mécanismes de la résistance bactérienne de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques.

Ainsi, pour contrôler l'augmentation du taux de la multirésistance et tenter de prévenir les complications qui en résultent, l'objectif de notre travail a été axé sur la caractérisation des souches de *Staphylococcus aureus* isolées chez des chiens consultés au service de pathologie des carnivores au sein de l'institut des sciences vétérinaire de Tiaret, ainsi que de tester leur sensibilité à certaines familles d'antibiotiques.

*Partie*  
*bibliographique*

**Chapitre I :**  
***Généralités sur les***  
***staphylocoques***

**I.1. Historique**

- En 1870, *Staphylococcus aureus* fut découvert lors de l'étude microscopique d'échantillons de pus (**Orenstein, 2011**). Ces bactéries de forme sphérique furent initialement nommées «*micrococci*», du grec *kokkos* pour grain.
- En 1880, Alexander Ogston, chirurgien écossais disciple de Lister, fut le premier à identifier formellement les *micrococci* comme la cause des abcès suppurés. La poursuite de ses travaux aboutit, en 1882, à la description des staphylocoques (du grec « staphyle » pour grappe de raisin), par opposition aux streptocoques (coques en chaîne) précédemment décrits par Billroth en 1874.
- En 1884, Anton J. Rosenbach, chirurgien allemand, isola deux souches différentes de staphylocoques qu'il baptisa en fonction de la couleur des colonies obtenues: *S. aureus* (dorées) et *S. albus* (blanches) (**Accarias, 2014**). en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (**Couderc et al., 2014**).

**I.2. Taxonomie**

Les données de phylogénie moléculaire associées à des analyses chimiques ont permis de classer les staphylocoques comme suit (**Witham, 2009 ; Wattam et al., 2014**) :

- **Règne** : Bacteria
- **Phylum** : Firmicutes
- **Classe** : Bacilli
- **Ordre** : Bacillaceae
- **Famille** : *Staphylococcaceae*
- **Genre** : *Staphylococcus*

**I.3. Habitat**

Les Staphylocoques sont des bactéries très ubiquitaires et saprophytes qui colonisent plusieurs milieux (air, eau, sol). Certaines espèces appartiennent à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux dont la niche principale est la fosse nasale (**Werckenthin et al., 2001**).

*Staphylococcus aureus* fait partie de la flore commensale normale des mammifères et des oiseaux et semble, contrairement à certaines espèces de staphylocoques qui ont un hôte préférentiel, capable de coloniser tous les mammifères marins et terrestres (**Hennekine et al., 2003**). En effet, cette espèce est présente sur la surface de la peau et des muqueuses avec une



prédilection pour les fosses nasales, les glandes de la peau, le cuir chevelu, les mains, la bouche, les dents et le périnée (**Smith et al., 2001**).

#### **I.4. Classification**

La présence d'une coagulase a permis de séparer le genre *Staphylococcus* en deux groupes:

1. le groupe des staphylocoques à coagulase négative (SCN) avec 33 espèces dont la majorité ne présentent pas de risques sanitaires tels que *Staphylococcus xylosus*, *S. lentus* et *S. sciuri* (**Morea et al., 1999**).
2. le groupe de staphylocoques à coagulase positive (SCP) est constitué de 7 espèces identifiées à *S. aureus*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lutrea*, *S. pseudintermedius* et *S. schleiferi* (**Quinn et al., 2011**).

En raison de la capacité de la coagulase à générer des caillots dans le plasma, les SCP présentent généralement un pouvoir pathogène plus élevé, mais certaines études montrent que l'implication des SCN dans les infections augmente (**Garcia et al., 2004**).

#### **I.5. Pathogénicité**

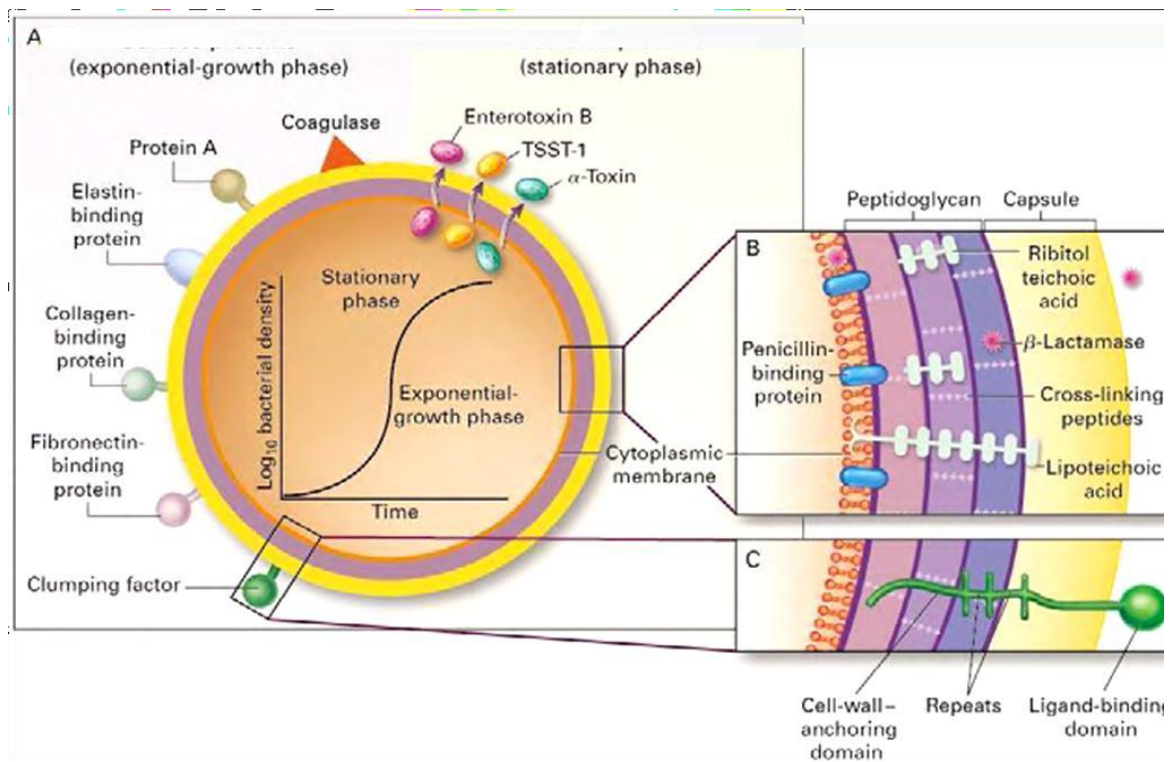
Les Staphylocoques sont des bactéries d'intérêt majeur en raison de leurs capacités à causer un large éventail d'infection et de leurs aptitudes à s'adapter à différentes conditions environnementales (**Lowy, 1998**). Ces capacités expliquent en partie la difficulté à éradiquer *S. aureus* qui peut être isolé dans le sol, l'eau douce, le sable de la plage, l'eau de mer, la surface des plantes (**Dworkin et al., 2006**).

#### **I.6. Facteurs de virulence**

La pathogénie de *S. aureus* est liée à de nombreux facteurs de virulence et on peut compter principalement trois classes (**Fig. 01**) :

1. les composants de la paroi et la capsule.
2. les protéines de surface.
3. les protéines sécrétées.

Ces facteurs sont soit directement codés par un chromosome présent ou codés par des éléments génétiques mobiles (transposons, plasmides ou bactériophages) (**Robert, 2013**).



**Figure 01.** Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Lowy, 1998).

## I.6.1. Composants de la paroi et de la capsule

### I.6.1.1. Capsule

Les polysaccharides capsulaires sont retrouvés dans 90% des isolats cliniques de *S. aureus* mais la bactérie perd sa capsule généralement après culture (Thakker et al., 1998). Les polysaccharides capsulaires confèrent à la bactérie une résistance accrue à l'opsonophagocytose. Ces exopolysaccharides ou encore glycocalix synthétisés par *S. aureus* sont à l'origine de la constitution de biofilm, élément majeur de virulence, permettant une adhésion accrue aux surfaces des dispositifs médicaux implantables.

La capsule est également impliquée dans l'adhésion aux cellules endothéliales (Murakami et al., 1991). Dans ce cas, elle induit la sécrétion par ces cellules de cytokines inflammatoires telles que IL-1 $\beta$ , IL6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  et la chimiokine IL-8 (Nilsson et al., 1997).

### I.6.1.2. Peptidoglycane et acides lipoteichoïques

La paroi de *S. aureus* est composée d'acides lipoteichoïques et de peptidoglycane. Ce dernier est immunogène et mitogène (Moon et al., 2015). Il a une activité chimiotactique sur les neutrophiles en stimulant l'activation de la cascade du complément (Riber et al., 1990). Il stimule la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires par les monocytes et les macrophages (Takeuchi et al, 1999 ; Leemans et al., 2003).

Les acides lipoteichoïques sont impliqués dans l'adhésion bactérienne par des forces physico-chimiques grâce à leur domaine hydrophobe (**Enright et al., 2000**). Ils sont impliqués dans la forme cellulaire, la division cellulaire, l'adhésion cellulaire, la formation de biofilm et la pathogénicité (**Xia et al., 2010 ; Gross et al., 2001 ; Swoboda et al., 2010**).

### **I.6.1.3. Protéines de surface**

*S. aureus* adhère aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire lors de la colonisation de son hôte. L'adhésion bactérienne est également une étape indispensable pour l'infection en prévenant l'élimination de la bactérie par des phénomènes mécaniques et en permettant l'action ultérieure des toxines (**Amagai et al., 2000**).

*S. aureus* a aussi la capacité de se lier aux protéines plasmatiques assurant sa dissémination au sein de l'hôte. Deux mécanismes d'adhésion probablement associés coexistent : l'un non spécifique, médié par des forces physico-chimiques, l'autre spécifique, avec synthèse bactérienne de facteurs d'adhésion (adhésines).

#### **I.6.1.3.1. Les adhésines**

La plupart des adhésines ou MSCRAMMs (*microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules*) sont liées de façon covalente au peptidoglycane, d'autres sont secrétées dans le milieu extracellulaire (SERAMs, *secretable expanded repertoire adhesive molecules*) (**Seidl et al., 2008**).

Les MSCRAMM favorisent l'attachement à certaines molécules de l'hôte telles que la fibronectine, la laminine et le collagène qui forment la matrice extracellulaire des surfaces épithéliales et endothéliales (**Snyder et Champness, 1997**).

La protéine de liaison au fibrinogène, également appelée coagulase liée ou clumping factor, est responsable de l'adhésion bactérienne aux caillots sanguins et aux tissus endommagés (**Lindsay, 2010**).

#### **I.6.1.3.2. La protéine A**

La protéine A est considérée comme une des protéines de surface majeure. Elle possède des propriétés anti-opsonisantes en fixant le fragment Fc des immunoglobulines (**Foster, 2005**). Elle possède une activité superantigénique vis à vis des lymphocytes en se liant à l'IgM membranaire des lymphocytes B (**Goodyear et Silverman, 2003**), et favorise l'agrégation bactérienne et la formation de biofilms (**Merino et al., 2009**), renforçant ainsi l'adhésion et la protection de la bactérie face à l'action des agents antimicrobiens produits par les cellules immunitaires (**Malachowa et DeLeo, 2010**).

## I.6.2. Protéines sécrétées

### I.6.2.1. Enzymes

#### I.6.2.1.1. Coagulase libre

La coagulase libre, ou staphylocoagulase est une protéine diffusible thermostable exprimée pendant la phase exponentielle de la croissance bactérienne. En se liant à une coaguline proche de la prothrombine dans le plasma, elle forme un complexe nommé staphylothrombine (**Abdallah et al., 2014**). Ce complexe va induire une polymérisation du fibrinogène en fibrine et ainsi la formation d'un thrombus (**Robert, 2013**). Cette réaction entraîne la coagulation locale du plasma autour des cocci les protégeant de la phagocytose (**Archer et al., 1990**).

#### I.6.2.1.2. Fibrinolysine

La fibrinolysine, ou staphylokinase, est une protéine thermolabile et antigénique. Elle est capable de métaboliser le plasminogène en plasmine et ainsi induire la fibrinolyse (**Mölkänen et al., 2002**). En conditions physiologiques, ce mécanisme est associé à celui de la coagulation pour éviter l'apparition de thromboses. Dans le cas d'une infection à *S. aureus*, la fibrinolysine perturbe cet équilibre en favorisant la fibrinolyse et entraîne des saignements.

Parallèlement, la fibrinolysine possède la capacité de se lier aux défensines et de former un complexe avec celles-ci inhibant leur activité bactéricide (**Jin et al., 2004**).

#### I.6.2.1.3. Hyaluronidase

Au sein du genre *Staphylococcus*, seule *S.aureus* possède cette enzyme (**Hart et al., 2009**). La hyaluronidase est une enzyme extracellulaire thermolabile qui digère l'acide hyaluronique. Cette dépolymérisation de l'acide hyaluronique, substance fondamentale de la matrice du tissu conjonctif de l'hôte, contribue au processus infectieux en favorisant la dissémination via la dégradation des tissus (**Farell et al., 1995**).

#### I.6.2.1.4. Désoxyribonucléase (DNase)

La DNase thermostable a une activité exo- et endo-nucléasique qui lui permet de dégrader l'ADN mais aussi l'ARN des cellules de l'hôte (**Hu et al., 2013**). Cette enzyme coupe les acides désoxyribonucléiques (ADN) en nucléotides ou polynucléotides en hydrolysant les liaisons phosphodiester (**Delarras, 2007**).

#### I.6.2.1.5. Lipases

Les lipases sont un ensemble de protéines regroupant les lipases elles-mêmes, les phosphatases et les estérases. Elles sont responsables de la dégradation des lipides de l'hôte (**Simons et al., 1996**). En effet, les molécules lipidiques de l'hôte telles que les acides gras

présentent un effet tensio-actif qui perturbe l'intégrité de la membrane bactérienne (Hu et al., 2013).

#### **I.6.2.1.6. Catalase**

La catalase convertit le peroxyde d'hydrogène produit par les neutrophiles en molécules d'eau et d'oxygène. Elle empêche ainsi la formation de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie et améliore ainsi sa survie dans le phagocyte (Accarias, 2014).

#### **I.6.2.1.7. Protéases**

Les protéases comme la sérine protéase) et les cystéines protéases entraînent des dégradations tissulaires par leurs effets protéolytiques propres (Shaw et al., 2004).

Lors de l'infection, elles peuvent cliver certaines protéines de l'hôte comme les chaînes lourdes des immunoglobulines, indépendamment de leur classe (Prokesová et al., 1992) induisant une augmentation de l'activité protéolytique de l'hôte (Accarias, 2014).

#### **I.6.2.1.8. Pénicillinase**

Parmi les souches naturelles de *Staphylococcus aureus*, la résistance à la pénicilline n'est observée que chez celles qui produisent de la pénicillinase, les souches dépourvues de cette enzyme sont invariablement très sensibles à l'action de la pénicilline. L'élaboration de la pénicillinase semble donc être le seul mécanisme cliniquement important de résistance à la pénicilline dans ces microorganismes (Robert, 2013).

### **I.6.2.2. Toxines**

#### **I.6.2.2.1. $\alpha$ -hémolysine**

L' $\alpha$ -hémolysine est une toxine cytolytique produite par plus de 90% des souches de *S. aureus* (Jongerijs et al., 2007 ; Rooijackers et al., 2005). Lors de l'infection, l'effet cytolytique est un facteur primordial dans la progression de la maladie puisqu'il induit une altération des tissus en exerçant une action dermonécrotique mais aussi neurotoxique (Monecke et al., 2013).

#### **I.6.2.2.2. $\beta$ -hémolysine**

Cette  $\beta$ -toxine est une phospholipase de type C, ou sphingomyelinase, qui altère les membranes riches en lipides. Son activité hémolytique sur les érythrocytes dépend de leur contenu en sphingomyéline (Accarias, 2014). Elle a aussi un rôle dans la colonisation de la peau par sa capacité à endommager les kératinocytes (Katayama et al., 2013). La majorité des isolats humains n'expriment pas la  $\beta$ -hémolysine, mais elle a un haut niveau d'expression dans les souches animales (Dinges et al., 2000).

### I.6.2.2.3. $\delta$ -hémolysine

La  $\delta$ -hémolysine est une protéine thermostable, hydrophobe et faiblement antigénique, produite par 97% des souches (Dinges et al., 2013 ; Vincenot et al., 2008). Elle a un effet cytotoxique en agissant comme un détergent sur les membranes biologiques. Elle exerce un effet pro-inflammatoire en raison de sa spécificité de liaison pour les neutrophiles et les monocytes (Schmitz et al., 1997).

### I.6.2.2.4. $\gamma$ -hémolysine

L'  $\gamma$ -hémolysine, est exprimée par 50 à 90% des souches (Peacock et al., 2002). Elle agit avec la leucocidine pour perturber la perméabilité de la membrane des neutrophiles (Staali et al., 1998). Elle a aussi une action sur les lymphocytes T, les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques, et est capable de lyser une variété d'érythrocytes de mammifères (Dinges et al., 2000 ; Vincenot et al., 2008). Elle est cependant dotée d'une plus forte action hémolytique (Dinges et al., 2000).

### I.6.2.2.5. Leucocidine

L'activité biologique de cette toxine est très particulière et s'exerce spécifiquement sur les granulocytes, les macrophages et les basophiles de l'homme et du lapin (Ammour, 2018). Elle semble être un facteur important de la nécrose tissulaire, notamment des dommages musculaires, car elle est retrouvée dans la majorité des infections nécrosantes (Tseng et al., 2009).

### I.6.2.2.6. Exfoliatine

L'exfoliatine, ou épidermolysine, est responsable de différentes formes de staphylococcies cutanées bulleuses. C'est une toxine protéique épidermolytique ayant une spécificité d'action sur la peau, dont l'activité entraîne un décollement intra-épidermique (Accarias, 2014). Elle agit au niveau du *stratum granulosum* au sein de l'épiderme où elle hydrolyse une protéine, la desmogléine-1.

La desmogléine-1 dernière est la composante majeure des desmosomes du *stratum granulosum*, les desmosomes étant des jonctions inter-cellulaires permettant l'adhésion entre les kératinocytes. La destruction de la desmogléine-1 par l'exfoliatine entraîne donc la rupture de l'adhésion entre les kératinocytes du *stratum granulosum*, responsable d'un décollement intra-épidermique spécifique (Fig. 02) (Accarias, 2014).

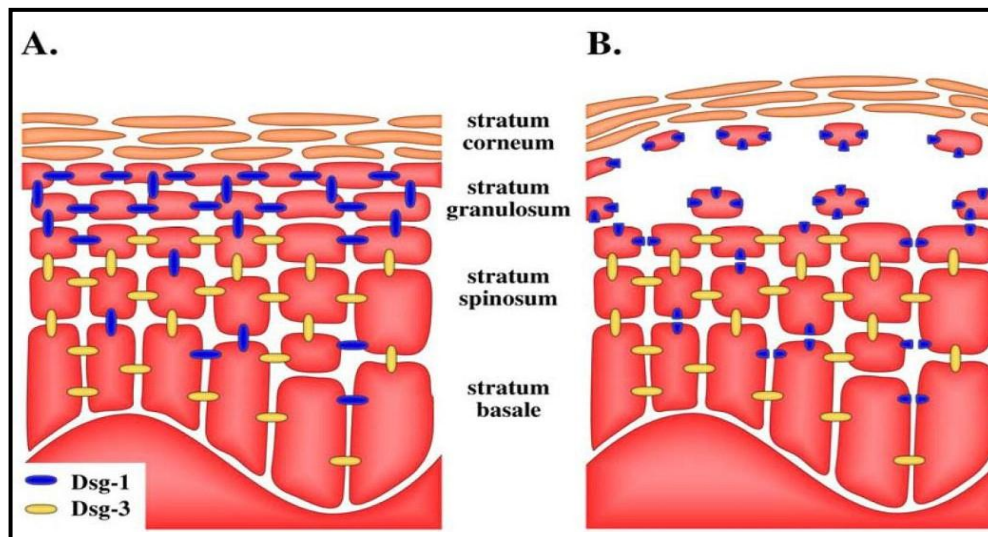


Figure 02. Mécanisme d'action des exfoliatines (Bukowski et al., 2010).

#### I.6.2.2.7. Entérotoxines

Les entérotoxines sont responsables d'intoxinations alimentaires, ce sont des protéines thermostables et résistantes aux enzymes protéolytiques (Balaban et Rasooly, 2000). Sur le plan antigénique, huit entérotoxines sont identifiées : A, B, C1, C2, C3, D, E et H. leur production est assez répandue chez *S.aureus*, elles ne sont élaborées que par certaines souches appelées staphylocoques entérotoxigènes.

#### I.6.2.2.8. Toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1)

La TSST-1 est une protéine extracellulaire qui agit comme un superantigène. Une fois dans le sang, elle va induire une forte réponse inflammatoire conduisant notamment à la libération de grande quantité de  $\text{TNF-}\alpha$ , conduisant au syndrome de choc toxique (Accarias, 2014).

### I.7. Pouvoir pathogène

*S. aureus* est une bactérie pyogène pouvant être responsables de différents types d'infections, selon la nature de la souche et la qualité de la réponse immunitaire de l'hôte.

#### I.7.1. Chez l'Homme :

##### I.7.1.1. les infections suppuratives

Les infections suppuratives impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion puis la destruction des tissus de l'hôte, la réponse inflammatoire locale et systémique (Durand, 2009).

Les infections suppuratives de la peau sont les infections à *S. aureus* le plus fréquemment rencontrées chez l'homme. Il s'agit le plus souvent d'auto-infestation à partir de la flore endogène (Brun et Bes, 2000). Parmi ces infections, on distingue:

- La folliculite (infection limitée au follicule pileux) ayant l'aspect d'une pustule jaunâtre avec une étroite zone marginale rouge.
- Le furoncle, infection nécrotique profonde du follicule pileux, douloureux, souvent accompagné de fièvre.
- L'anthrax (groupe de furoncles), lésion nécrotique accompagnée de malaise général et de fièvre.
- Le panaris, abcès péri-unguéal douloureux avec inflammation périphérique siégeant sur la phalange distale.

*S. aureus* est également à l'origine d'infections des muqueuses : conjonctivite purulente, otite, laryngite, phlegmon de l'amygdale et sinusite (**Brun et Bes, 2000**). Ces infections peuvent rester locales, mais peuvent aussi être le point de départ de suppurations profondes ou d'infections généralisées et conduire à une septicémie (**Dworkin et al., 2006**).

#### **I.7.1.2. Les infections toxiques**

Par ailleurs, *S. aureus* est responsable d'infections toxiques, également appelées toxémies staphylococciques. Ces toxémies sont liées à des toxines spécifiques. La sécrétion de toxines *in vivo* lors d'une infection par *S. aureus* peut entraîner des pathologies sévères telles que le syndrome du choc toxique, rare mais fatal (**Accarias, 2014**). La sécrétion d'entérotoxines, quant à elle, peut entraîner une intoxication alimentaire suite à l'ingestion d'aliments contaminés (**Soares et al., 1997**).

#### **I.7.2. Chez les animaux**

*S. aureus* pose également de réels problèmes en médecine vétérinaire. En effet, cette bactérie est responsable d'infections chez une grande variété d'animaux comme le chat, le chien, le cheval, le lapin, la volaille et les bovins (**Weese, 2010**). Comme chez l'homme, les infections chez les animaux sont principalement des infections de la peau et des tissus mous mais peuvent parfois être létales.

Dans les élevages bovins, *S. aureus* est responsable d'infections de la glande mammaire, ou mammites, pouvant être fatales. A ce titre, il est responsable de 5 à 30% des formes cliniques et de 5 à 10% des formes subcliniques de mammites (**Petton et Le Loir , 2014**).

### **I.8. Caractères bactériologiques**

#### **I.8.1. Caractères morphologiques**

Les bactéries du genre *staphylococcus* sont des bactéries coccoïdes à Gram positif, d'environ 0.5 -1.5µm de diamètre; ce n'est qu'au cours de la lyse ou de la dégénérescence



(veilles cellules), que parfois les cellules perdent leur affinité tinctoriale et peuvent devenir à Gram variable (**Couture, 1990**).

Comme chez la majorité des bactéries Gram positives, l'enveloppe de *S. aureus* est composée d'une seule membrane plasmique recouverte d'une paroi épaisse riche en peptidoglycane et en acides téichoïques.

Le peptidoglycane, formé de chaînes linéaires de N-acétylglucosamide et d'acide N-acétylmuramique, représente 50% du poids de la paroi bactérienne. Le reste de la paroi est majoritairement composé d'acides téichoïques (TA) caractéristiques des bactéries Gram positives. Les TA peuvent être liés de façon covalente au peptidoglycane. Ce sont les WTA pour « wall teichoic acids ». Alternativement, ils peuvent être insérés dans la membrane plasmique par une ancre lipidique et sont alors nommés LTA pour « lipo-teichoic acids » (**Neuhaus et Baddiley, 2003 ; Xia et al., 2010**).

Ainsi, elles sont immobiles, non sporulées, et l'examen au microscope optique ne permet pas de visualiser une capsule (**Matos et al., 1991**). Sauf pour de très rares souches. D'autres forment des colonies mocoïdes et sont entourées d'une pseudocapsule (**Ammour, 2018**).

Les staphylocoques se divisent sur plusieurs plans se présentant sous forme de paires (diplocoques), par quatre (tétraèdres), en courtes chaînettes voire en grappes de raisin.

### **I.8.2. Caractères cultureux**

Les staphylocoques sont des bactéries mésophiles dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C en fonction des souches (température minimale : entre 5 et 10°C ; température maximale : environ 45°C) (**Sutra et al., 1998**).

Ils sont capables de se multiplier à des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7 à 7,5. Ils sont halotolérants et peuvent se multiplier en présence de concentrations élevées de chlorure de sodium (en général jusqu'à 10%) (**Sutra et al., 1998**).

Ce sont des bactéries non exigeantes, cultivées dans des milieux ordinaires et dans des milieux sélectifs tel que le milieu Chapman ou le Baird Parker (**Yves et Gantier, 2009**) :

- Sur gélose ordinaire, ils forment des colonies lisses, rondes, luisantes, bombées habituellement de couleur jaune dorée à jaune orangé (*S.aureus*).
- En gélose profonde, la croissance est observée sur toute la hauteur du tube signant le caractère aéro-anaérobie facultatif.

- En Bouillon, la culture forme un trouble uniforme abondant ; parfois un dépôt et un voile en surface (**Yves et Gantier , 2009**).
- Le milieu de Chapman est particulièrement utilisé, il ne laisse croître au bout de 24 à 48 heures que les staphylocoques, germes halophiles qui tolèrent des concentrations élevées de NaCl jusqu'à 7.5% (qui inhibe pour cette raison, la plupart des autres germes). Ce milieu sélectif rendu différentiel par l'addition de Mannitol à 1% et d'un indicateur d'acidité, le rouge de phénol, permet à la fois d'isoler le staphylocoques à partir d'un prélèvement contenant un mélange de germes et nous oriente vers des *staphylocoque dorés* ou des staphylocoques blancs (**Ammour, 2018**).
- Le milieu de Baird-Parker (dont l'agent sélectif est le tellurite de potassium et qui contient du jaune d'œuf), utilisé surtout en bactériologie alimentaire. Sur ce milieu, les colonies de Staphylocoques pathogènes apparaissent, après 24 heures d'étuve à 37°C, sous forme de points noirs de 1 à 1,5 mm de diamètre (**Ammour, 2018**). Ces colonies sont entourées d'un halo d'éclaircissement de 2 à 5mm de diamètre, tranchant sur le reste de la surface du milieu (le halo est dû à l'action d'une lipoprotéase). Le milieu de Baird-Parker convient particulièrement aux souches de vitalité réduite (**Ammour, 2018**).

### I.9. Caractères biochimiques

Les staphylocoques ont un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Ces bactéries possèdent une activité catalase, coagulase, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase (**Neuhaus et Baddiley, 2003**).

Elles sont hémolytiques, ont la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose et le mannitol (**Behme et al., 1996**). Le diagnostic permettant de distinguer *S. aureus* des autres espèces est basé sur des tests réalisés sur colonies tels que l'identification du facteur agglomérant de la coagulase, des hémolysines et de la désoxyribonucléase thermostable ou thermonucléase (**Brown et al., 2005**).

#### I.9.1. La coagulase

Il existe deux formes de coagulase : la coagulase libre et la coagulase liée (**Sutra et al., 1998**).

##### I.9.1.1. La coagulase libre ou staphylocoagulase

*Staphylococcus aureus* a longtemps été considéré comme le seul représentant des Staphylocoques étaient coagulase positive, mais de nouvelles espèces de staphylocoques à coagulase positive ont été récemment isolées : *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus*

*hyicus*. Mais, d'une part, la coagulase n'est pas toujours présente chez ces deux dernières espèces (**Brisabois et al., 1997 ; Leyral et Vierling, 2007**).

On utilise le test de la coagulase en tube comme marqueur de l'identification de *S. aureus* en routine dans les services de biologie. Ce test consiste à incuber à 37°C, un mélange de la souche à tester (0,5 ml) et du plasma de lapin (0,5 ml) pendant 4h puis 24h. Si la bactérie détient une coagulase, alors on voit apparaître un caillot en inclinant le tube. Le plasma de lapin est resté pris en masse au fond du tube.

#### **I.9.1.2. La coagulase liée ou clumping factor**

Ce test est réalisé par une agglutination sur lame. Sur une lame propre et sèche, on met en contact une goutte de plasma de lapin avec une goutte de bouillon ensemencé par le germe étudié (ou une fraction de colonie). Si le germe possède le récepteur au fibrinogène (coagulase liée), il y aura une agglutination visible à l'œil nu.

#### **I.9.2. La DNase thermostable**

La thermonucléase est caractéristique des souches de *S. aureus* (ainsi que deux autres staphylocoques à coagulase positive) (**Delarras, 2007**).

La recherche de cette enzyme se fait sur un milieu ADN-bleu de toluidine et les souches qui détiennent une DNase thermostable forment une zone de couleur rose supérieure à 1 mm, ce qu'on obtient avec *S. aureus* (**Delarras, 2007**).

#### **I.9.3. La catalase**

Le *S. aureus* possède une activité catalase positive comme tous les staphylocoques. Cette activité enzymatique permet la dégradation du peroxyde d'oxygène en eau et dioxygène.

Pour réaliser ce test, il suffit de prélever quelques colonies de bactéries et de les mettre en présence de peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée). La présence de bulles de dioxygène confirme l'activité enzymatique de la bactérie. La catalase est très utile en pratique pour différencier les bactéries à Gram + (**Collin, 2012**).

#### **I.9.4. La fermentation du mannitol**

Le *S. aureus* est capable de fermenter le mannitol. Généralement on détecte la fermentation du mannitol par un changement de couleur du milieu de culture. Par exemple pour le milieu BD Mannitol Salt Agar®, le milieu passe de la couleur rouge à la couleur jaune s'il y a fermentation du mannitol. Ce changement de couleur se produit grâce à un indicateur coloré, dans cet exemple, l'indicateur est le rouge de phénol. Cependant, certaines souches de staphylocoques à coagulase négative fermentent également le mannitol.

**Tableau 01** : Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus aureus* (Prescott et al., 2002).

<b>Morphologie</b>	Regroupés en paire, tétrade ou amas réguliers Immobilés, non sporulés
<b>Dimension (µm)</b>	0,5-1
<b>Teneur en GC (mol%)</b>	33%
<b>Taille du génome (Mb)</b>	2,8-2,9
<b>Type respiratoire</b>	Aéro-anaérobie facultatif
<b>Type trophique</b>	Chimioorganotrophe
<b>Métabolisme</b>	Fermentaire et/ou respiratoire
<b>Autres caractères</b>	Catalase positive Oxydase négative Halophile Mésophile (37°C) et psychophile (6-12°C) Neutrophile pH opt : 7 ; pHm : Aw : basse, jusqu'à 0.83

# ***Chapitre II :***

***Résistance de  
Staphylococcus aureus aux  
antibiotiques***

### I. 1. Les antibiotiques

Le terme antibiotique signifie toute substance d'origine naturelle ou synthétique ayant la propriété de détruire ou d'inhiber la croissance de certains micro-organismes (Morin et Gillot, 2001). Ce sont des substances à activité sélective ; nuisible à très faible dose d'une manière spécifique pour le micro-organisme qui agissent sans affecter l'hôte (toxicité spécifique).

Les sources principales d'antibiotiques sont les champignons, mais parfois aussi les bactéries. Au départ de molécules naturelles. Cependant, des modifications chimiques sont souvent apportées (semi-synthèse) pour améliorer l'activité et/ou modifier des paramètres pharmacocinétiques essentiels. Aujourd'hui, la plupart des antibiotiques en usage clinique sont donc obtenus par semi-synthèse (Bricaire, 1997).

Les antibiotiques possèdent des modes d'actions variés et à divers niveaux structurels et métaboliques des micro-organismes. Ces actions peuvent être classées comme suit (Fig. 03) (Yala et al., 2001) :

- Action sur la paroi bactérienne (peptidoglycane).
- Action sur la structure de la membrane cytoplasmique bactérienne.
- Action sur la synthèse protéique bactérienne.
- Action sur la synthèse de l'ADN de la bactérie.
- Action sur la synthèse des folates.

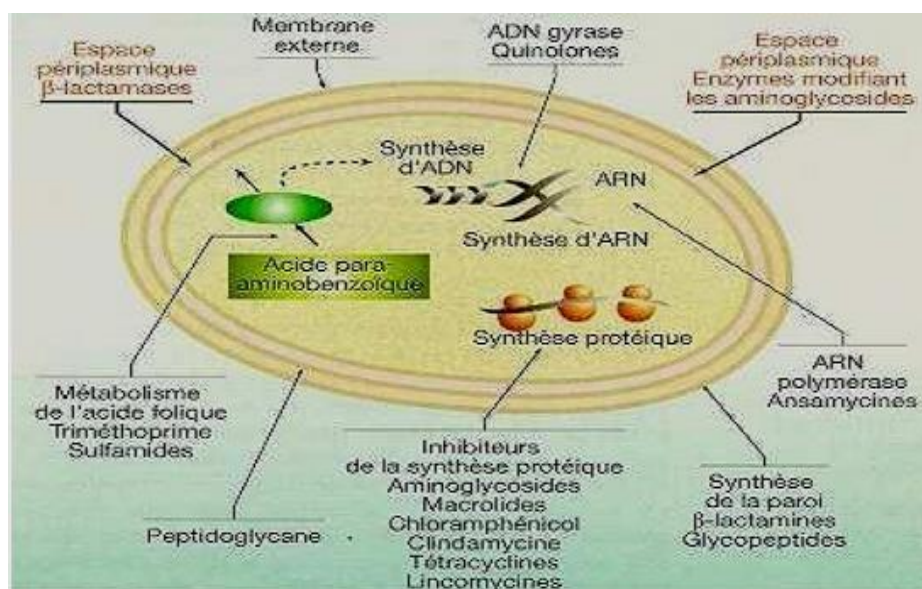


Figure 03. Mécanisme d'action des antibiotiques (Davies and Mazel, 1997).

### **II. 2. Antibiorésistance**

Le recours abusif et inapproprié aux antibiotiques engendre une pression de sélection sur les bactéries, les poussant à devenir résistantes pour échapper à l'effet de ces antibiotiques. La conséquence est bien l'impasse thérapeutique vu que la découverte de nouvelles molécules efficaces contre ces bactéries n'a pas connu de progrès, contrairement à la résistance aux antibiotiques qui ne cesse d'évoluer (**Aissani et Ait idir, 2018**).

L'antibiorésistance se définit comme étant la capacité d'une souche bactérienne de croître en présence d'une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhibe la croissance de la majorité des souches appartenant à la même espèce (**Kiouba, 2003**).

*S. aureus* est une espèce bactérienne qui présente une grande capacité d'adaptation vis-à-vis de la contrainte antibiotique. Leur résistance est liée à leur grande plasticité génomique qui peut être acquise ou apportée par un plasmide ou d'autres éléments mobiles. De plus leurs mécanismes de résistance sont différents selon la classe des antibiotiques (**Persoons et al., 2009**).

A l'échelle microbiologique, l'émergence de la résistance repose sur la modification du génome de la bactérie. Si certaines bactéries sont naturellement résistantes à certains antibiotiques, elles peuvent également acquérir la résistance aux antibiotiques par divers mécanismes. On parle de résistance acquise.

#### **II. 2. 1. Résistance naturelle constitutionnelle**

La résistance naturelle d'une bactérie est une caractéristique propre à une espèce bactérienne, qui est partagée par toutes les souches normales de cette espèce (**CASFM, 2013**). Elle correspond au fait qu'une bactérie sera naturellement résistante à un type d'antibiotique sans qu'elle ait besoin de développer un mécanisme de résistance à cet antibiotique (**Pilly, 2014**). *S.aureus* ne possède aucune résistance naturelle aux antibiotiques (**Appelbaum, 2006**).

#### **II. 2. 2. Résistance acquise**

La résistance acquise est une caractéristique de certaines souches au sein de l'espèce considérée. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de matériel génétique étranger (**Gaudy et al., 2005**).

**II. 2. 2. 1. Chromosomique :** elle concerne le chromosome de la bactérie. Il s'agit d'une propriété naturelle ou alors acquise par mutation ou incorporation d'un gène sur le génome bactérien modifiant la cible de l'antibiotique, ou un schéma métabolique.

**II. 2. 2. 2. Extra-chromosomique :** par acquisition de gènes de résistance à partir de souches déjà résistantes. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur

## **Chapitre II : Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques**

intégration sur des éléments mobiles tels que les plasmides, transposons, intégrons ou encore sur des phages.

*Staphylococcus aureus* possède une très grande plasticité génétique. Sous la pression de sélection des antibiotiques, il a très rapidement acquis des gènes portés par des plasmides codant pour des pénicillinases (Grundmann et al., 2006).

### **II. 3. Mécanismes de résistance**

Les phénomènes de résistance reposent sur quatre types de mécanismes biochimiques conduisant à l'inefficacité des antibiotiques (Mellaoui, 2014) :

- 1. Modification de la cible d'action de l'antibiotique** le site d'action de l'antibiotique sur la cible est altéré de façon à empêcher la fixation de l'antibiotique tout en conservant la fonction cellulaire de la cible.
- 2. Défaut de la perméabilité membranaire de la paroi bactérienne à l'antibiotique** qui limite son entrée par des mutations affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie.
- 3. Inactivation enzymatique** c'est le mécanisme le mieux connu avant que l'antibiotique puisse atteindre la cible, il est inactivé ou détruit par la production d'une enzyme qui va rendre inefficace l'antibiotique (comme la bêta-lactamase).
- 4. Augmentation du phénomène d'efflux actif** qui correspond à une pompe insérée dans la membrane qui est capable d'expulser l'antibiotique en-dehors de la bactérie sans qu'il n'ait pu agir dessus, cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique.

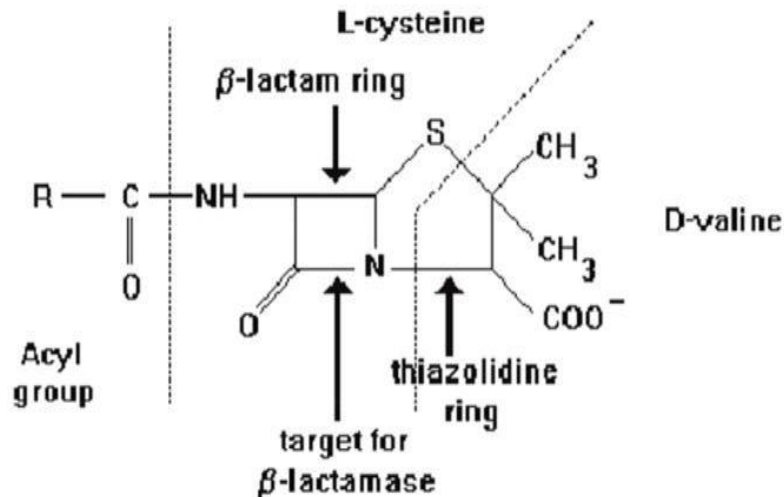
### **II. 4. Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques**

#### **II. 4. 1. Résistance aux bêta-lactamines**

Les  $\beta$ -lactamines ont été les premiers antibiotiques découverts en 1929 par Sir Alexander Fleming, elles ont été isolées à partir d'un champignon *Penicillium notatum*.

La famille des bêta-lactamines comprend plusieurs classes d'antibiotiques. Parmi elles se trouvent les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les pénèmes (hybrides entre les pénicillines et les céphalosporines). Ces antibiotiques ont tous une structure en commun: le noyau bêta -Lactame (Fig. 04) (Poole, 2004).





**Figure 04.** Structure du noyau bêta-Lactame (Poole, 2004).

Les  $\beta$ -lactamines sont des antibiotiques bactéricides sur les bactéries en phase de multiplication, ils agissent sur la paroi bactérienne, plus précisément sur les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP sont des protéines à activité enzymatique (transglycosylases, carboxypeptidases et essentiellement des transpeptidases) impliquées dans la synthèse et la réticulation de la paroi (Eveillard, 2007).

Les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines présentent une parenté structurale avec le dipeptide D-Ala-D-Ala constitutif de la paroi, ils forment un lien covalent avec l'enzyme membranaire. Cette fixation induit un blocage des réactions de transglycosylation et transpeptidation et donc l'arrêt de la croissance bactérienne (Drugeon, 2006). Et enfin de la mise en jeu du système autolytique de la bactérie les peptidoglycanes-hydrolases dites «autolysines».

La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes; un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP (Mainardi et al., 1996).

### II.4.1.1. Résistance par production de $\beta$ -lactamases

Une  $\beta$ -lactamase est une enzyme qui hydrolyse le cycle  $\beta$ -lactame des pénicillines, les rendant inactives. Le gène *blaZ* codant pour les pénicillinases de staphylocoque peut être porté soit par un transposon soit être chromosomique. La production de  $\beta$ -lactamases peut être constitutive ou le plus souvent inductible. L'activité des  $\beta$ -lactamines est restaurée en

## **Chapitre II : Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques**

---

présence d'un inhibiteur de  $\beta$ -lactamases de type acide clavulanique, tazobactam ou sulbactam (Mainardi et al., 1996).

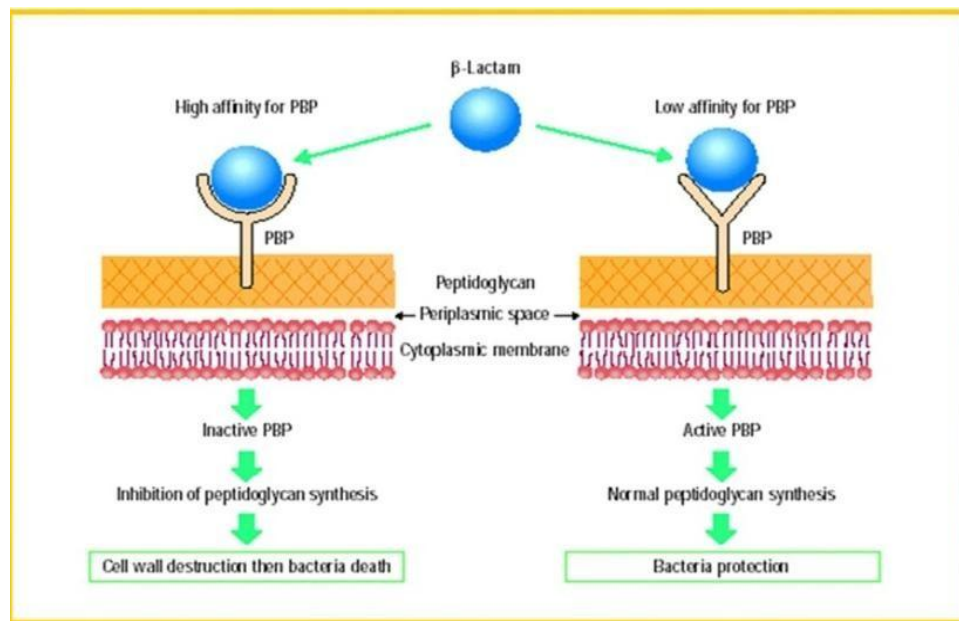
### **II.4.1.2. Résistance par modification ou acquisition de nouvelles protéines de liaison à la pénicilline (PLP)**

Les PLP sont des protéines possédant une affinité pour les  $\beta$ -lactamines (Ryffel et al., 1992). La résistance se fait par altération de la cible de l'antibiotique avec diminution de l'affinité pour les  $\beta$ -lactamines, soit modification des PLP par un phénomène mosaïque (modification de structure des PLP) ou par synthèse de PLP supplémentaire une **PLP additionnelle (PLP2a)** codée par le gène *mecA* qui présente une affinité réduite pour toutes les bétalactamines.

### **II.4.2. Résistance à la méthicilline**

Une souche est dite « résistante à la méthicilline » lorsqu'elle présente une résistance aux pénicillines du groupe M, et par extension à toutes les  $\beta$ -lactamines. Elle est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (*mecA*) qui code pour une nouvelle PLP; la PLP2a (Fig. 05). Cette PLP2 additionnelle « anormales » a moins d'affinité pour les  $\beta$ -lactamines et en particulier pour la méthicilline (De Jonge et Tomasz, 1993). Le gène *mecA* est inclus dans un élément génétique mobile; la cassette chromosomique staphylococcique *mec* "*staphylococcal cassette chromosome mec*" (SCC*mec*) (Hiramatsu et al., 2001) qui est présent chez les SARM et absent chez les SASM (Katayama et al., 2000).

Il existe d'autres mécanismes de résistance à la méthicilline, Ces résistances sont de bas niveau et sont nommés BORSA (bordeline *Staphylococcus aureus*) et MODSA (modified *Staphylococcus aureus*). Les souches BORSA et MODSA ne possèdent pas le gène *mecA* (Gilmore et al., 2008). Pour les souches BORSA, le mécanisme impliqué est une hyperproduction de la pénicillinase staphylococcique (Eveillard, 2007). Tandis que pour les souches MODSA, une modification des PLP endogènes (PLP1, 2 ou 4) entraîne une résistance sans production de pénicillinase (Eveillard, 2007).



**Figure 05.** Mécanisme de résistance de *staphylococcus aureus* à la méthicilline par PLP2.

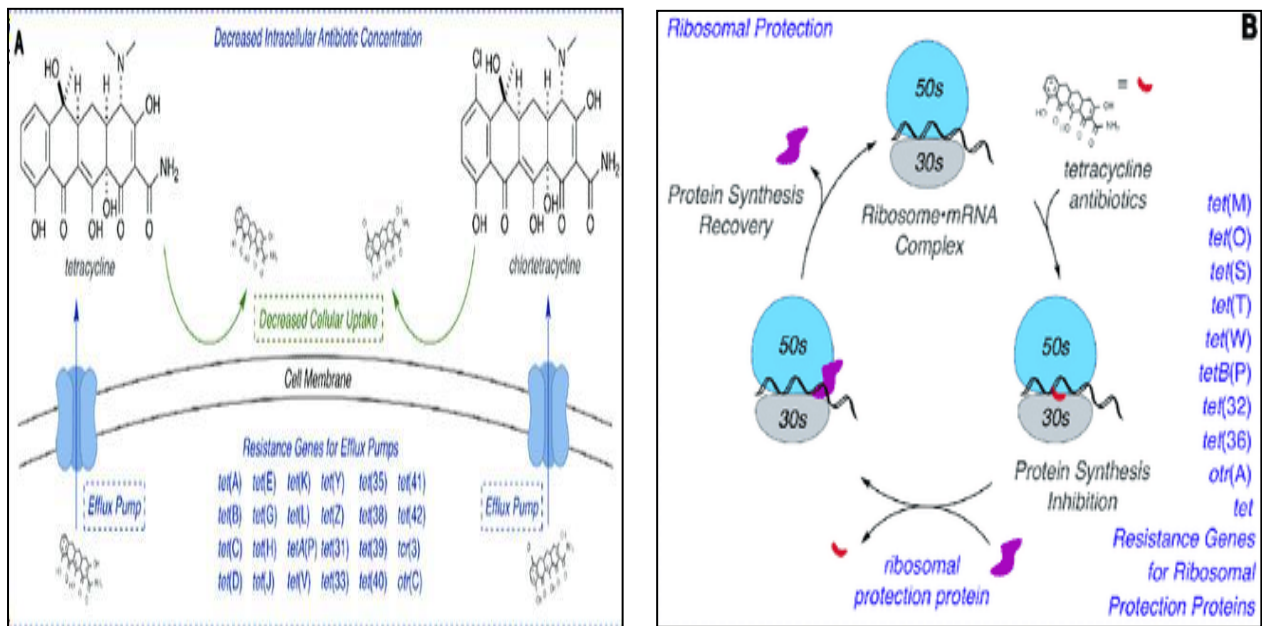
(<http://www.microbesedu.org>)

### II.4.3. Résistance aux tétracyclines

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques qui possèdent un large spectre d'action. Isolés pour la plupart de souches de *Streptomyces* telles que chlortétracycline, oxytétracycline et tétracycline et d'autres semi synthétiques, comme la doxycycline et la minocycline (**Giguère, 2006**).

Une fois à l'intérieur de la bactérie, les tétracyclines se lient de façon réversible à la sous unité 30S ribosomale. Elles inhibent la synthèse protéique en empêchant l'association de l'ARN amino-acyltransférase avec le ribosome au niveau du site accepteur du complexe ARNm-ribosome (**Giguère, 2006 ; Chopra et Roberts, 2001**).

Il existe deux types de résistance aux tétracyclines. La première entraîne un efflux actif des tétracyclines (**Fig. 06a**) grâce à des protéines *TetK* situées dans la membrane interne. La seconde résistance entraîne une protection des sites actifs du ribosome (**Fig. 06b**) par d'autres protéines *TetO* ou *TetM* (**Taylor et Chau, 1996**).

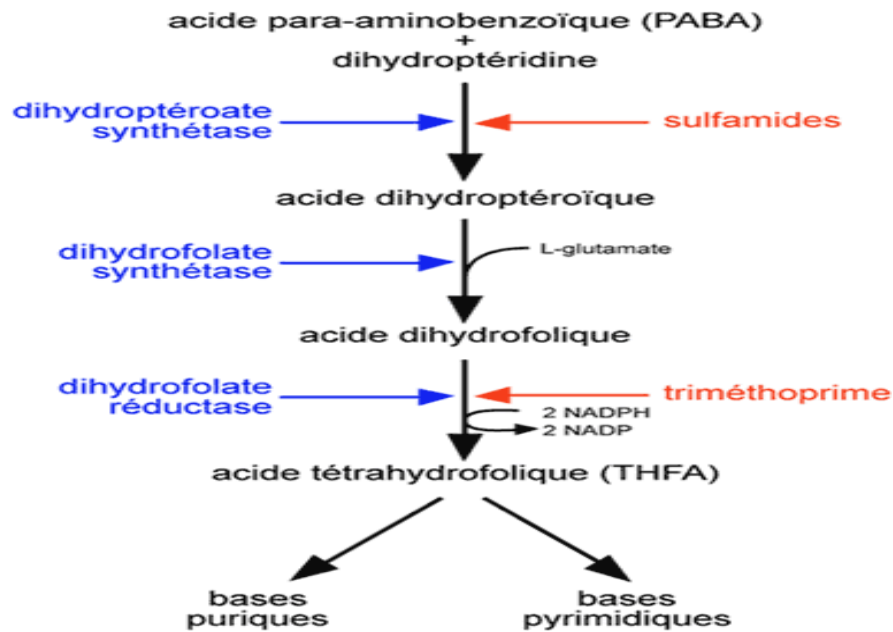


**Figure 6 : Résistance aux tétracyclines ; A : par efflux actif B : par protection des sites actifs du ribosome (<https://www.frontiersin.org>).**

#### II.4.4. Résistance aux sulfamides et le triméthoprime

Les sulfamidés ressemblent à l'acide para-aminobenzoïque normalement utilisé par la bactérie pour produire la vitamine B9. Ce sont des antibiotiques bactériostatiques mais leur association avec le triméthoprime rend leur activité bactéricide, les deux molécules agissent en synergie (**Dorosz, 1995**).

Les sulfamides inhibent la synthèse des folates indispensables à la croissance bactérienne. Ils entrent en compétition avec le PABA car ils ont une structure moléculaire analogue. Cette compétition va enrayer l'action de la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et ainsi la synthèse est bloquée. Le triméthoprime exécute son intervention en aval des sulfamides, il neutralise la dihydrofolate réductase (DHFR) et stoppe la synthèse des folates qui est indispensable à la bactérie (**Fig. 07**) (**Benyoussef, 2012**).



**Figure 07.** Mécanisme d'action des sulfamides et le triméthoprime

La résistance à cette classe d'antibiotique peut trouver sa cause dans divers mécanismes. Une imperméabilité aux antibiotiques d'origine chromosomique ou plasmidique, une augmentation significative de DHPS ou de DHFR et de PABA par hyperproduction (Thériaque, 2012).

### II.4.5. Résistance aux aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques extraits de milieux de culture de diverses espèces de micro-organismes de la famille des Actinomycétacés, *Streptomyces* ou *micro-monospora* ou obtenus par semi-synthèse (Moisan, 2013).

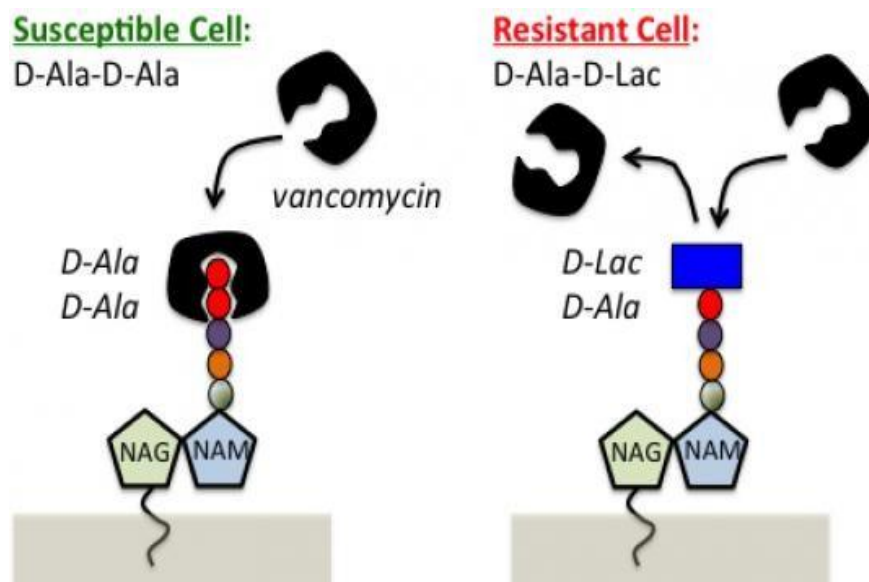
Ce sont des antibiotiques bactéricides par blocage de la biosynthèse protéique ribosomale et perturbation de la perméabilité des membranes bactériennes, entraînant soit une inhibition de l'étape d'élongation des protéines, soit l'induction des erreurs de la traduction de l'ARNm qui conduit à la synthèse de protéines anormales dites protéines « non-sens » (Robert, 2013).

Le principal mécanisme de résistance aux aminosides est lié à des modifications de la cible ribosomale par des enzymes codées par des gènes plasmidiques ou transposables (Quincampoix et Mainardi, 2001).

### II.4.6. Résistance aux glycopeptides

Les glycopeptides sont des antibiotiques produits par un champignon *Amycolatopsis orientalis*. Ce sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la synthèse du peptidoglycane. L'inhibition est due à l'affinité de ces antibiotiques pour l'extrémité (D-alanyl-D-alanine) des précurseurs du peptidoglycane. La fixation du glycopeptide sur l'extrémité du précurseur empêche, par encombrement stérique, son branchement au peptidoglycane (**Fig. 08**) (**Daurel et Leclercq, 2010**).

La résistance aux glycopeptides est due à l'acquisition d'opérons qui codent pour les enzymes responsables de la synthèse des précurseurs de peptidoglycane modifiés et de l'élimination des précurseurs normalement synthétisés par l'hôte (**Fig. 08**) (**Abadía Patiño et al., 2004**).



**Figure 08.** Mécanisme d'action et de résistance aux glycopeptides (**Lowy, 2003**)

### II.4.7. Résistance aux macrolides

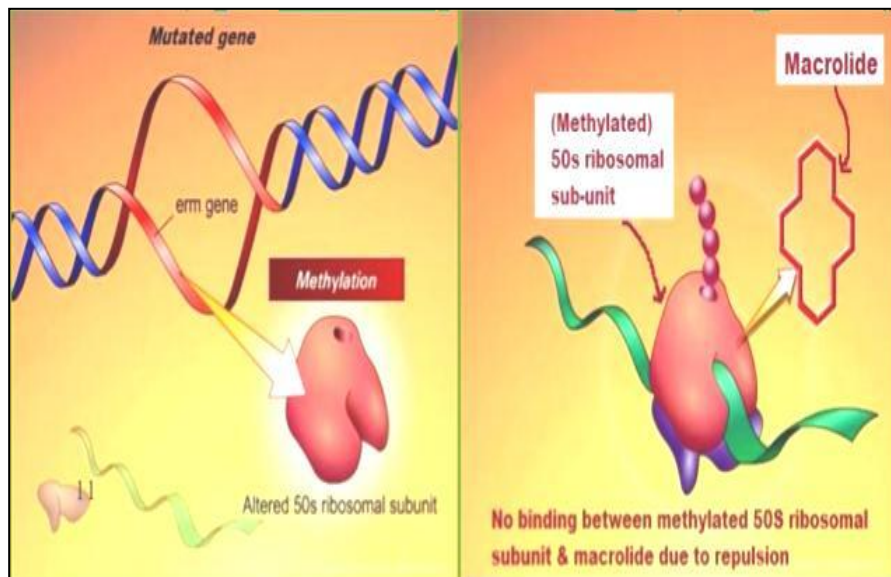
Cette famille d'antibiotiques regroupe les macrolides et les macrolides apparentés (lincosamides et synergystines) sous le terme MLS. Leurs mécanismes d'action ainsi que leurs spectres antibactériens sont similaires (**Robert, 2013**). Ce sont des antibiotiques naturels et hémisynthétiques obtenus par fermentation de *Streptomyces* (**UP pharmacie-toxicologie, 2013**).

Les macrolides et les lincosamides sont des antibiotiques bactériostatiques par blocage de la synthèse protéique par inhibition de la peptidyl-transférase qui permet l'élongation de la chaîne peptidique au niveau de la sous unité 50S du ribosome. Ils empêchent ainsi la réunion

## Chapitre II : Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

des deux sous unités par une inhibition compétitive du dernier stade de la synthèse des protéines (Meynard et Frottier, 1996).

Les mécanismes de résistances aux macrolides (érythromycine, spiramycine), lincosamides (clindamycine) et streptogramines (pristinamycine) comprennent la modification de la cible ribosomale, des systèmes d'efflux et des enzymes inactivatrices (Fig. 09) (Robert, 2013).



**Figure 09.** Mécanisme de résistance aux macrolides  
([www.antibioticsinfo.org](http://www.antibioticsinfo.org)).

### II.4.8. Résistance aux Phénicolés

Les phénicolés sont des composés élaborés par certaines souches de *Streptomyces venezuelae*. Actuellement, ils sont préparés par synthèse (UP pharmacie-toxicologie, 2013). Les phénicolés sont des antibiotiques bactériostatiques par blocage de la synthèse des protéines. En se fixant à côté du site accepteur A de la sous-unité 50S du ribosome et empêchant la liaison du complexe acide aminé - ARNtr à son site de fixation, et donc la réaction de transpeptidation (Alioua, 2015). Il existe trois mécanismes de résistance au phénicolés (<http://anne.decoستر.free.fr>):

- Réduction de la perméabilité membranaire de l'antibiotique.
- Mutation sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien.
- Présence d'une enzyme appelée chloramphénicol acétyltransférase.

### **II.4.9. Résistance aux Fluoroquinolones**

Les fluoroquinolones sont des composés organiques de synthèse, qui constituent la 2<sup>ème</sup> génération de quinolones et ont la particularité de posséder un fluor dans leur structure moléculaire (**Robert, 2013**).

Ces antibiotiques ont comme cible la synthèse des acides nucléiques en inhibant la réplication de l'ADN. Ils agissent par formation d'un complexe ternaire entre ADN et l'ADN gyrase ; topoisomérases II ou les topoisomérases IV. Ces enzymes sont directement impliquées dans les mécanismes de déenroulement et de superenroulement de l'ADN au cours de la réplication afin de faciliter l'action de l'ADN polymérase.

Trois mécanismes de résistance sont impliqués essentiellement; la modification de la cible, l'altération des sous-unités A ou B de la gyrase et l'efflux de l'antibiotique grâce à une protéine transmembranaire (**Mainardi et al., 1996**).

### **II.4.10. Résistance aux Fusidanines**

L'acide fusidique est le seul représentant des antibiotiques stéroïdiques ou fusidanines (**Robert, 2013**). La molécule est d'origine naturelle car elle est produite par un micromycète, *Fusidium coccineum* (**Robert, 2013**).

C'est un antibiotique bactériostatique, il agit par inhibition de la synthèse protéique de la bactérie en bloquant le ribosome par liaison au « facteur G » responsable de la translocation de la chaîne des peptides durant la synthèse des protéines.

La résistance à cet antibiotique est la conséquence d'une diminution de l'affinité entre le facteur d'élongation et l'antibiotique ou un défaut de pénétration dans la bactérie (**O'Neill, 2007**).



*Partie*  
*expérimentale*

# ***Chapitre III :***

## ***Matériel et Méthodes***

### III.1 Objectifs du travail

Ce travail a pour objectif d'identifier les souches de *Staphylococcus* présentes chez le chien et d'étudier la résistance de ces souches aux différentes familles d'antibiotiques utilisées en thérapeutique canine.

### III.2. Lieu et durée de l'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie en collaboration avec le service de pathologie des carnivores à l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université Ibn-Khaldoun de Tiaret. Ce travail s'est étalé du mois de Novembre 2019 au mois de Mars 2020.

### III.3. Matériel

#### III.3.1. Matériel biologique

Des espèces appartenant au genre *Staphylococcus* isolées à partir des prélèvements sur des chiens reçus au service de pathologie des carnivores ont fait l'objet de ce travail.

#### III.3.2. Matériels de laboratoire :

Le matériel nécessaire à la réalisation de ce travail est résumé dans le tableau suivant :

**Tableau 02:** Matériel et produits utilisés

Appareillage, verrerie et instruments	Produits et Réactifs	Milieus de culture
-Autoclave	- Eau physiologique 0,9%	- Gélose nutritive
-Agitateur électrique (vortex)	- Eau oxygénée (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	- Chapman
- Etuve	- Ethanol 70°	- Mueller-Hinton
- Microscope optique	- Violet de gentiane	
- Spectrophotomètre	- Lugol	
- Tubes à essai	- Fuschine	
- Boites de pétri de 90 mm	- Huile à immersion	
- lames et lamelles	- Réactif de Kovac's	
-Cuves spectrophotométriques	- Réactif Zym A , Zym B	
- Micropipette	- Réactif VP1, VP2	
- Ecouvillons	- Réactif NIT1, NIT2	
- Pince métallique	- Disques d'oxydase	
	- Disques d'antibiotiques	

**N.B :** la composition des milieux de culture est donnée dans l'**Annexe 01**.

III.4. Méthodes

III.4.1. Les cas étudiés

L'étude a été faite sur des chiens de race et de sexe différents, âgés entre 2 mois et 3 ans, présentés en clinique pour différents motifs de consultation.

III.4.2. Démarche expérimentale

Le protocole expérimental est élucidé dans l'organigramme suivant :

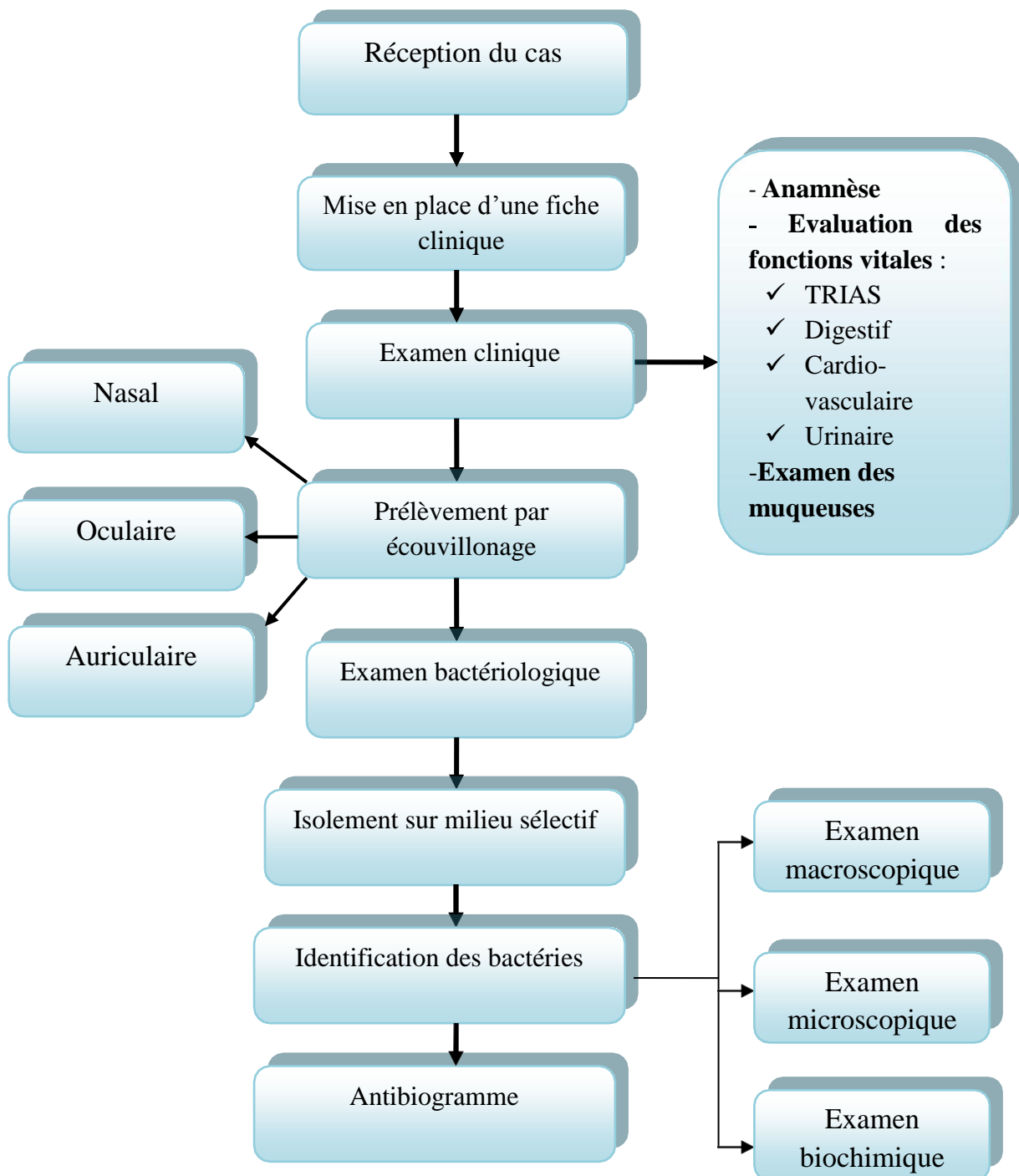


Figure 10 : Organigramme du protocole expérimental

**III.4.2.1. Prélèvement**

Les prélèvements ont été réalisés sur des chiens par écouvillonnages oculaire, nasal et auriculaire en frottant délicatement les muqueuses.

Chaque écouvillon a été ensuite remis délicatement l'écouvillon dans son étui en évitant toutes contaminations et acheminé directement vers le laboratoire de microbiologie pour effectuer les analyses microbiologiques.

Le tableau 03 résume les différents cas reçus en clinique et les prélèvements effectués réalisés pour chaque cas.

**Tableau 03 :** Les cas reçus en clinique et les prélèvements effectués.

Cas	Identification du cas	Motif de consultation	Nombre de Prélèvements réalisés	Type de prélèvement
1	-Lysa -Berger d'Atlas -5mois	Plaie traumatique au niveau du membre postérieur droit	2	Nasal Auriculaire
2	-Ghizlane -Levrier -10 mois	DAPP+ leishmaniose	3	Nasal Auriculaire Oculaire
3	-Risha -Levrier -1 an et demi	Problème oculaire de l'œil droit	3	Nasal Auriculaire Oculaire
4	-Lyka -Berger allemand -3 mois	Vaccination	2	Nasal Auriculaire
5	-Jamra -Levrier -5 mois	Fracture du membre antérieur gauche	3	Nasal Auriculaire Oculaire
6	-Chikou -Berger allemand -2 mois	Intoxication par le chocolat	3	Nasal Auriculaire Oculaire
7	-Baloo -3 ans	Blessure au niveau de la face	3	Nasal Auriculaire Oculaire

### III.4.2.2. Diagnostic bactériologique

#### III.4.2.2.1. Isolement

Les prélèvements réalisés par écouvillonnage ont été ensemencés sur milieu d'isolement sélectif (milieu de chapman) puis les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24heures.

#### III.4.2.2.2. Identification des souches

##### 1. Examen macroscopique

Les colonies bactériennes ont été examinées macroscopiquement afin de déterminer leur forme, taille, couleur et d'autres caractères.

##### 2. Examen microscopique

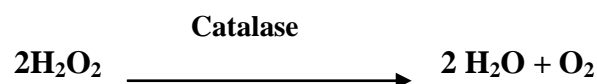
Afin de déterminer la forme des bactéries et la nature de leur paroi, des frottis bactériens ont été préparés puis coloré par la coloration de Gram (**Annexe 02**) et examinés sous microscope au grossissement (100X).

##### 3. Examens biochimiques

###### • Test de la catalase

###### ➤ Principe

D'après **Marchal *et al.*, (1982)**, la catalase est une enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



###### ➤ Technique

Une parcelle de culture prélevée à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur a été émulsionnée dans une goutte d'eau oxygénée à 3% préalablement déposée sur une lame propre. Une réaction positive se traduit par la formation immédiate de bulles de gaz, par contre l'absence de bulles indique un résultat négatif (**Marchal *et al.*, 1982**).

###### • Identification biochimique des isolats cliniques par galerie Api Staph

Les bactéries appartenant au genre *Staphylococcus* (Coques à gram+, catalase+) ont fait l'objet d'une identification biochimique par galerie Api Staph afin de déterminer l'espèce bactérienne.

➤ **Principe**

La galerie Api Staph est un système standardisé pour l'identification du genre *Staphylococcus*. Elle comprend des tests biochimiques miniaturisés et se présente sous forme de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Les tests sont reconstitués en inoculant les microtubes avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph medium.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture figurant dans la fiche technique et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

➤ **Technique**

Avant de retirer la galerie de son emballage, les alvéoles présentes dans le fond de la boîte ont été remplies d'une faible quantité d'eau distillée afin de créer une atmosphère humide. La galerie a été placée ensuite dans le fond de la boîte.

La galerie a été ensuite inoculée par une suspension bactérienne préparée à l'échelle 0.5 McFarland en remplissant soit les microtubes uniquement, soit les microtubes et les cupules pour les tests encadrés ou en ajoutant l'huile de paraffine dans les cupules pour les tests soulignés exigeant l'anaérobiose.

L'incubation de la galerie a été réalisée à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture et identification**

Après incubation, la lecture de la galerie a été faite en se référant au tableau de lecture (**Annexe 03**) et l'identification du profil numérique a été faite à l'aide d'un logiciel.

### **III.4.2.2.3. Antibiogramme**

Après identification bactérienne, seules les souches de *Staphylococcus aureus* ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme standard) selon la technique préconisée par le CLSI (2006).

#### **a. Préparation et standardisation des suspensions bactériennes**

Une suspension bactérienne de chaque souche à tester est préparée à partir d'une culture jeune de 18 heures : des colonies isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et placées dans un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile.

La suspension ainsi obtenue est ajustée à l'échelle 0.5 McFarland par lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

#### b. Ensemencement des boîtes

Les suspensions bactériennes obtenues sont étalées par écouvillonnage à la surface de la gélose Mueller-Hinton coulée sur une épaisseur de 4 mm dans des boîtes de pétri de 90 mm.

#### c. Application des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne de chaque souche étudiée.

Nous avons utilisé les antibiotiques résumés dans le tableau 04. Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures et après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés puis interprétés en se référant à la table de lecture de l'antibiogramme (**Annexe 03**).

**Tableau 04 :** Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme standard

FAMILLE	ANTIBIOTIQUE	SYMBOLE	CONCENTRATION
<b>Betalactamines</b>	Pénicilline G	P	10 µg
	Oxacilline	OX	5 µg
	Cefoxitine	FOX	30 µg
	Amoxicilline	AML	30 µg
	Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC	30 µg
<b>Sulfamides</b>	Trimethoprim- sulfamethoxazole	SXT	25 µg
<b>Tetracyclines</b>	Tétracycline	TE	30 µg
<b>Aminosides</b>	Gentamicine	CN	10 µg



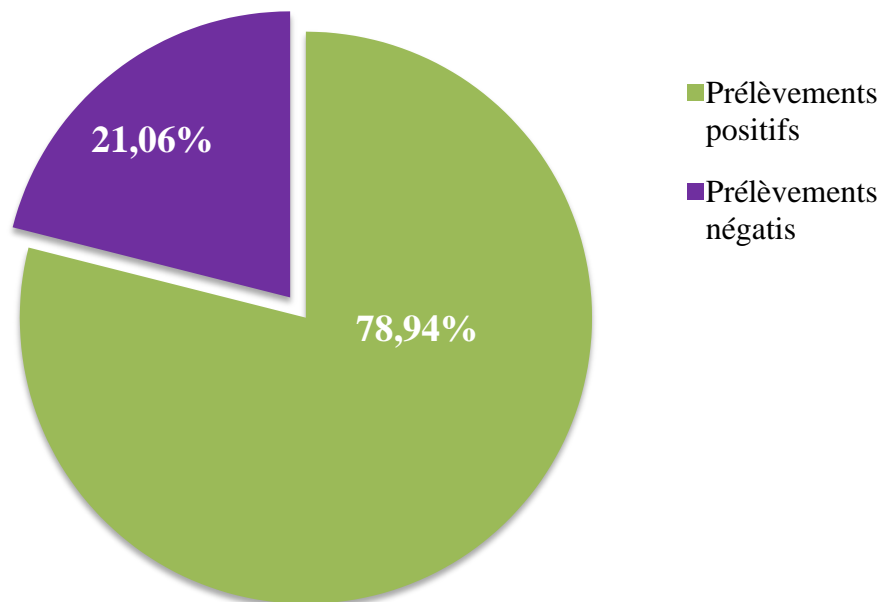
# ***Chapitre IV***

## ***Résultats et Discussion***

#### IV.1. Diagnostic bactériologique

##### IV.1.1. Nombre des prélèvements positifs

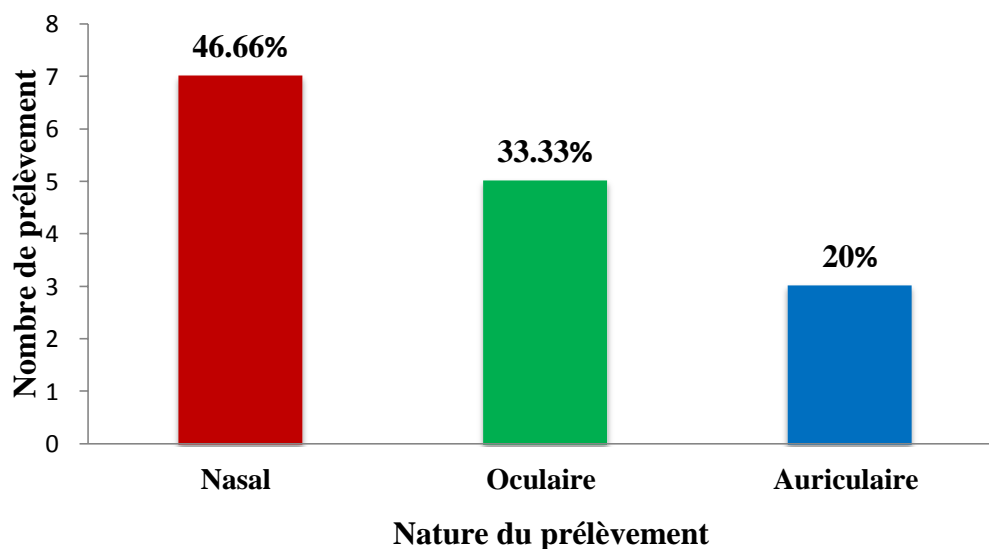
Sur un total de 19 prélèvements réalisés et analysés, 15 se sont révélés positifs soit un taux de 78.94 %. Toute croissance sur milieu de chapman est considérée positive (**Fig. 11**).



**Figure 11.** Pourcentage des prélèvements positifs et négatifs à la culture

##### IV.1.2. Classification des prélèvements positifs selon leurs natures

Sur 15 prélèvements positifs, 7 sont d'origine nasale soit un taux de 46.66%, 5 d'origine oculaire (33.33%) et 3 d'origine auriculaire, soit un taux de 20% (**Fig. 12**).



**Figure 12.** Pourcentage des prélèvements positifs selon leurs natures.

### IV.1.3. Identification des souches isolées

#### IV.1.3.1. Aspect macroscopique

Nous avons obtenu deux types de colonies sur le milieu de chapman : des colonies lisses, rondes, luisantes, bombées de couleur blanchâtre sur un milieu de couleur rouge et des colonies lisses, rondes, luisantes, bombées de couleur jaune dorée sur un milieu de couleur jaune.

#### IV.1.3.2. Aspect microscopique


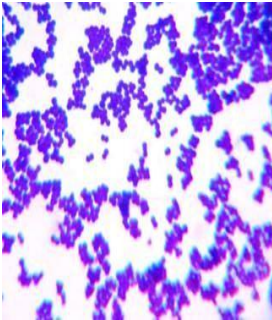


L'observation microscopique des frottis bactériens colorés par la coloration de gram a mis en évidence la présence de coques à gram positif, isolés, en paire ou regroupés en amas ressemblant à des grappes de raisin.

#### IV.1.3.3. Test de la catalase

Toutes les souches isolées ont donné une réaction positive au test de la catalase, exprimée par un fort dégagement de gaz.

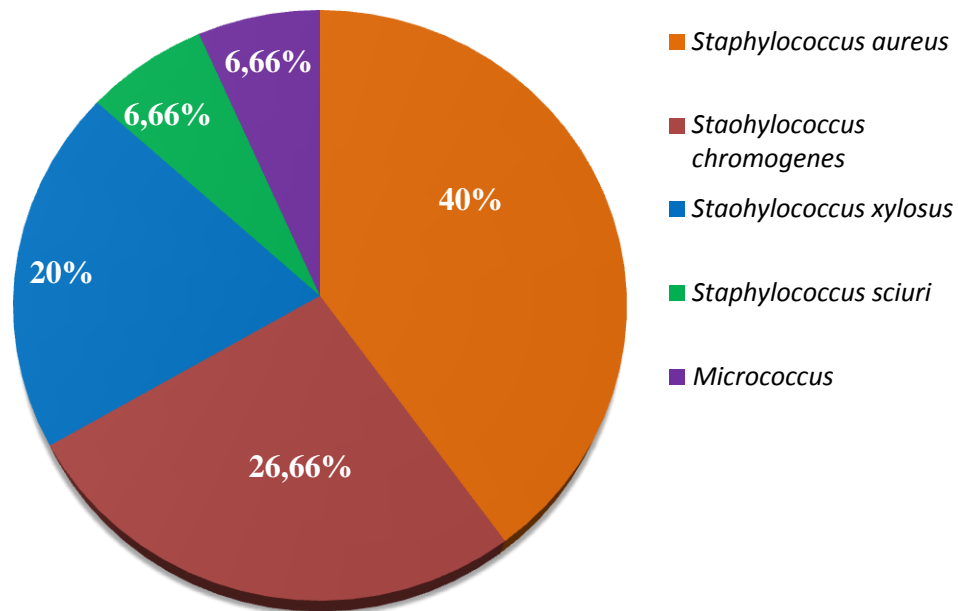
Les résultats des tests de pré-identification des bactéries isolées sont regroupés dans le tableau 05

**Tableau 05** : Tests de pré-identification des souches de *Staphylococcus*

Souche	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Test de la catalase
<i>Staphylococcus sp.</i>	Colonies arrondies, brillantes, à bords réguliers, bombées, jaunes doré ou blanches sur le milieu de chapman	Coques à gram positif, groupés en amas sous forme de grappe de raisin	Positive
			
			

#### IV.1.3.4. Identification des espèces de *Staphylococcus* par galerie Api Staph

L'examen biochimique par galerie Api Staph a permis d'identifier quatre espèces du genre *Staphylococcus* et une bactérie du genre *Micrococcus* (Fig.13) :

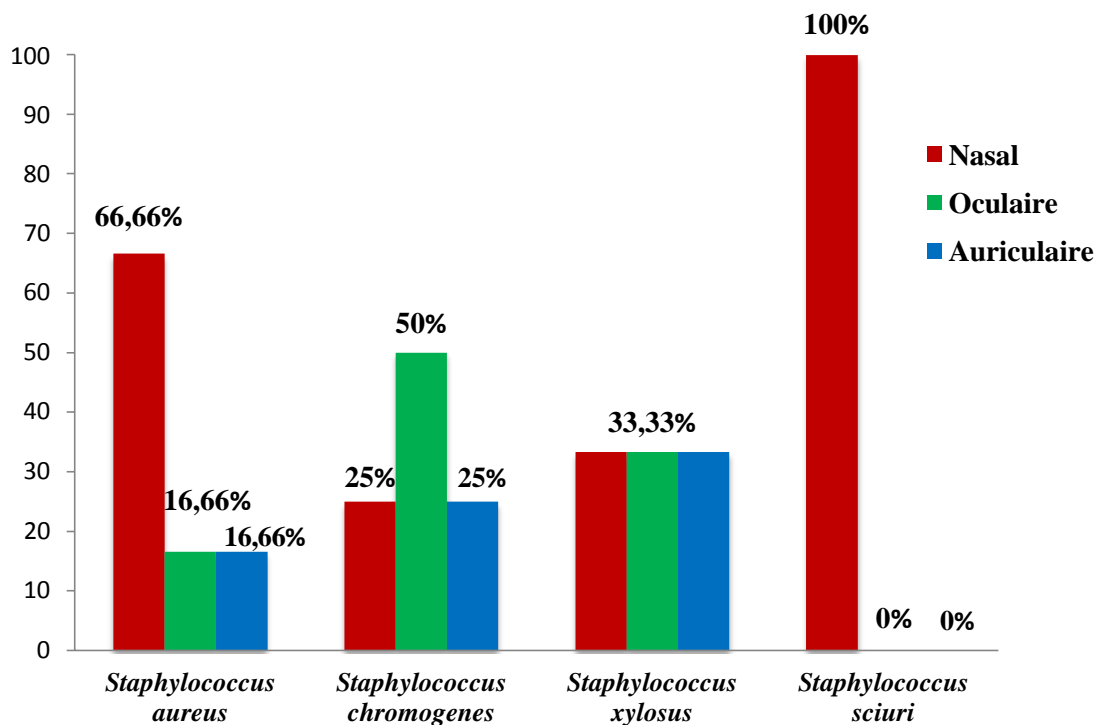


**Figure 13.** Pourcentage des espèces du genre *Staphylococcus* isolées dans tous les prélèvements

Les résultats de la figure 13 montrent, une prédominance de *S. aureus* (40%), suivie de *S. chromogenes* (26,66%), *S. xylosus* (20%) et enfin *S. sciuri* (6,66%). Cette prédominance des souches de *S. aureus* par rapport aux autres espèces de staphylocoques, peut se justifier par le fait que près de 85% des animaux de la population étudiée étaient constitués de chiens malades. En effet, *S. aureus* est un pathogène opportuniste impliqué souvent isolé chez des sujets dont le système immunitaire est affaibli.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par **Angandza (2011)** qui stipule une prédominance de *S. pseudintermedius* par rapport aux souches de *S. aureus* chez les chiens

Le pourcentage des différentes espèces de *Staphylococcus* dans chaque prélèvement est représenté dans la figure 14



**Figure 14.** Pourcentage des espèces du genre staphylococcus identifiées par Galerie Api Staph dans chaque prélèvement

D'après les résultats de la figure ci-dessus, *S.aureus* est l'espèce la plus prédominante dans les prélèvements d'origine nasale. Ce résultat est en accord avec la littérature qui rapporte que *S.aureus* est une espèce commensale de la peau et des muqueuses des animaux avec une prédominance pour les fosses nasales et le périnée.

*Staphylococcus chromogenes* est une espèce prédominante dans les prélèvements d'origine oculaire avec un pourcentage de 50%.

Le pourcentage d'isolement de *S.xylosus* était identique (33,33%) dans tous les prélèvements quelque soit leur nature (nasale, oculaire ou auriculaire).

Nous avons remarqué la présence d'une espèce moins connue (*Staphylococcus sciuri*) dans tous les prélèvements d'origine nasale avec absence totale de la même espèce dans les autres prélèvements.

IV.1.4. Antibiogramme

Les résultats relatifs à l'étude de la sensibilité des souches de *S. aureus* aux antibiotiques sont résumés dans les tableaux 06, 07 et 08

**Tableau 06** : Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* d'origine nasale aux antibiotiques

Classe	ATB	<i>S.aureus</i> 1	<i>S.aureus</i> 2	<i>S.aureus</i> 3	<i>S.aureus</i> 4	<i>S.aureus</i> 5	<i>S.aureus</i> 6
<b>Betalactamines</b>	P <sub>10</sub>	R	I	I	S	R	I
	FOX <sub>30</sub>	S	S	S	S	S	S
	OX <sub>5</sub>	S	R	R	S	S	S
	AML <sub>30</sub>	R	R	R	R	R	R
	AMC <sub>30</sub>	R	S	S	S	R	R
<b>Aminosides</b>	CN <sub>10</sub>	R	S	S	S	S	S
<b>Tétracyclines</b>	TE <sub>30</sub>	R	R	R	R	R	I
<b>Sulfamides</b>	SXT <sub>25</sub>	S	R	R	R	R	R

S: sensible, R: résistante, I: intermédiaire

Les résultats du tableau 06 montrent une multirésistance de la totalité des souches de *S.aureus* (06 souches) d'origine nasale à des d'antibiotiques appartenant à au moins trois classes différentes. En effet, toutes les souches étaient résistantes à au moins un antibiotique de la famille des Bétalactamines (100% résistantes à l'amoxicilline), cinq souches étaient résistantes à la tétracycline et 5 souches ont montré une résistance au sulfamide. La gentamicine est active contre 83,33% des souches et la cefoxitine est très active contre toutes les souches.

**Tableau 07** : Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* d'origine oculaire aux antibiotiques

Classe	ATB	<i>S.aureus</i> 1	<i>S.aureus</i> 2	<i>S.aureus</i> 3	<i>S.aureus</i> 4
<b>Betalactamines</b>	P <sub>10</sub>	R	I	I	R
	FOX <sub>30</sub>	S	S	S	S
	OX <sub>5</sub>	S	R	R	S
	AML <sub>30</sub>	R	R	R	R
	AMC <sub>30</sub>	R	R	S	S
<b>Aminosides</b>	CN <sub>10</sub>	S	S	S	S
<b>Tétracyclines</b>	TE <sub>30</sub>	R	R	R	I
<b>Sulfamides</b>	SXT <sub>25</sub>	S	S	S	I

S: sensible, R: résistante, I: intermédiaire

Les résultats du tableau 07 montrent que 100% des souches de *S.aureus* d'origine oculaire sont résistantes à l'amoxicilline et sensibles à la céfoxitine. Parallèlement, nous avons noté une sensibilité de tous les isolats à la gentamicine, une sensibilité de 75% des souches au sulfamide et une résistance de 75% des souches à la tétracycline.

**Tableau 08** : Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* d'origine auriculaire aux antibiotiques

Classe	ATB	<i>S.aureus</i> 1	<i>S.aureus</i> 2	<i>S.aureus</i> 3
<b>Betalactamines</b>	P <sub>10</sub>	S	I	S
	FOX <sub>30</sub>	S	S	S
	OX <sub>5</sub>	S	S	S
	AML <sub>30</sub>	R	R	R
	AMC <sub>30</sub>	R	S	S
<b>Aminosides</b>	CN <sub>10</sub>	S	S	S
<b>Tétracyclines</b>	TE <sub>30</sub>	R	R	R
<b>Sulfamides</b>	SXT <sub>25</sub>	S	S	R

S: sensible, R: résistante, I: intermédiaire

Les résultats du tableau 08 montrent une sensibilité de 100% des souches d'origine auriculaire à deux antibiotiques de la famille des bêtalactamines ; l'oxacilline et la céfoxitine. Ainsi 75% des *S.aureus* sont sensibles à la pénicilline et à l'Amoxicilline-acide clavulanique. L'amoxicilline par contre, était inactive sur la totalité des souches.

Nous avons aussi noté une sensibilité de 100% des souches à la gentamicine et une résistance de 100% des isolats à la tétracycline. Le sulfamide associé au triméthoprime était actif contre 75% des souches.

Les souches de *S. aureus* isolées se révèlent globalement résistantes aux antibiotiques. Cette résistance intéresse surtout l'amoxicilline avec un taux de 100% suivie de celle relative à la tétracycline avec un pourcentage de 73.33%. Ces résultats sont différents à ceux obtenus par **Angandza (2011)** qui a rapporté une résistance à la tétracycline avec un taux de 53,85%.

Cette différence pourrait d'une part s'expliquer par le nombre de prélèvements . En effet, notre étude a porté sur 07 chiens contrairement à **Angandza (2011)** qui a travaillé sur 102 chiens. D'autre part, la variabilité des cabinets vétérinaires lors des collectes des données dans l'étude d'Angandza (2011) contrairement à notre étude qui s'est déroulée dans un seul service vétérinaire explique aussi ces différences.

# *Conclusion*



## Conclusion

---

Pendant longtemps, l'utilisation des antibiotiques s'est accrue au gré des découvertes de nouvelles molécules, jusqu'à devenir massive et parfois même abusive. C'est essentiellement l'apparition d'échecs thérapeutiques qui a conduit à la notion d'antibiorésistance et à l'étude des mécanismes d'émergence et de diffusion des résistances ainsi que le suivi d'un certain nombre de recommandations et perspectives afin de minimiser l'émergence des germes.

Plusieurs études ont établi que l'apparition de la résistance est associée d'une part, à la surconsommation d'antibiotiques et d'autre part, à des traitements trop courts ou trop longs parfois mal dosés. Cette antibiorésistance peut être inhérente à une espèce ou un genre bactérien. Par ailleurs, elle peut être acquise par certaines souches chez une espèce habituellement sensible à l'antibiotique considéré.

Staphylococcus qui fait partie des communautés bactériennes constituant la flore commensale de la peau et des muqueuses des animaux notamment le chien a développé une multi résistance vis-à-vis de plusieurs classes d'antibiotiques.

Notre étude a montré une prédominance du staphylocoque doré (*S.aureus*) dans les prélèvements d'origine nasale surtout avec une extrême résistance à l'amoxicilline et la tétracycline.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

1. **Abadía Patiño L, Christiansen K, Bell J, Courvalin P et al (2004).** VanE-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* clinical isolates from Australia. *Antimicrob Agents Chemother* 48:4882–4885
2. **Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P., & Chihib, N. E. (2014).** Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives of microbiology*, 196(7), 453-472.
3. **Accarias, S. (2014).** *Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
4. **AISSANI D M. AIT IDIR T. (2018).** Prévalence et résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées d'animaux de la ferme. Université A. MIRA – Béjaia. 31p.
5. **ALIOUA, M. A. (2015).** Les Staphylocoques: sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline (Doctoral dissertation, Université de Béjaia).
6. **Amagai, M., Matsuyoshi, N., Wang, Z. H., Andl, C., & Stanley, J. R. (2000).** Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. *Nature medicine*, 6(11), 1275-1277.
7. **Ammour, F. (2018).** Prévalence de *Staphylococcus aureus* au Niveau de la Viande de Poulet de Chair (dans la region de tiaret). Université Ibn Khaldoun de Tiaret Institut des Sciences vétérinaires. 93p.
8. **Appelbaum, P. C. (2006).** MRSA—the tip of the iceberg. *Clinical microbiology and infection*, 12, 3-10.
9. **Archer, N. K., Mazaitis, M. J., Costerton, J. W., Leid, J. G., Powers, M. E., & Shirliff, M. E. (2011).** *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence*, 2(5), 445-459.
10. **Balaban, N., & Rasooly, A. (2000).** Staphylococcal enterotoxins. *International journal of food microbiology*, 61(1), 1-10.
11. **Behme, R. J., Shuttleworth, R., McNabb, A., & Colby, W. D. (1996).** Identification of staphylococci with a self-educating system using fatty acid analysis and biochemical tests. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(12), 3075-3084.
12. **Benyoussef, S.** Les sulfamides antibactériens [en ligne], <http://pharmatox.voila.net/cours/sulfamidesantibacteriens.pdf>, consulté en décembre 2012.

## Références bibliographiques

---

13. **Bricaire, F. (1997).** Pourquoi une association antibiotique?. *Reanimation Urgences*, 6(4), 3s-8s.
14. **Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., 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(1), 452-471.
15. **Brown, D. F., Edwards, D. I., Hawkey, P. M., Morrison, D., Ridgway, G. L., Towner, K. J., & Wren, M. W. (2005).** Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Antimicrobial chemotherapy*, 56(6), 1000-1018.
16. **Brun, Y., & Bes, M. (2000).** *Staphylococcus*. *Précis de bactériologie clinique*, 783-830.
17. **Bukowski, M., Wladyka, B., & Dubin, G. (2010).** Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins*, 2(5), 1148-1165.
18. **CASFM (2013).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Communiqué 2013.
19. **Chopra, I., & Roberts, M. (2001).** Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65(2), 232-260.
20. **Collin County Community College District. Catalase Test [en ligne],** [http://iws2.collin.edu/dcaim/CCCCD%20Micro/catalase\\_test.htm](http://iws2.collin.edu/dcaim/CCCCD%20Micro/catalase_test.htm) consulté en novembre 2012.
21. **Couderc C, Thébaut A, Hermann JL, Salmon J, Guillemot D. (2014).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* decolonization in long-term-care facilities: preliminary results. Rencontres scientifiques du Réseau doctoral en santé publique. Paris, France.
22. **Couture, B. (1990).** *Bactériologie médicale: étude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical*. Décarie.
23. **Davies, J., & Mazel, D. (1997).** Comment la résistance vient aux bactéries. *Biofutur*, 170(1997), 14-17.
24. **Daurel C et Leclercq R (2010).** Faut-il abandonner la vancomycine , *Arch. Ped.* 17: 121-128.
25. **De Jonge, B. L., & Tomasz, A. (1993).** Abnormal peptidoglycan produced in a methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* grown in the presence of methicillin: functional role for penicillin-binding protein 2A in cell wall synthesis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 37(2), 342-346.
26. **Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. *Éditions*

## Références bibliographiques

---

*Médicales Internationales, Lavoisier.*

27. **Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (2000).** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology reviews*, 13(1), 16-34.
28. **Dorosz, P. (1995).** Guide pratique des médicaments. 30eme éd. ;Maloine, Paris, 2011; p1892.
29. **Drugeon, H. (2006).**  $\beta$ -lactamines et staphylocoques. *Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. AntibioGramme. ESKA, Paris*, p117-123.
30. **Durand, G. (2009).** Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) (Doctoral dissertation, Lyon 1).
31. **Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K., & Stackebrandt, E. (2006).** The Prokaryotes Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. *Editorial Springer*, 242.
32. **Enright, M. C., Day, N. P., Davies, C. E., Peacock, S. J., & Spratt, B. G. (2000).** Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 38(3), 1008-1015.
33. **Eveillard, M. (2007).** *Politique de dépistage de Staphylococcus aureus résistant à la méticilline 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* (Doctoral dissertation).
34. **Farrell, A. M., Taylor, D., & Holland, K. T. (1995).** Cloning, nucleotide sequence determination and expression of the *Staphylococcus aureus* hyaluronate lyase gene. *FEMS microbiology letters*, 130(1), 81-85.
35. **Foster, T. J. (2005).** Immune evasion by staphylococci. *Nature reviews microbiology*, 3(12), 948-958.
36. **García, P., Benítez, R., Lam, M., Salinas, A. M., Wirth, H., Espinoza, C., ... & Guzmán, A. M. (2004).** Coagulase-negative staphylococci: clinical, microbiological and molecular features to predict true bacteraemia. *Journal of medical microbiology*, 53(1), 67-72.
37. **Gaudy, C., Buxeraud, J., & Mereghetti, L. (2005).** Antibiotiques(pharmacologie et thérapeutique). *Collection pharma*.
38. **Giguère, S. (2006).** Tetracyclines and glycylicyclines. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*, 231-240.
39. **Gilmore KS., Gilmore MS., Sahn DF (2008).** Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* .291-312.

## Références bibliographiques

---

40. **Goodyear, C. S., & Silverman, G. J. (2003).** Death by a B Cell Superantigen In Vivo VH-targeted Apoptotic Supraclonal B Cell Deletion by a Staphylococcal Toxin. *Journal of Experimental Medicine*, 197(9), 1125-1139.
41. **Grace, D., & Fetsch, A. (2018).** Staphylococcus aureus—A foodborne pathogen: Epidemiology, detection, characterization, prevention, and control: An overview. In *Staphylococcus aureus* (pp. 3-10). Academic Press.
42. **Gross, M., Cramton, S. E., Götz, F., & Peschel, A. (2001).** Key role of teichoic acid net charge instaphylococcus aureus colonization of artificial surfaces. *Infection and immunity*, 69(5), 3423-3426.
43. **Grundmann, H., Aires-de-Sousa, M., Boyce, J., & Tiemersma, E. (2006).** Emergence and resurgence of meticillin-resistant Staphylococcus aureus as a public-health threat. *The Lancet*, 368(9538), 874-885.
44. **Hart, M. E., Hart, M. J., & Roop, A. J. (2009).** Genotypic and phenotypic assessment of hyaluronidase among type strains of a select group of staphylococcal species. *International Journal of Microbiology*, 2009.
45. **Hennekinne, J. A., Kerouanton, A., Brisabois, A., & De Buyser, M. L. (2003).** Discrimination of Staphylococcus aureus biotypes by pulsed-field gel electrophoresis of DNA macro-restriction fragments. *Journal of applied microbiology*, 94(2), 321-329.
46. **Hiramatsu, K., Cui, L., Kuroda, M., & Ito, T. (2001).** The emergence and evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Trends in microbiology*, 9(10), 486-493.
47. **Hu, Y., Meng, J., Shi, C., Hervin, K., Fratamico, P. M., & Shi, X. (2013).** Characterization and comparative analysis of a second thermonuclease from Staphylococcus aureus. *Microbiological research*, 168(3), 174-182.
48. **Jin, T., Bokarewa, M., Foster, T., Mitchell, J., Higgins, J., & Tarkowski, A. (2004).** Staphylococcus aureus resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. *The Journal of Immunology*, 172(2), 1169-1176.
49. **Jongerijs, I., Köhl, J., Pandey, M. K., Ruyken, M., van Kessel, K. P., van Strijp, J. A., & Rooijackers, S. H. (2007).** Staphylococcal complement evasion by various convertase-blocking molecules. *The Journal of experimental medicine*, 204(10), 2461-2471.
50. **Katayama, Y., Baba, T., Sekine, M., Fukuda, M., & Hiramatsu, K. (2013).** Beta-hemolysin promotes skin colonization by Staphylococcus aureus. *Journal of bacteriology*, 195(6), 1194-1203.

## Références bibliographiques

---

51. **Katayama, Y., Ito, T., & Hiramatsu, K. (2000).** A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(6), 1549-1555.
52. **KIOUBA, J. C. (2003).** *L'usage des Antibiotiques en milieu hospitalier* (Doctoral dissertation, Thèse Pharm, Bamako).
53. **Leemans, J. C., Heikens, M., van Kessel, K. P., Florquin, S., & van der Poll, T. (2003).** Lipoteichoic acid and peptidoglycan from *Staphylococcus aureus* synergistically induce neutrophil influx into the lungs of mice. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 10(5), 950-953.
54. **Leyral, G., & Vierling, E. (2007).** *Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaires*. Wolters Kluwer France.
55. **Lindsay, J. A. (2010).** Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(2-3), 98-103.
56. **Lowy, F. D. (1998).** *Staphylococcus aureus* infections. *New England journal of medicine*, 339(8), 520-532.
57. **Mainardi, J. L., Goldstein, F. W., & Gutmann, L. (1996).** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *Encyclopédie médico-chirurgicale. Maladies infectieuses*, 8-006.
58. **Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2010).** Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cellular and molecular life sciences*, 67(18), 3057-3071.
59. **Marchal, N., Bourdon, J. L., & Richard, C. (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.
60. **Matos JS, Langlois BE et Withe DG. (1991).** Isolation of staphaurensigrom sites other than lactatin gmammary . *Journal of dairy science*. 1554-1549.
61. **Mellaoui, M. (2014).** Analyse des relations structures propriétés pour des dérivés de la céphalosporine et de l'Oxazole (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
62. **Merino, N., Toledo-Arana, A., Vergara-Irigaray, M., Valle, J., Solano, C., Calvo, E., ... & Lasa, I. (2009).** Protein A-mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*, 191(3), 832-843.
63. **Meynard J.L et Frottier J. (1996).** Lincommlycines ; synergistines. In:Encyméd chir (Elsevier, paris) mal infect 8-004-F-10. 4P.

## Références bibliographiques

---

64. **Moisan, A. (2013).** Les antibactériens en médecine vétérinaire des carnivores domestiques: état des lieux des connaissances des étudiants et des vétérinaires; perspectives d'évolution (Doctoral dissertation).
65. **Mölkänen, T., Tyynelä, J., Helin, J., Kalkkinen, N., & Kuusela, P. (2002).** Enhanced activation of bound plasminogen on *Staphylococcus aureus* by staphylokinase. *FEBS letters*, 517(1-3), 72-78.
66. **Monecke, S., Gavier-Widen, D., Mattsson, R., Rangstrup-Christensen, L., Lazaris, A., Coleman, D. C., ... & Ehricht, R. (2013).** Detection of *mecC*-positive *Staphylococcus aureus* (CC130-MRSA-XI) in diseased European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in Sweden. *PloS one*, 8(6), e66166.
67. **Moon, B. Y., Park, J. Y., Hwang, S. Y., Robinson, D. A., Thomas, J. C., Fitzgerald, J. R., ... & Seo, K. S. (2015).** Phage-mediated horizontal transfer of a *Staphylococcus aureus* virulence-associated genomic island. *Scientific reports*, 5, 9784.
68. **Morea, M., Baruzzi, F., & Cocconcelli, P. S. (1999).** Molecular and physiological characterization of dominant bacterial populations in traditional Mozzarella cheese processing. *Journal of Applied Microbiology*, 87(4), 574-582.
69. **Morin Y., Gillot C. Larousse médical. Édition / VUEF 2001.**
70. **Murakami, K., Minamide, W., Wada, K., Nakamura, E., Teraoka, H., & Watanabe, S. (1991).** Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology*, 29(10), 2240-2244.
71. **Neuhaus, F. C., & Baddiley, J. (2003).** A continuum of anionic charge: structures and functions of D-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(4), 686-723.
72. **Nilsson, I. M., Lee, J. C., Bremell, T., Ryden, C., & Tarkowski, A. (1997).** The role of staphylococcal polysaccharide microcapsule expression in septicemia and septic arthritis. *Infection and immunity*, 65(10), 4216-4221.
73. **O'Neill, A. J., McLaws, F., Kahlmeter, G., Henriksen, A. S., & Chopra, I. (2007).** Genetic basis of resistance to fusidic acid in staphylococci. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(5), 1737-1740.
74. **Orenstein, A. (2011).** The discovery and naming of *Staphylococcus aureus*. *Periodical [serial online]*. Date. Available from.
75. **Paul H. Roy. (1997).** Dissémination de la résistance aux antibiotiques: le génie génétique à l'oeuvre chez les bactéries.



## Références bibliographiques

76. Peacock, S. J., Moore, C. E., Justice, A., Kantzanou, M., Story, L., Mackie, K., ... & Day, N. P. (2002). Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. *Infection and immunity*, 70(9), 4987-4996.
77. Persoons, D., Van Hoorebeke, S., Hermans, K., Butaye, P., De Kruif, A., Haesebrouck, F., & Dewulf, J. (2009). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry. *Emerging infectious diseases*, 15(3), 452.
78. Peton, V., & Le Loir, Y. (2014). *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 602-615.
79. Pilly E. (2014). Antibiothérapie : Principes généraux, pages 28.
80. Poole K (2004). Uninhibited antibiotic target discovery via chemical genetics. *Nat Biotechnol.* 22(12):1528-1529.
81. P k š vá L P t žníková, B., Potempa, J., Zikán, J., Radl, J., Hachová, L., ... & John, C. (1992). Cleavage of human immunoglobulins by serine proteinase from *Staphylococcus aureus*. *Immunology letters*, 31(3), 259-265.
82. Quincampoix, J. C., & Mainardi, J. L. (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation*, 10(3), 267-275.
83. Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Hartigan, P., Fanning, S., & Fitzpatrick, E. (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*. John Wiley & Sons.
84. Riber, U., Espersen, F. R. A. N. K., Wilkinson, B. J., & Kharazmi, A. R. S. A. L. A. N. (1990). Neutrophil chemotactic activity of peptidoglycan A comparison between *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *APMIS*, 98(7-12), 881-886.
85. 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.
86. Rooijackers, S. H. M., Van Wamel, W. J. B., Ruyken, M., Van Kessel, K. P. M., & Van Strijp, J. A. G. (2005). Anti-opsonic properties of staphylokinase. *Microbes and Infection*, 7(3), 476-484.
87. Ryffel, C. R. I. S. T. I. N. A., Kayser, F. H., & Berger-Bächi, B. (1992). Correlation between regulation of *mecA* transcription and expression of methicillin resistance in staphylococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36(1), 25-31.
88. Schmitz, F. J., Veldkamp, K. E., Kessel, K. P. V., Verhoef, J., & Strijp, J. A. V. (1997). Delta-toxin from *Staphylococcus aureus* as a costimulator of human neutrophil oxidative burst. *Journal of Infectious Diseases*, 176(6), 1531-1537.
89. Seidl, K., Bischoff, M., & Berger-Bächi, B. (2008). CcpA mediates the catabolite

## Références bibliographiques

---

- repression of *tst* in *Staphylococcus aureus*. *Infection and immunity*, 76(11), 5093-5099.
90. **Shaw, L., Golonka, E., Potempa, J., & Foster, S. J. (2004).** The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, 150(1), 217-228.
  91. **Simons, J. W. F., Adams, H., Cox, R. C., Dekker, N., Götz, F., Slotboom, A. J., & Verheij, H. M. (1996).** The Lipase from *Staphylococcus aureus*: Expression in *Escherichia coli*, Large-scale Purification and Comparison of Substrate Specificity to *Staphylococcus hyicus* Lipase. *European journal of biochemistry*, 242(3), 760-769.
  92. **Smith, A. J., Jackson, M. S., & Bagg, J. (2001).** The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. *Journal of medical microbiology*, 50(11), 940-946.
  93. **Snyder, L., & Champness, W. (1997).** *Molecular genetics of bacteria* (Vol. 19). Washington, DC: Asm Press.
  94. **Soares, M. J. S., Tokumaru-Miyazaki, N. H., Noieto, A. L. S., & Figueired, A. M. S. (1997).** Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* clones and detection of Brazilian epidemic MRSA clone (III:: B: A) among isolates from food handlers. *Journal of medical microbiology*, 46(3), 214-221.
  95. **Staali, L., Monteil, H., & Colin, D. A. (1998).** The staphylococcal pore-forming leukotoxins open Ca<sup>2+</sup> channels in the membrane of human polymorphonuclear neutrophils. *The Journal of membrane biology*, 162(3), 209-216.
  96. **Sutra, L., Federighi, M., & Jouve, J. L. (1998).** *Manuel de bactériologie alimentaire*. Polytechnica.
  97. **Swoboda, J. G., Campbell, J., Meredith, T. C., & Walker, S. (2010).** Wall teichoic acid function, biosynthesis, and inhibition. *ChemBiochem*, 11(1), 35-45.
  98. **Takeuchi, O., Hoshino, K., Kawai, T., Sanjo, H., Takada, H., Ogawa, T., ... & Akira, S. (1999).** Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity*, 11(4), 443-451.
  99. **Taylor, D. E., & Chau, A. (1996).** Tetracycline resistance mediated by ribosomal protection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 40(1), 1.
  100. **Thakker, M., Park, J. S., Carey, V., & Lee, J. C. (1998).** *Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. *Infection and immunity*, 66(11), 5183-5189.
  101. **Thériaque.** Banque de données sur le médicament [en ligne], <http://www.theriaque.org>, consulté en novembre 2012.
  102. **Tseng, C. W., Kyme, P., Low, J., Rocha, M. A., Alsabeh, R., Miller, L. G., ... & Doherty, T. M. (2009).** *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin contributes

## Références bibliographiques

---

- to inflammation and muscle tissue injury. *PLoS one*, 4(7), e6387.
103. **UP pharmacie-toxicologie. (2012/2013).** Les antibiotiques en médecine vétérinaire.
  104. **Vincenot, F., Saleh, M., & Prévost, G. (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des laboratoires*, 2008(407), 61-69.
  105. **Wattam, A. R., Abraham, D., Dalay, O., Disz, T. L., Driscoll, T., Gabbard, J. L., ... & Machi, D. (2014).** PATRIC, the bacterial bioinformatics database and analysis resource. *Nucleic acids research*, 42(D1), D581-D591.
  106. **Weese, J. S. (2010).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals. *ILAR journal*, 51(3), 233-244.
  107. **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 canine *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary research*, 32(3-4), 341-362.
  108. **Whitman WB, editor. Systematic Bacteriology [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2009.** Available: <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-68489-5>.
  109. **Xia, G., Kohler, T., & Peschel, A. (2010).** The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(2-3), 148-154.
  110. **Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar Korich, M. N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1), 5-12.
  111. **Yves, L. L., & Michel, G. A. N. T. I. E. R. (2009).** *Staphylococcus aureus*. Lavoisier.

### Sites internet :

1. Pr Benyoussef, S. Les sulfamides antibactériens [en ligne], <http://pharmatox.voila.net/cours/sulfamidesantibacteriens.pdf>, consulté en décembre 2012.
2. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01058/full>
3. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01058/full>
4. [www.antibioticsinfo.org/clindamycin.html&psig1607804821788000&source](http://www.antibioticsinfo.org/clindamycin.html&psig1607804821788000&source)
5. <https://slideplayer.fr/slide/1580994/4/images/8/R%C3%A9sistance+%C3%A0+la+m%C3%A9thicilline+%3A+m%C3%A9canisme.jpg>
6. <http://www.microbesedu.org.etudiant.antibio3.html&psig>
7. « RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES » [archive], sur <http://anne.decoستر.free.fr>

# *Annexes*

## Annexes

### Annexe 01. Composition des milieux de culture

#### Gélose nutritive (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Peptone de gélatine.....	05
Extrait de viande.....	03
Extrait de levure .....	03
Chlorure de sodium .....	05
Agar.....	18

pH= 7.3

#### Gélose Chapman (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Peptone .....	10
Extrait de viande.....	01
Mannitol .....	10
Chlorure de sodium .....	75
Rouge de phénol.....	0.025
Agar.....	15

pH= 7.3

#### Gélose Müller -Hinton (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Infusion de viande de bœuf... ..	2,00
Hydrolysate de caséine.....	17,5
Amidon .....	1.50
Agar.....	17.0

pH 7.4 ± 0.2.

## Annexes

---

### Annexe 02. Coloration de Gram (Singleton et Sainsbury, 1994)

1. Préparer un frottis bactérien en transférant un petit fragment d'une colonie dans une goutte d'eau déposée préalablement sur une lame de verre propre.
2. Disperser la colonie dans l'eau afin d'obtenir une suspension laiteuse.
3. Étaler la suspension sur une surface d'un à deux centimètres carrés.
4. La suspension est ensuite séchée de façon à obtenir le frottis. Ce dernier est fixé en le passant rapidement une ou deux fois dans la flamme du bec bunsen.
5. Recouvrir le frottis d'une solution de violet de gentiane pendant une minute.
6. Verser le lugol et laisser agir pendant 1 minute puis rincer à l'eau distillée.
7. Décolorer avec l'alcool à 95% en plaçant la lame dans une position oblique puis rincer à l'eau.
8. Recouvrir le frottis avec une solution de fuchsine pendant une minute puis rincer et sécher le frottis.
9. Observation microscopique à immersion (X100) : les bactéries à Gram- apparaissent roses et les bactéries à Gram+ se colorent en violet.

## Annexes

**Annexe 03.** Tableau de Lecture de la galerie API Staph

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULT	
				NEGATIVE	POSITIVE
0	No substrate		Negative control	red	—
GLU	D-glucose	1.56	(Positive control) (D-GLUcose)	red *	yellow
FRU	D-fructose	1.4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1.4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1.4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (bovine origin)	1.4	acidification (LACtose)		
TRE	D-trehalose	1.32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1.36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1.4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-melibiose	1.32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	potassium nitrate	0.08	Reduction of NITrates to nitrites		
PAL	$\beta$ -naphthyl phosphate	0.0244	ALKaline Phosphatase	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> yellow   violet	
VP	sodium pyruvate	1.904	Acetyl-methyl-carbinol production (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> colorless-light pink   violet-pink	
RAF	D-raffinose	1.56	acidification (RAFfinose)	red	yellow
XYL	D-xylose	1.4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose (sucrose)	1.32	acidification (SACcharose)		
MDG	methyl- $\alpha$ -D- glucopyranoside	1.28	acidification (Methyl- $\alpha$ -D- Glucopyranoside)		
NAG	N-acetyl-glucosamine	1.28	acidification (N-Acetyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1.904	Arginine DiHydrolase	yellow	orange-red
<u>URE</u>	urea	0.76	UREase	yellow	red-violet

## Annexes

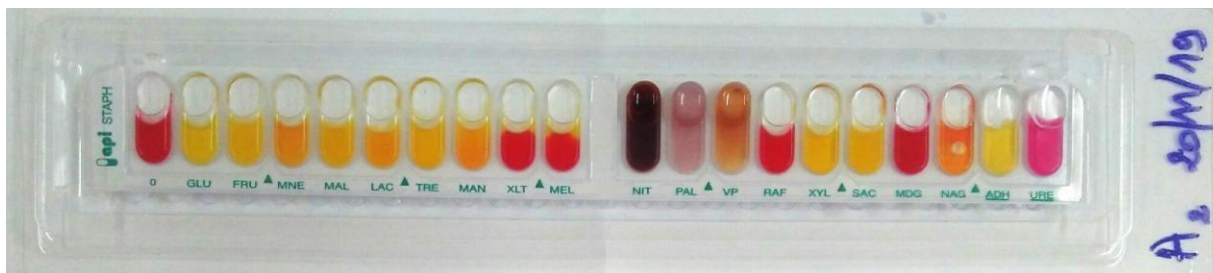
### Annexe 04. Profils biochimiques des souches isolées sur galerie API Staph



Profil biochimique de *Staphylococcus aureus*



Profil biochimique de *Staphylococcus chromogenes*



Profil biochimique de *Staphylococcus xylosum*



## Annexes

---

**Annexe 05.** Table de lecture de l'antibiogramme (CASFM, 2018).

Antibiotique	Symbole	Concentration ( $\mu\text{g}$ )	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Amoxicilline	AML	30	$<14$	15-21	$\geq 22$
Amoxicilline - acide clavulanique	AMC	20	$\leq 13$	14-17	$\geq 18$
Céfoxitime	FOX	30	$\leq 14$	15-17	$\geq 18$
Gentamicine	CN	10	$\leq 12$	13-14	$\geq 15$
Oxacilline	OX	5	$\leq 10$	11-12	$\geq 13$
Sulfaméthoxazole- Triméthoprim	SXT	25	$\leq 10$	11-15	$\geq 16$

# *Résumé*

## Résumé :

L'accroissement des résistances bactériennes aux antibiotiques est une menace pour la santé animale en particulier en thérapeutique canine.

*Staphylococcus aureus* présente un problème majeur qui consiste en sa capacité de développer plusieurs types de résistance aux antibiotiques ce qui réduit, en conséquence, le choix du traitement et sa probabilité de réussite.

Notre étude a pour objectif d'identifier les souches de *Staphylococcus* présentes chez le chien et d'étudier la résistance de ces souches aux différentes familles d'antibiotiques utilisées en thérapeutique canine.

Les résultats de l'étude ont révélé que sur 19 prélèvements analysés, 15 se sont révélés positifs soit un taux de 78.94 % du nombre total des prélèvements.

Sur 15 prélèvements positifs, 7 d'origine nasale soit un taux de 46.66%, 5 d'origine oculaire d'un taux de 33.33%, et 3 d'origine auriculaire avec un taux de 02%.

4 espèces de Staphylocoques ont été isolées et identifiées avec un taux de 40% pour *S.aureus*, 26.66% pour *S.chromogenes*, 20% pour *S.xylosus* et 6.66% pour *S.sciuri*.

Toutes des souches de *S.aureus* isolées dans les différents prélèvements ont montré une résistance à au moins un antibiotique voire une multi-résistance à au moins trois classes d'antibiotiques différentes.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus*, chien, résistance, antibiotiques.