



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES



Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
«BioProcédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

*Etude de la résistance des staphylocoques
isolés à partir des aliments à la méticilline
(précisément à la céfoxitine)*

Présenté par :

-Mlle SUIFFI Kawtar

Encadré par :

-Pr. HAGGOURD Abdellatif (FST, Fès)

- Pr. BENNANI Bahia (FMP, Fès)

Soutenu le : 5 Juin 2018

Devant le jury composé de :

- **Mme BENNANI Bahia (FMP, Fès)**
- **Mr HAGGOURD Abdellatif (FST, Fès)**
- **Mme EL ABED Soumya (FST, Fès)**

Année universitaire
2017/2018





UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES



Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
«BioProcédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

*Etude de la résistance des staphylocoques
isolés à partir des aliments à la méticilline
(précisément à la céfoxitine)*

Présenté par :

-Mlle SUIFFI Kawtar

Encadré par :

-Pr. HAGGOURD Abdellatif (FST, Fès)

- Pr. BENNANI Bahia (FMP, Fès)

Soutenu le : 5 Juin 2018

Devant le jury composé de :

- **Mme BENNANI Bahia (FMP, Fès)**
- **Mr HAGGOURD Abdellatif (FST, Fès)**
- **Mme EL ABED Soumya (FST, Fès)**

Année universitaire

2017/2018

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon père, Qu'il puisse reposer en paix.

A ma douce et tendre mère, le symbole de la tendresse, du courage, de la responsabilité et de l'amour ... Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi. Que Dieu te garde, te comble de santé, et te donne longue vie.

*A mes chers frères, ma fierté dans cette vie. A ma tendre, gentille et adorable sœur ,
Que le grand Dieu vous offre un avenir plein de réussite et de bonheur .*

*A mes chères amies à qui j'exprime mes plus profonds sentiments d'amour.
je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage, et pour les
bons moments qu'on a passé ensemble.*

*A tous mes Professeurs et mes collègues, Votre collaboration et votre aide m'ont été
très précieuses.*



Remerciements

Je commence par remercier **Dieu le tout Puissant** qui m'a donné la capacité d'achever ce travail et qui m'a aidé à dépasser toutes les difficultés que j'ai rencontrées. Je lui demande de guider mes pas dans le chemin qui méritera son approbation.

Je voudrai présenter mes remerciements en premier lieu à la direction et l'ensemble du personnel de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, de m'avoir accueilli parmi eux pour effectuer un stage au sein du laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, dans les meilleures conditions.

J'adresse ma reconnaissance à **Pr. Bahia Bennani** pour avoir acceptée de diriger ce travail, je lui adresse tout mes remerciements pour sa compréhension, son respect et son humanité.

Je tiens particulièrement à remercier mon encadrant de mémoire **Pr. Abdellatif Haggoud** qui a accepté favorablement de m'encadrer pendant ce stage et qui m'a guidé avec ses précieux conseils, je lui exprime mes profondes gratitude et mes sincères remerciements.

Un merci particulier à **Pr. Soumya El Abed** pour avoir accepté de juger et d'évaluer ce travail.

Je tiens à remercier aussi **Melle .Ghita Benjelloune** qui m' a aidée pendant toute la durée de ce stage.

Résumé :

Cette étude a été menée au sein du laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire à la Faculté de Médecine et de Pharmacie- Fès.

Nous nous sommes proposés dans cette étude d'évaluer le niveau de résistance à la méticilline (céfoxitine) pour différentes souches de *Staphylococcus* isolées à partir des aliments.

L'ensemble des résultats obtenus montrent que la majorité des souches isolées sont des staphylocoques à coagulase négative (69%). De plus, l'analyse des résultats de l'antibiogramme montrent que parmi les 100 souches que nous avons étudiées, 45 sont résistantes à la céfoxitine (45%). Des taux de résistance plus élevés concernant les souches isolées à partir des viandes crues (62%), des viandes cuites (40%) et des salades (52%) sont enregistrés. Concernant les proportions de résistance pour les staphylocoque à coagulase négative et les staphylocoques à coagulase positive sont les mêmes avec un taux de 45%.

Mots clés : *Staphylococcus*, résistance à la céfoxitine, résistance à la méticilline , aliments

Sommaire:

| | |
|--|----|
| Dédicace..... | 1 |
| Remerciements..... | |
| Résumé..... | |
| Liste des tableau et figures..... | |
| Liste des abréviations..... | |
| Introduction | 1 |
| Chapitre I : Revue Bibliographique | |
| I. Les Staphylocoques | 2 |
| I-1.Caractéristique générales..... | 2 |
| I-2. Taxonomie..... | 2 |
| I-3. Types des staphylocoque..... | 3 |
| II. Les staphylocoques dans les aliments | 4 |
| II-1. Les aliments incriminés dans les intoxications par les staphylocoques..... | 4 |
| II-2.Les intoxications alimentaires causées par les staphylocoques | 4 |
| II-3. Épidémiologie | 5 |
| III. La résistance des <i>Staphylococcus</i> à la céfoxitine..... | 6 |
| III-1. Antibiotiques..... | 6 |
| III-1-1. Définition | 6 |
| III-1-2. Type des antibiotiques | 6 |
| III-1-3. Spectres d'action..... | 7 |
| III-1-3-1.action Sur la paroi bactérienne | 7 |
| III-1-3-2. Action Sur la membrane cytoplasmique | 7 |
| III-1-3-3. Action Sur l'ARN ribosomique | 7 |
| III-1-3-4. Action Sur l'ADN bactérien | 7 |
| III-2. La résistance Bactérienne | 8 |
| III-2-1. Définition..... | 8 |
| III-2-2. Les types de résistance | 8 |
| III-2-3. Résistances des staphylocoques | 9 |
| III-2-4. Résistance des staphylocoques à la méticilline | 10 |

Chapitre II: Matériel et Méthodes

| | |
|---|----|
| I. Plan d'étude..... | 12 |
| II. Lieu et période de l'étude..... | 12 |
| III. Matériels et milieux utilisés..... | 12 |
| III-1. Les échantillons | 12 |
| III-2. Milieux de culture..... | 13 |
| III-2-1. Milieux de purification..... | 13 |
| III-2-2. Milieu utilisé pour l'antibiogramme | 13 |
| III-2-3. Milieu d'enrichissement BHI..... | 13 |
| III-2-4. Disques d'Antibiotiques | 13 |
| IV. Méthodologie | 13 |
| IV-1. Identification | 14 |
| IV-2. L'antibiogramme..... | 15 |
| | |
| Chapitre III : Résultats et discussion | |
| I.Résultats..... | 17 |
| I-1. La distribution globale des staphylocoques..... | 17 |
| I-2. Résultats de la résistance des staphylocoques à la céfoxitine | 18 |
| I-2-1. Résultats globale d'antibiogramme de la céfoxitine..... | 18 |
| I-2-2. Résultats de l'antibiogramme selon l'origine des prélèvements | 18 |
| I-2-3. Résultats de résistance à la céfoxitine selon le type du staphylocoque | 19 |
| II.Discussion | 21 |
| Conclusion | 23 |
| Références Bibliographiques | 24 |

Liste des tableaux et figures :

Liste des tableaux:

Tableau 1: les types des staphylocoques.....3

Tableau 2: Origine des échantillons.....12

Liste des Figures :

Figure 1 : Répartition des *Staphylococcus*.....17

Figure 2: Pourcentages globales de résistance et de sensibilité à la céfoxitine.....18

Figure 3: La résistance et la sensibilité selon l'origine d'isolement19

Figure 4: La résistance et la sensibilité à la céfoxitine selon le type de staphylocoque.....20

Liste des Abréviations:

- SARM** : *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline

- SASM** : *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline

- SCN** : *Staphylococcus* à coagulase négative

- SCP** : *Staphylococcus* à coagulase positive

- **T.I.A** : toxi-infections alimentaires

- **TIAC** : toxi-infections alimentaires collectives

- **Milieu MH** : Mueller-Hinton

- Milieu BHI** : Brain Heart infusion

- **InVS** : Institut de veille sanitaire

- SE** : Entérotoxine staphylococcique

Introduction:

Staphylococcus est une bactérie ubiquitaire, présente dans notre écosystème cutané. Avec les streptocoques et les pneumocoques constituent un groupe d'agents pathogènes à Gram positif opportunistes et envahissants [1]. Le genre *Staphylococcus* apparaît dans la littérature à la fin du XIXe siècle [2].

Cette bactérie occupe aujourd'hui, à part sa virulence et sa résistance aux antibiotiques usuels, une grande importance en pathologie humaine dont la prévalence des infections augmente régulièrement [2].

Staphylococcus aureus, l'espèce la plus virulente du genre *Staphylococcus*, a émergé comme l'un des agents pathogènes humains les plus importants, et a été au cours des dernières décennies, une des principales causes de nombreuses intoxications alimentaires et d'infections hospitalières et communautaires [3]. *Staphylococcus aureus* provoque un large éventail d'infections cliniques, allant des infections courantes telles que les infections de la peau et des tissus mous à des infections meurtrières comme la septicémie, la pneumonie [4].

L'une des raisons qui expliquent le succès de ce pathogène, est son importante variabilité survenant à différentes périodes et lieux avec divers types de clones et profils de résistance aux antibiotiques selon les régions et les pays. [5]. Cette augmentation de la résistance aux antibiotiques est un sujet de préoccupation important. En outre les différents types de staphylocoques qui sont résistants à la méticilline sont résistants également à tous les autres antibiotiques de la même classe. Ce qui augmente le risque d'intoxication pour le consommateur. Cette résistance est liée à leur grande plasticité génomique qui peut être acquise ou apportée par un plasmide ou d'autres éléments mobiles (cassette chromosomique staphylococcique, transposons, bactériophages, Séquences d'insertion) [6].

Dans ce contexte, l'objectif de notre recherche consiste en l'identification bactérienne des différents isolats de staphylocoques obtenus à partir des aliments, et l'étude de leur profil de résistance à la méticilline.

Chapitre I :

Revue Bibliographique

I. Les staphylocoques :

I-1. Caractéristiques générales :

Les staphylocoques sont des bactéries de type Cocci à Gram positif, qui se retrouvent fréquemment chez les personnes en bonne santé, habituellement dans la muqueuse du nez. La bactérie peut ensuite coloniser d'autres régions, via les mains, et en particulier les parties humides du corps comme les aisselles ou la zone génitale. [7].

Staphylococcus est un pathogène humain majeur qui a été mis en évidence en 1881 par Alexander Ogston [7]. Après une analyse microscopique d'infections purulentes, Ogston a découvert des bactéries rondes, groupées en forme de grappes de raisin d'où l'association des termes grecs *staphyle*, grappe de raisin et *kokkos*, grain. Il est maintenant établi que *Staphylococcus* est une bactérie Gram-positif, aéro-anaérobie facultative qui produit une coagulase ou non selon le type de bactérie, et qui peut tolérer une activité en eau très réduite ($A_w = 0,83$). Dans des conditions optimales, la division cellulaire se produit approximativement toutes les 20 min avec un diamètre de cellule allant de 0,5 à 1,5 μm . *Staphylococcus* est capable de croître sur une large gamme de milieux de culture, sélectifs (p. ex. les géloses Chapman pour les staphylocoques *aureus*, et Baird Parker), ou non sélectifs (p. ex. un milieu gélosé enrichi en sang, une gélose nutritive, ou une gélose cœur-cervelle). Sur une gélose au sang, les souches « typiques » de *Staphylococcus aureus* donnent des colonies lisses, convexes avec des diamètres de 1~3 mm, de couleur jaune dorée pour les *Staphylococcus aureus* due aux caroténoïdes. [8]

I-2. Taxonomie :

Les études taxonomiques récentes ont permis de confirmer l'homogénéité du genre *Staphylococcus* et d'individualiser 29 espèces et sous espèces de staphylocoques. Il existe une adaptation des espèces à l'hôte ; certaines sont trouvées chez l'Homme, d'autres chez les animaux, d'autres encore à la fois chez l'homme et les animaux. [9]

Classification:

-Règne : *Bacteria*

-division: *Firmicute*

-Classe : *Bacillis*

-Ordre : *Bacillales*

-Famille : *Staphylococcaceae*

-Genre : *Staphylococcus*

I-3. Types des staphylocoques:

Selon la production d'enzyme coagulase, les staphylocoques sont classés en deux types, les staphylocoques coagulase négative et les staphylocoques coagulase positive (tableau1).

Tableau 1: Types des staphylocoques [10]

| Types | Habitat | Pouvoir pathogène | Mode de transmission |
|-------------------------------------|---|--|--|
| <i>Staphylococcus aureus</i> (SA) | -Oropharynx, - fosses nasales, -selles, - périnée, -aisselles, - muqueuse nasale | -la folliculite, le furoncle, l'anthrax, l'abcès, la cellulite, l'impétigo, les plaies chirurgicales postopératoires, et les ostéomyélites . une septicémie | La transmission d'un sujet à l'autre est manu-portée |
| Staphylocoques à coagulase négative | la peau et les muqueuses. | infections nosocomiales la ,production du biofilm protecteur vis-à-vis des défenses de l'hôte | manu-portée |

II. Les staphylocoques dans les aliments:

La maladie humaine d'origine alimentaire est une intoxication due à l'ingestion d'entérotoxines staphylococciques (SE) (1), protéines thermorésistantes préformées dans l'aliment, dans lequel staphylocoque producteur de SE a pu se développer et produire sa toxine(s). [11]

II-1. Les aliments incriminés dans les intoxications par les staphylocoques:

Le genre *Staphylococcus* est considéré comme l'une des principales causes de maladies d'origine alimentaire. On les trouve généralement dans :

- ✓ Les viandes: volailles, viande hachée , viandes rouges
- ✓ Les fruits de mer et certains poissons
- ✓ Les fruits et les salades
- ✓ Les pates alimentaire , pâtisseries renfermant la crème
Lait cru et produits laitère [15].

II-2. Les intoxications alimentaires causées par les staphylocoques:

De nombreuses toxi-infections alimentaires (T.I.A.) sont dues à la présence d'entérotoxines staphylococciques dans les aliments. Ces toxines sont secrétées par certaines souches de staphylocoque, placées dans des conditions favorables à leur multiplication et à la toxinogénèse. La symptomatologie caractéristique de ce type d'intoxication - vomissements répétitifs suivis ou non de diarrhée accompagnés parfois de signes généraux et survenant dans un délai de une heure à sept heures après le repas - permet d'orienter le diagnostic. Cependant, le praticien a souvent besoin d'une confirmation par le laboratoire et l'analyse de l'aliment suspect constitue alors un des moyens disponibles pour répondre à une telle demande. L'analyse bactériologique permet de rechercher et de dénombrer les *Staphylococcus* révivifiables dans l'aliment. Lorsqu'un nombre élevé de ces bactéries, de l'ordre de 10^6 g, peut être détecté, il y a de fortes présomptions pour que l'aliment renferme des entérotoxines staphylococciques et soit à l'origine de l'intoxication. Cependant, une absence de germes revivifiable ne signifie pas toujours qu'il n'y ait pas de toxine dans l'aliment. Les staphylocoques peuvent en effet avoir été détruits par un traitement thermique ou un séjour prolongé dans un milieu acide défavorable, alors que les entérotoxines sont capables de

résister à une température ou une acidité élevée. La preuve la plus formelle de la toxicité de l'aliment est donc apportée par la détection des enterotoxines dans celui-ci. [12]

II-3. Épidémiologie :

La surveillance des intoxications staphylococciques est assurée par la déclaration obligatoire des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Il faut souligner que de nombreux foyers, notamment les foyers familiaux, sont certainement non déclarés ou non diagnostiqués. [13]

En France, pour l'année 2009, l'Institut de veille sanitaire (InVS) a rapporté que *Staphylococcus aureus* a causé des toxi-infection alimentaire. Leur présence a été confirmé dans 34 foyers et suspecté dans 191 foyers (1558 cas, 163 hospitalisations, 3 décès). Ainsi, *Staphylococcus aureus* occupait le premier rang des agents bactériens responsables de TIAC pour son implication en nombre de foyers. Sur ces 225 foyers, 63,1 % des TIAC staphylococciques sont survenues en restauration collective et 29,3 % sont survenues en foyers familiaux[14]. Les TIAC survenues en restauration collective ont été à l'origine de 79,6 % des cas. Cette différence de pourcentage montre une prédominance de la restauration collective dans le nombre de foyers et par voie de conséquence dans le nombre de personnes malades. Cette inégalité peut en partie s'expliquer par une très bonne déclaration des cas survenus en restauration collective. Les intoxications à staphylocoques constituent une des causes majeures de maladies d'origine alimentaire dans le monde[15]. Les principaux aliments incriminés dans les TIAC à entérotoxines staphylococciques sont des plats cuisinés. Les staphylocoques producteurs de SE représentent la première cause de TIAC impliquant le lait et les produits laitiers. [15]

III. Résistance des *Staphylococcus* à la céfoxitine:

III-1. Antibiotique:

III-1-1. Définition :

Un antibiotique est défini comme toute substance chimique produite par des microorganismes ou par synthèse chimique, ayant le pouvoir d'inhiber et même de détruire les bactéries et autres microorganismes. L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit des types de bactéries différentes, plus son spectre est large Les antibiotiques sont caractérisés par :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité) ;
- Toxicité sélective (mode d'action) ;
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique) ;
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme [16].

III-1-2. Type des antibiotiques :

Il existe des antibiotiques d'origine naturelle ou synthétique :

- **Origine naturelle** : Parmi les 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde, 20 % proviennent de champignon , 70 % proviennent d'actinomycètes et 10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. [16]

- **Origine synthétique** : Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue : Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluoroquinolones, pénèmes. On distingue aussi des antibiotiques d'origine semisynthétique ,ils sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un microorganisme [16]

III-1-3. Spectres d'action:

Les antibiotiques peuvent avoir 2 modes d'action :

- **Action bactériostatique:** Ils empêchent le développement des bactéries ou germes microbiens.

- **Action bactéricide:** Ils détruisent les bactéries ou les germes microbiens en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane cytoplasmique et la synthèse de protéines. L'antibiotique à action bactéricide, comme par exemple les β -lactamines, peuvent agir de deux manières:

- **Ciblée:** ce qui signifie qu'il ne détruit qu'un seul type de bactéries

- **A large spectre:** c'est à dire qu'il détruit plusieurs types de bactéries. Les antibiotiques agissent, en général, à un niveau précis des structures bactériennes [16]

III-1-3-1. Action sur la paroi bactérienne:

Ces antibiotiques agissent sur des cibles extérieures de la cellule (paroi) et ne sont actifs que sur les germes qui sont en croissance. [16].

III-1-3-2. Action sur la membrane cytoplasmique:

Ils agissent sur les membranes lipidiques, la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique. La fixation de l'antibiotique va désorganiser la structure de ces membranes et les rendre perméable, ce qui aboutit à la mort rapide de la bactérie [16].

III-1-3-3. Action sur l'ARN ribosomique:

Cette action provoque une inhibition de la synthèse des protéines.

III-1-3-4. Action sur l'ADN bactérien:

En inhibant la synthèse ou même le fonctionnement des acides nucléiques de différentes façons selon les familles d'antibiotiques soit par :

- ✓ inhibition de la réplication de l'ADN
- ✓ inhibition de la transcription / ARN polymérase
- ✓ diminution de la synthèse des précurseurs nucléotidiques [17].

III-2. Résistance Bactérienne:

III-2-1. Définition:

La résistance aux antibiotiques est la résistance d'une bactérie à un antibiotique auquel il était jusque -là sensible [18]. On peut dire aussi qu'une souche est résistante lorsqu'elle est capable de supporter une concentration d'antibiotiques beaucoup plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [19]. Elle résulte de l'aptitude de certaines bactéries à supporter l'attaque de médicaments antimicrobiens tels que les antibiotiques, de sorte que les traitements classiques deviennent inefficaces et que les infections persistent et accroissant le risque de propagation [18].

III-2-2. Les types de résistance:

❖ Résistance bactérienne naturelle :

Si les antibiotiques, molécules naturelles, sont synthétisés par la plupart des micro-organismes pour supplanter d'autres micro-organismes dans un environnement donné, ces substances peuvent ne pas être actives sur tous les micro-organismes. On dira que ces micro-organismes ont une résistance naturelle vis-à-vis de cette molécule. La résistance naturelle à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce. C'est ainsi que, les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes car ces molécules ont des difficultés à passer la membrane externe de leur paroi. Les mycoplasmes, bactéries dépourvues de parois présentent une résistance naturelle aux beta-lactames, puisque le mode d'action de cette famille d'antibiotique consiste à inhiber la synthèse du peptidoglycane. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées afin de déterminer l'activité d'un antibiotique et contribue à définir son spectre antibactérien [20,21].

❖ Résistance bactérienne acquise :

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la

molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme [20].

❖ **Résistance par mutation chromosomique :**

Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont induites par des modifications structurales pouvant se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit en rendant les cibles spécifiques des antibiotiques indifférentes.

La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels. Il s'agit premièrement de sa rareté puisqu'il intervient en moyenne tous les 10^5 à 10^{10} divisions de la bactérie. Ensuite elle possède un caractère aléatoire car l'antibiotique n'est par une molécule mutagène donc n'induit pas de mutation chez la bactérie. Cependant l'antibiotique participe à la sélection des bactéries mutantes. On note aussi son caractère spécifique (affecte un antibiotique ou une famille d'antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action), son indépendance et son absence de transmissibilité [22].

❖ **Résistance par acquisition de gènes :**

Il s'agit ici de la résistance par un gène d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un gène plasmidique. Le plasmide est un fragment d'ADN extrachromosomique (présent dans le cytoplasme) et qui peut porter un ou plusieurs gènes de résistance. Ces fragments d'ADN peuvent être transmis d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse ; cette transmission peut se faire entre deux espèces différentes de bactéries.

A travers ce mécanisme, on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN nu par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente qui sont en contact). [23]

III-2-3. Résistances des staphylocoques :

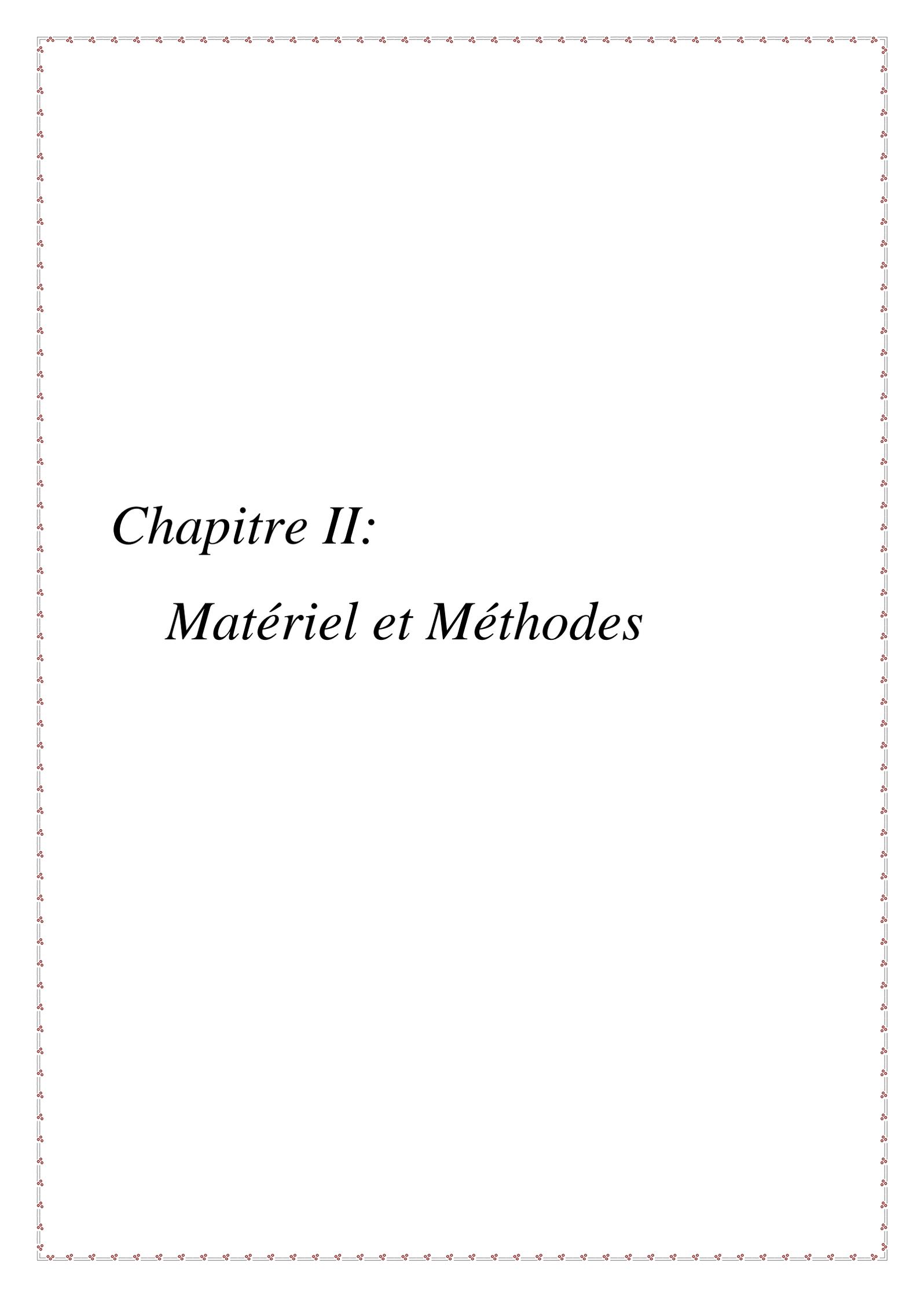
L'augmentation de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques est un sujet de préoccupation important. La résistance à la méticilline traduit la présence d'une cible des bêtalactamines nouvelle et insensible à ces antibiotiques, la protéine de liaison aux pénicillines PLP2a, codée par le gène *mecA*. La notion de résistance d'expression homogène ou hétérogène est une constatation faite *in vitro*, selon que toutes les colonies de la population du staphylocoque ou une partie seulement d'entre elles expriment le phénomène de résistance, dans les conditions de la culture. Elle n'a pas de conséquences cliniques majeures. *In vivo*, l'expression des deux types de résistance est patente. La résistance à la méticilline est croisée vis-à-vis des autres bêta-lactamines. Dès les années 1960, époque où toutes les souches de *S.aureus* métirésistantes à la méticilline (SARM) étaient résistantes hétérogènes et paraissaient sensibles *in vitro* à la céfalotine, Acar et al avaient bien montré l'échec de la céfalotine *in vivo* [24].

Bien qu'il existe une résistance croisée entre les bêta-lactamines, certaines d'entre elles conservent une certaine affinité pour la PLP2a, ce qui explique que les CMI de certains antibiotiques de cette famille soient plus basses que celles de l'oxacilline, par exemple pour l'association amoxicilline-acide clavulanique, le céfamandole ou l'imipenem et, à un moindre degré le céfotaxime. L'intérêt clinique de ces constatations a été peu documentée, à part l'association céfotaxime-fosfomycine qui s'est montrée cliniquement efficace dans certains cas d'infection (en particulier les méningites post-chirurgicales) dues aux SARM sensibles à la fosfomycine [25]. Seule une équipe a utilisé l'amoxicilline-acide clavulanique pour la décontamination des urines. Pour les autres antibiotiques, le céfamandole est surtout utilisé en prophylaxie chirurgicale, l'imipenème a été utilisé au Japon contre les souches hétérogènes, mais l'expérience clinique n'a pas été rapportée et il semble surtout avoir entraîné l'émergence rapide des souches homogènes résistantes. Au total, on continue à considérer que la résistance due à l'acquisition de PLP2a reste une résistance croisée entre les bêta-lactamines.

III-2-4. Résistance des staphylocoques à la métiline :

Après une brève description des mécanismes impliqués dans les résistances du staphylocoque aux différents antibiotiques, nous décrivons l'état actuel des résistances en France. Pour l'essentiel, la résistance à la métiline reste confinée aux milieux hospitaliers et institutionnels. La diffusion des résistances en dehors de ces milieux est une menace qui ne peut être exclue. Les souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides apparaissent rares mais sont peut-être sous-estimées du fait de la difficulté de la détection *in vitro* de la résistance. Une surveillance épidémiologique permanente est plus que jamais nécessaire. Le problème de la multirésistance aux antibiotiques ne se pose pas dans les mêmes termes pour les staphylocoques hospitaliers et extrahospitaliers. Ces derniers, dits « communautaires » restent sensibles à de nombreux antibiotiques, à de très rares exceptions près. En revanche, le taux de résistance des staphylocoques dorés isolés en milieu hospitalier est élevé. Plus que la fréquence des résistances à l'oxacilline, qui semble s'être relativement stabilisée après avoir récemment diminué, le fait nouveau est la variété de plus en plus grande des phénotypes de résistance avec une plus fréquente sensibilité à la gentamicine. [26]

Les mécanismes et les gènes de résistance des staphylocoques dorés et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont les mêmes. En revanche, la fréquence des résistances diffère: elle est plus élevée pour les SCN, au moins ceux que l'on isole dans les infections humaines (*Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus haemolyticus*) [26] .



Chapitre II:
Matériel et Méthodes

I. Plan d'étude :

Nous avons effectué une étude sur la résistance des staphylocoques isolées à partir des aliments . Les souches étudiées ont été isolées à partir de différents échantillons d'aliments. . La sensibilité à la céfoxitine a été déterminée avec la méthode de diffusion en milieu gélosé de MH.

II. Lieu et période de l'étude :

Cette étude a été menée au sein du laboratoire de Microbiologie et de Biologie Moléculaire à la Faculté de Médecine et de Pharmacie- Fès.

Elle s'est déroulée sur une période d'un mois et demi : du 02 Février 2018 au 15 Mai 2018.

III. Matériel et milieux utilisés:

III-1. Les échantillons :

Les prélèvements ont été réalisés dans un service de restauration , et les isolats ont été stockés à -80°C .

Cent isolats ont été isolés à partir des différents types d'aliments et sont répartis comme suit :

Tableau 2: Origine des échantillons:

| L'origine de prélèvement | Nombre des échantillons des staphylocoques |
|---------------------------------|---|
| Soupe | 7 isolats |
| Pâtisseries | 17 isolats |
| Légumes Cuits | 26 isolats |
| Salades | 19 isolats |
| Viande Crue | 16 isolats |
| Viande Cuite | 10 isolats |
| Poisson Cuit | 5 isolats |

III-2. Milieux de culture (Annexe A)

III-2-1. Milieux de purification:(Annexe B)

- Gélose nutritive : La gélose nutritive est donc un milieu non sélectif, qui ne contient que des éléments essentiels pour la culture et la conservation de bactéries dites non-exigeantes.

III-2-2. Milieu utilisé pour l'antibiogramme :

- Milieu gélosé de Muller-Hinton : La **gélose Mueller-Hinton** est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard

III-2-3. Milieu d'enrichissement BHI:

- gélose pour infusion cœur-cervele) est un milieu polyvalent adapté à la culture d'un grand nombre de microorganismes

III-2-4. Disques d'antibiotiques :

- Céfoxitine : est une molécule d'antibiotique de la classe de céphamycine, inhibe la PLP, enzyme permettant la synthèse du péptidoglycane bactérien.

IV. Méthodologie:

Les prélèvements conservés à -80°C ont été utilisés après décongélation. On effectue une purification des souches sur une gélose nutritive, en faisant un ensemencement par des stries ou par inondation , après incubation de 24h à 37°C, on réalise une identification des colonies isolées.

IV-1. Identification : (Annexe C)

L'identification des souches isolées se réalise par :

➤ **La coloration du Gram :**

Un frottis est réalisé sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne, puis la suspension est agitée afin de l'homogénéiser et d'éviter d'avoir un culot au fond du tube. Avec l'aide d'une anse préalablement stérilisée, on prélève un peu de la solution bactérienne en plongeant le fil de platine de la anse dans le tube à essai. Ensuite le prélèvement est déposé au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage, la fixation du frottis se réalise avec de l'éthanol à 90° (5 minutes) puis la lame est enflammée. Puis La coloration au violet de Gentiane (colorant basique) est réalisée : la lame est plongée pendant 2 à 3 minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis la lame est rincée à l'eau déminéralisée.

L'étape suivante est du Mordançage au lugol (solution iodo-iodurée) : Le lugol est étalé puis laissé agir pendant 20 secondes ; puis la lame va être rincée à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette. Enfin on réalise une décoloration à l'alcool : l'alcool est versé goutte à goutte sur la lame inclinée obliquement . La décoloration est surveillée (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration .On rince sous un filet d'eau déminéralisée, l'alcool pénètre dans la bactérie alors la coloration au violet de Gentiane disparaît. Donc les bactéries décolorées sont des bactéries Gram-. Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.

Une contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine se réalise en la laissant agir de 30 secondes à 1 minute .On lave doucement à l'eau déminéralisée. On sèche la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes. Les bactéries Gram- sont colorées en rose.

➤ **Test coagulase :**

Ce test est effectué en utilisant le plasma du lapin (Annexe A)

La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de staphylocoque se fait dans un tube contenant du plasma du lapin avec une suspension de la souche à tester .

Après incubation on distingue :

- Pour les staphylocoques a coagulase positive , la coagulase libre réagit principalement pour former un caillot dans le plasma , ce qui indique une réaction positive .
- Pour les les staphylocoques coagulase négative , on ne trouve pas de coagulation du plasma ce qui indique une réaction négative

➤ **Test catalase :**

Ce test est effectué en utilisant le Peroxyde d'hydrogène :

On dépose une goutte d'eau oxygénée sur une lame et à l'aide de l'anse de platine ou d'une pipette Pasteur boulée, On prélève une colonie isolée (ou plusieurs si petites colonies) de la souche à tester, et on observe instantanément :

- l'apparition des bulles indique le dégagement gazeux ce qui exprime la Production d'O₂ provenant de la dégradation d'H₂O₂. Alors la souche est catalase +.
- la disparition des bulles indique l'absence de dégagement gazeux ce qui exprime l'absence de production d'O₂ provenant de la dégradation d'H₂O₂. Alors la souche est catalase - .

IV-2.Antibiogramme : (Annexe D)

Nous avons testé la sensibilité de toutes les isolats vis-à-vis d'un seul antibiotique (la céfoxitine) , par la méthode de l'antibiogramme standard, par diffusion sur gélose Muller-Hinton en utilisant les écouvillons (Annexe E) de l'antibiogramme . La résistance à la méticilline a été recherchée à l'aide d'un disque de la céfoxitine déposé sur le milieu gélosé préalablement ensemencé par un inoculum fort d'environ 10⁷ UFC/ml et incubé 24 heures à 37 °C. Les isolats ayant présenté un diamètre inférieur à 22mm ont été considérées

résistantes. Pour les isolats ayant un diamètre supérieur ou égal à 22mm ont été considérées sensibles.

Etapas de l'antibiogramme:

3 à 5 colonies sont prélevées à l'aide d'un écouvillon humidifié puis dissociées dans 2ml de milieu d'enrichissement BHI (Annexe A) . Après 2h d'incubation, le milieu MH est ensemencé par stries très serrées et perpendiculaires. Ensuite, les disques d'antibiotique sont disposés sur la gélose, manuellement, avec une pince métallique stérile . Enfin les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition obtenu autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'une règle, les résultats sont interprété selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie en: sensible (S) ou résistante (R) .

Chapitre III:

Résultats et discussion

I. Résultats :

I-1. Distribution globale des staphylocoques :

Les résultats obtenus montrent que parmi les 100 isolats qu'on a étudiée, nous avons remarqué que les *Staphylococcus* à coagulase négative ont été les plus dominants (69%) par rapport aux *Staphylococcus aureus* qui représentaient par 31% des cas . (figure 1)

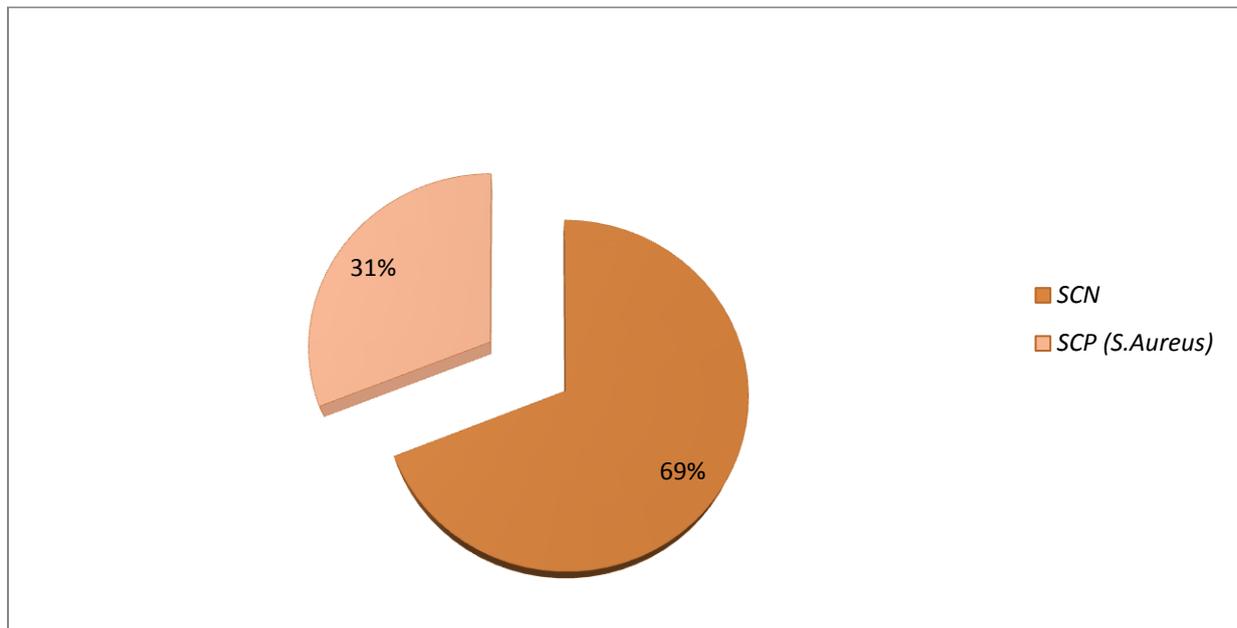


Figure 1: Type de staphylocoque étudiées en fonction du test coagulase

I-2. Résultats de la résistance des staphylocoques à la céfoxitine :

I-2-1. Résistance à la céfoxitine :

Sur les 100 isolats que nous avons étudiés, 45% des isolats étaient résistantes à la céfoxitine, alors que 55% étaient sensibles (figure 2).

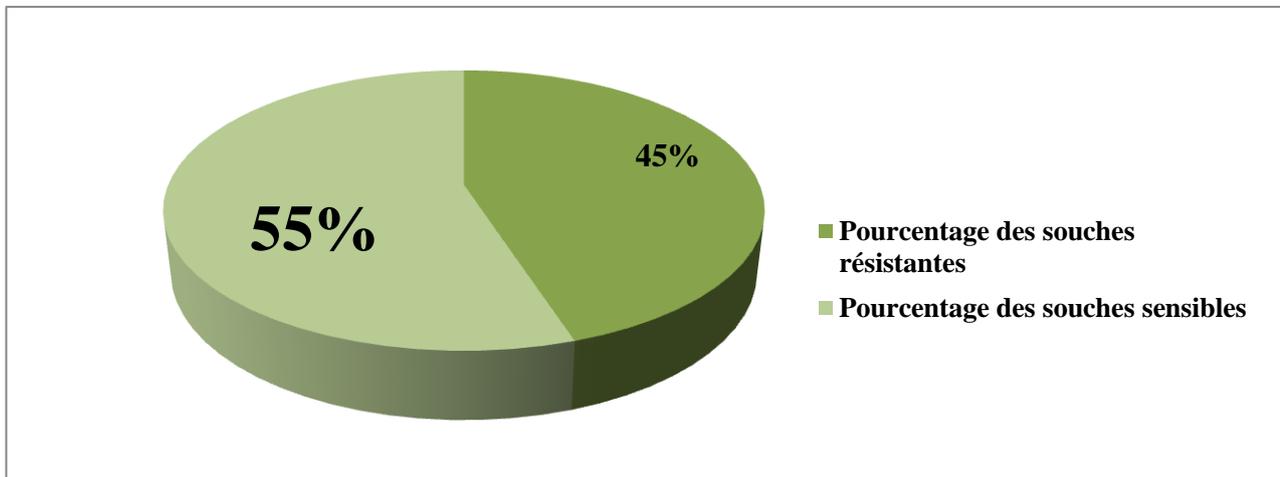


Figure 2: Prévalence de la résistance et de la sensibilité à la céfoxitine

I-2-2. Résultats de l'antibiogramme selon l'origine des prélèvements :

Après l'analyse des résultats obtenus, nous avons remarqué que la résistance et la sensibilité à la céfoxitine dépend de l'origine du prélèvement des isolats. Les isolats obtenus à partir de la viande crue sont ceux qui présentent plus de résistance, et représentent un pourcentage de 62%. Pour les isolats obtenus à partir des pâtisseries, nous avons noté que le pourcentage de résistance est de 47%. En ce qui concerne les isolats obtenus à partir des légumes cuites et viandes cuites, nous avons trouvé des pourcentages de résistance de 41% et 40%, respectivement. Pour les isolats isolées des salades, les résultats ont montré un pourcentage de résistance de 52%. On remarque que toutes les isolats isolées des plats de poisson cuit sont sensibles (100%). (figure3)

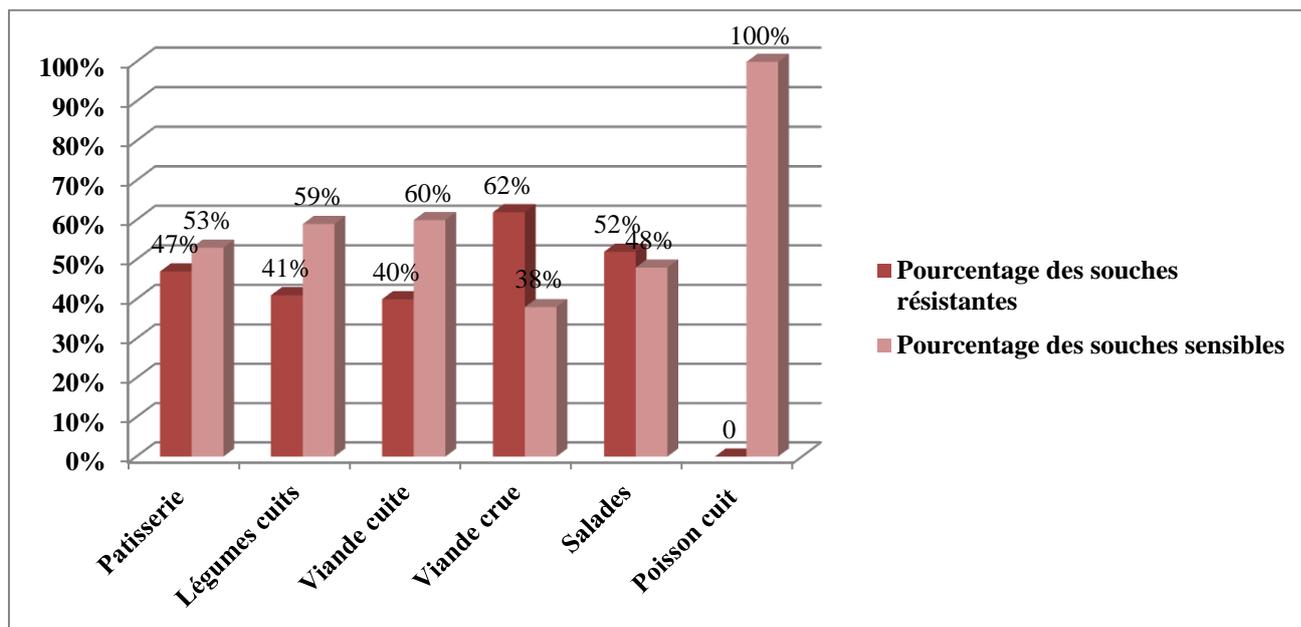


Figure 3: Prévalence de la résistance et la sensibilité à la céfoxitine selon l'origine d'isolement

I-2-3. Résultats de résistance à la céfoxitine selon le type du staphylocoque :

Selon la distribution des staphylocoques on distingue :

- SCN : nous avons remarqué que le nombre des isolats sensibles à la céfoxitine est supérieur au nombre des isolats résistants. Pour la résistance nous avons 31 isolats résistants parmi les 69 isolats , ce qui correspond à un pourcentage de 45%, alors que le pourcentage de sensibilité est presque de 55%, équivalent à 38 isolats .
- SCP: les résultats que nous avons obtenus pour les SCP sont les mêmes pour les SCN, puisqu'on a trouvé un pourcentage de résistance de 45%, ce qui correspond à 14 isolats résistant parmi les 31 SCP , et un pourcentage de sensibilité de 55% ce qui correspond à 16 isolats sensibles parmi les 31. (figure 4)

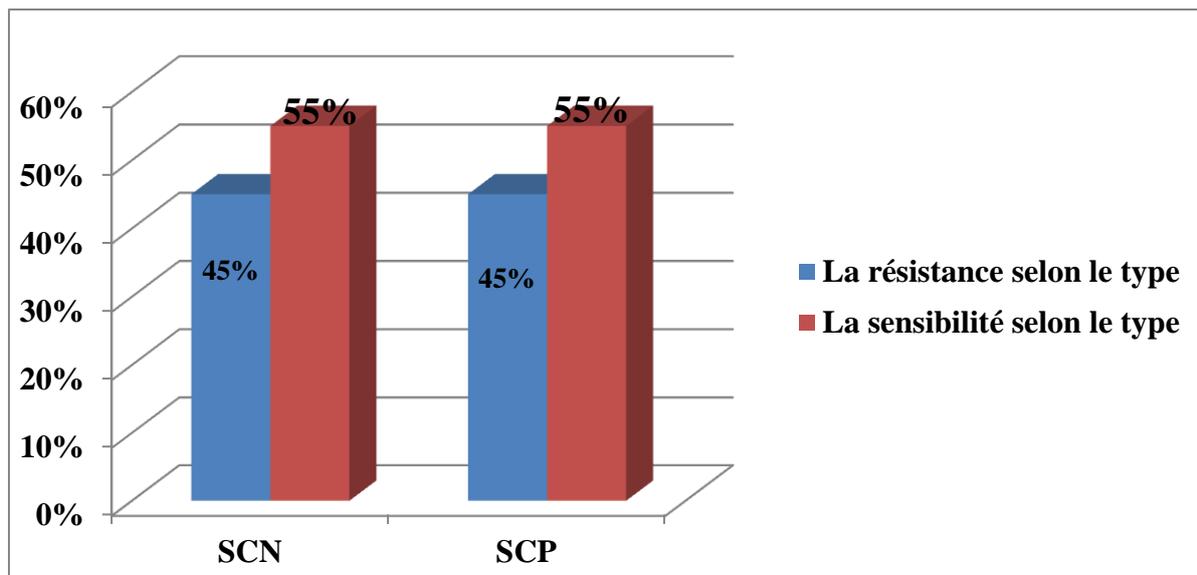


Figure 4: Résistance à la céfoxitine selon le type de staphylocoque

II. Discussion :

Le *Staphylococcus* est considéré comme l'une des causes les plus fréquentes d'infections nosocomiales ainsi que la cause de la plupart des cas d'intoxication alimentaire dans les hôpitaux [27.28]. Les repas à l'hôpital sont une partie indispensable des soins aux patients. Des repas sains et complets peuvent encourager les patients à bien manger et leur donner les nutriments dont ils ont besoin pour se remettre d'une chirurgie ou d'une maladie. Une contamination alimentaire avec les *Staphylococcus* peut se produire directement à partir d'animaux producteurs d'aliments infectés ou résultant d'une mauvaise hygiène au cours des processus de production, ou du stockage des aliments, ou du personnel qui les manipulent.

La connaissance et la surveillance du profil de résistance des isolats de staphylocoque sont primordiales dans la prise en charge des intoxications générées par cette espèce bactérienne, ainsi que la maîtrise de leur diffusion clonale.

Dans la présente étude, nous avons déterminé la prévalence de la résistance à la méticilline chez les isolats de *Staphylococcus spp* obtenus à partir de divers types d'échantillons d'aliments crus et cuits dans un centre hospitalier. L'évaluation de la résistance à la méticilline a été réalisée par l'antibiotique qui est la céfoxitine.

Sur les 100 isolats, 69% testés étaient des *Staphylococcus* à coagulase négative alors que les *Staphylococcus aureus* représentent 31%, les résultats d'autres études ont montré aussi la dominance des SCN avec un pourcentage de 90.31% [29]. En outre, les taux de prévalence de *S. aureus* dans les échantillons hospitaliers d'autre études ont montré que les pourcentages de *Staphylococcus aureus* trouvés est de (6,10%) en Espagne (2012) [30], (6,42%) en Iran (2014) [31], (11,10%) en Portugal (2016) [32], et de (50%) en Brésil (2015) [33].

Nos résultats ont montré ainsi que parmi les 100 isolats étudiées, 45 isolats étaient résistantes, ce qui représente un pourcentage de 45%, contre 55 isolat sensibles, qui correspond à 55%. D'autre résultats trouvé par Mougeot et al (2000) [34], ont montré des pourcentages de résistance de 3% et de sensibilité de 97%. Des résultats trouvés par Mirani (2013) [35], et Ferreira (2015) en Brésil [33], ont montré un pourcentage de résistance de 50%.

Parmi les 100 isolats nous avons remarqué que le pourcentage de résistance varie selon le type d'aliments, du fait que les isolats obtenus à partir des viandes crues et les salades sont les plus résistantes représentant des pourcentages de résistance de 62% et 52%, respectivement suivi des isolats obtenus à partir des pâtisseries avec 47%, des légumes cuits 41% et des viandes cuites 40%. Une étude en Brésil (2014) a révélé aussi que 84.1 % des staphylocoques isolées à partir des viandes crues sont résistantes à la méticilline [33]. Ce taux important trouvé dans les viandes crues peut être expliqué par de la contamination croisée de la viande au cours du processus de préparation. De plus, les antibiotiques utilisés pour favoriser la croissance des animaux peuvent induire une résistance chez les bactéries et générer des résidus dans les tissus et les produits carnés animaux [36].

Dans notre étude nous avons noté que sur 100 isolats des staphylocoques, 69 isolats sont coagulase négative. Parmi ces dernières, 31 isolats présentent une résistance à la céfoxitine, ce qui correspond à un pourcentage de 45% . Sur les 31 isolats de staphylocoques *aureus*, 14 présentaient une résistance à la céfoxitine, ce qui correspond à un pourcentage de 45%. Ces résultats ne concordent pas avec les résultats de Bertrand, Costa et Pina [37] qui avaient trouvé que la fréquence de la résistance à la méticilline est en moyenne de 30 % chez *Staphylococcus aureus* et de 70 % chez Staphylocoques à coagulase négative .

Conclusion:

Ce travail a permis de mettre nos connaissances théoriques en pratique. Nous avons identifié les staphylocoques isolées à partir d'aliments et déterminé leur comportement vis à vis de la céfoxitine . L'analyse des résultats de test coagulase montrent que la majorité des isolats sont des staphylocoques à coagulase négative, avec un pourcentage de 69%. Les résultats obtenus à partir du test d'antibiogramme, montrent que parmi les 100 isolats testés, 45 sont résistantes à la céfoxitine (45%). Ce taux de staphylocoques obtenu peut être expliqué par la contamination croisée de la viande au cours du processus de préparation. De plus, les antibiotiques utilisés pour favoriser la croissance des animaux, ou bien pour améliorer la production agricole, peuvent induire une résistance chez les bactéries et générer des résidus dans les tissus et les produits carnés animaux . Cependant les isolats obtenus à partir des poissons cuits ne présentent pas de résistance à la méticilline . Le taux de résistance à la céfoxitine est le même, pour les staphylocoques à coagulase négative et pour les staphylocoques à coagulase positive.

Références Bibliographiques:

- [1] Hill L.R,(1981). Taxonomy of the staphylococci. h Macdonald A., Smith G. (Eds.), The Staphylococci. Proceedings of the Alexander Ogston Centennial Conference, Aberdeen University Press, Aberdeen, , pp. 33-62.
- [2] Lowy .FD,(1998) .*Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med ;339:520–32. doi:10.1056/NEJM199808203390806.
- [3] Lyon .BR, Skurray R. (1987) .Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* : genetic basis. Microbiol Rev;51:88–134.
- [4] Johnson.AP,(2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the European landscape. J Antimicrob Chemother;66 Suppl 4:iv43–8. doi:10.1093/jac/dkr076.
- [5] Kopp BJ, Nix DE, Armstrong EP,(2004). Clinical and economic analysis of methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus* infections. Ann Pharmacother ;38:1377–82.
- [6] Malachowa N, DeLeo FR,(2010). Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. Cell Mol Life Sci CMLS 2010;67:3057–71. doi:10.1007/s00018-010-0389-4.
- [7] Ogston, Br Med A.(1881). Report upon Micro-Organisms in Surgical Diseases.
- [8] Freney .J,(2007). Précis de bactériologie clinique. Paris: Éd. Eska,;
- [9] FLEURETTE. J, (1990). Médecine et Maladies Infectieuses ,Flors Série Mars - 6 ~ 15 ; Taxonomie et ecologie des staphylocoques coagulase négatifs
- [10] Louis Pasteur,(1880). Actualités taxonomiques et identification
- [11] BLECH. M.F, VANELL. A , HARTEMANN. P et FOLIGUET. J.M. (1983).Intérêt et limites de la recherche de Staphylocoques parmi le personnel des cuisines collectives. Bilan de cinq années contre microbiologique Médecine et Maladies Infectieuses -13 -- N ° 2 -- 62 ~ 68.
- [12] BUYSER. M.L , JANIN.F , DILASSER. F, et NOCTON. F, (1984) . Etude d'une toxoinfection alimentaire familiale *Staphylococcus aureus* Medecine et Maladies Infectieuses N 6 -- 360 ~ 363
- [13] Patterson M. F, (2005). A Review - Microbiology of pressure-treated foods. Journal of Applied Microbiology, 98, 1400–1409.
- [14] Rizzi V. (2011). Update on EFSA activities and *S. aureus* reporting in animals and food. Workshop of the NRLs for Coagulase Positive Staphylococci -Maisons-Alfort, France.
- [15] SCVPH (2003). Opinion of the scientific committee on veterinary

measures relating to public health on staphylococcal enterotoxins in milk products, particularly cheeses. SCVPH plenary meeting, March 27-28.

[16] Mehdi. S ,(2008). La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat .THESE.[en ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED VFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.

[17] www.Antibiotique.eu (consulté le 25-05-2018)

[18] Organisation mondiale de la santé (OMS) .(16 nov. 2015).theme de santé .résistance aux médicament.

[19] Louise. G, (2002). La résistance bactérienne aux antibiotiques Université Laval.

[20] Aboya Moroh J-L,(2013). Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Agricultural sciences. Université de Bretagne occidentale – Brest ; Université Félix Houphouët- Boigny. French.

[21] Lahlou-Amine I. et Baaj A.J, (2002). résistance bactérienne aux antibiotiques. *Animalis* , vol 1, n° 3, pp. 8-16.

[22] Henriques Normak B. et Normar S, (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of internal medicine*, vol 252, pp. 91-106.

[23] Baudry C. Brézellec H, (2006). Microbiologie, immunologie. 2ème édition. Groupe Liaisons, 126p. ISBN (2915585261).

[24] Acar JF, Courvalin P, Chabbert YA, (1970) .Methicillin-resistant staphylococemia: bacteriological failure of treatment with cephalosporins. *Antimicrobial Agents Chemother* 10 : 280-5.

[25] Portier H, Kazmierczak A, Lucht F, Tremeaux JC, Chavanet P, Duez JM, (1985). Cefotaxime in combination with other antibiotics for the treatment of severe methicillin-resistant staphylococcal infections. *Infection* 13 Suppl 1 : 123s-8s.

[26] Leclercq . R ,(2002). Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.Service de microbiologie, centre hospitalier et universitaire de la Côte-de-Nacre, 14033 Caen cedex, France.

[27] Wendlandt S, Schwarz S, Silley P, (2013). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a food-borne pathogen? *Annu Rev Food Sci Technol* ;4:117–39.

[28] Sergelidis D, Angelidis AS, (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Lett Appl Microbiol*;64:409–18.

[29] . Safarpoor Dehkordi F, Gandomi H, Basti AA, Misaghi A, Rahimi E(2017). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant

Staphylococcus aureus isolated from hospital food. Antimicrob Resist Infect Control. 6(1):1–11.

[30] Gutiérrez D, Delgado S, Vázquez-Sánchez D, Martínez B, Cabo ML, Rodríguez A, et al.,(2012). Incidence of *Staphylococcus aureus* and Analysis of Associated Bacterial Communities on Food Industry Surfaces. Appl Environ Microbiol . Dec 15 ;78(24):8547–54.

[31] Madahi H, Rostami F, Rahimi E, Safarpour Dehkordi F,(2014). Prevalence of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* Isolated From Chicken Nugget in Iran. Jundishapur J Microbiol. 1;7(7):e10237.

[32] Castro A, Santos C, Meireles H, Silva J, Teixeira P, (2016). Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. J Infect Public Health. 9(2):153–60.

[33] Ferreira JS, Costa WLR, Cerqueira ES, Carvalho JS, Oliveira LC, Almeida RCC, (2015). Food handler-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in public hospitals in Salvador, Brazil. Food Control.;37(1):395–400. 6.

[34] Mougeot C. *, Guillaumat-Tailliet . J, J.M. Libert; (2000). *Staphylococcus aureus* : nouvelle détection de la résistance intrinsèque par la méthode de diffusion . Laboratoire de bactériologie, centre chirurgical Marie-Lannelongue, 133, avenue de la Résistance, 92350 Le Plessis, Robinson, France)

[35] Mirani ZA, Aziz M, Khan MN, Lal I, Hassan N ul, Khan SI,(2013). Biofilm formation and dispersal of *Staphylococcus aureus* under the influence of oxacillin. Microb Pathog Aug 1;61–62:66–72.

[36] Lipsitch M, Singer RS, Levin BR,(2018). Antibiotics in agriculture: when is it time to close the barn door? Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Apr 30 [May 29];99(9):5752–4.

[37] (Bertrande .X ,Costa. Y, Pina. P ;(2005). Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998–2003. Volume 35, Issue 6, June 2005, Pages 329-334.

Annexe:

❖ Annexe A: Compositions des milieux de cultures.

1. Composition des milieux de cultures :

Les formules de chaque milieu sont données en gramme par litre d'eau distillée.

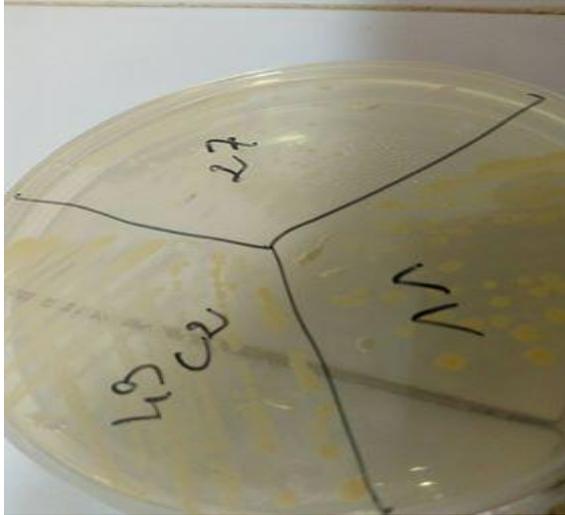
Les milieux qui sont préparés sont tous stérilisés par autoclave à 121°C pendant 20 min

| | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">● Gélose nutritive: - Peptone 5 g/L - Extraits de viande 1 g/L - Extraits de levure 2 g/L - Chlorure de sodium 5 g/L - Agar 15g/L -pH = 7,4 (+/- 0,2) | <ul style="list-style-type: none">● Milieu Mueller-Hinton : -infusion de viande de bœuf 300,0 ml -peptone de caséine17,5 g -amidon de maïs 1,5 g -agar17,0 g -pH = 7,4 |
| <ul style="list-style-type: none">● Milieu d'enrichissement BHI: -protéose-peptone10,0 g -infusion de cervelle de veau..... 12,5 g -infusion de cœur de bœuf5,0 g -glucose..... 2,0 g -chlorure de sodium5,0 g -hydrogénophosphate de sodium2,5 g -pH = 7,4 | <ul style="list-style-type: none">● Plasma de lapin : -Peptone de viande..... 4g - Peptone de gélatine 1g - Extrait de viande 2g - Chlorure de sodium 5g - pH final : 7.0±0.2. |

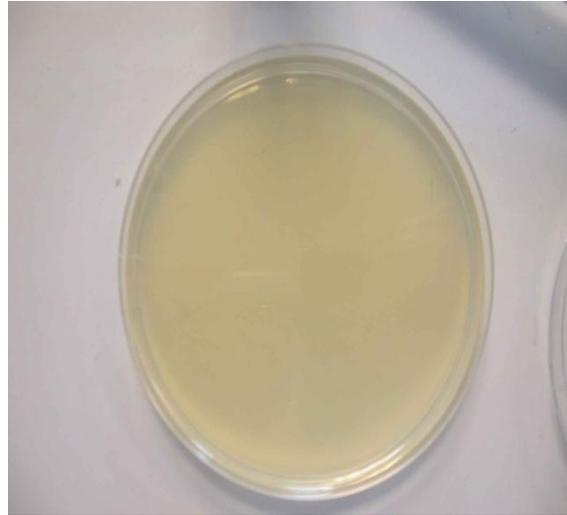
Afin d'avoir des résultats fiables, nous avons procédé à un contrôle qualité de tous les paramètres (milieux de cultures, mesure Température des étuves et des réfrigérateurs, contrôle de la qualité de la verrerie et du consommable utilisé).

❖ Annexe B: Milieu de purification :

➤ la gélose nutritive:



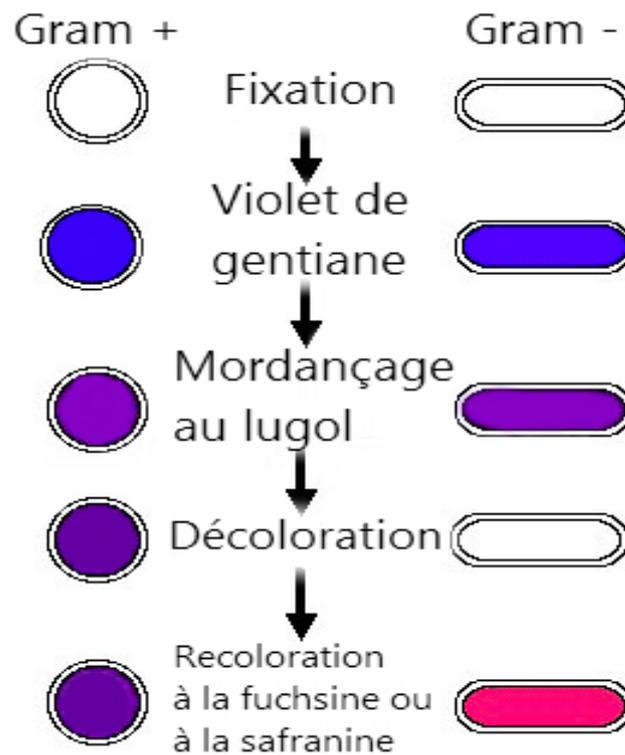
Gélose nutritive avant utilisation



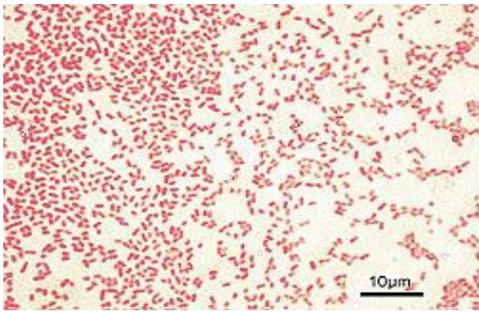
Gélose nutritive après utilisation

❖ Annexe C: Les tests d'identification des staphylocoques:

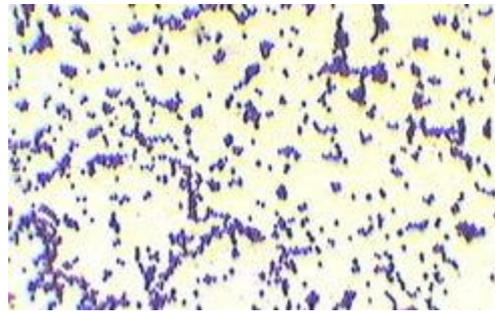
1. Coloration de Gram :



Observation microscopique après la coloration de gram :

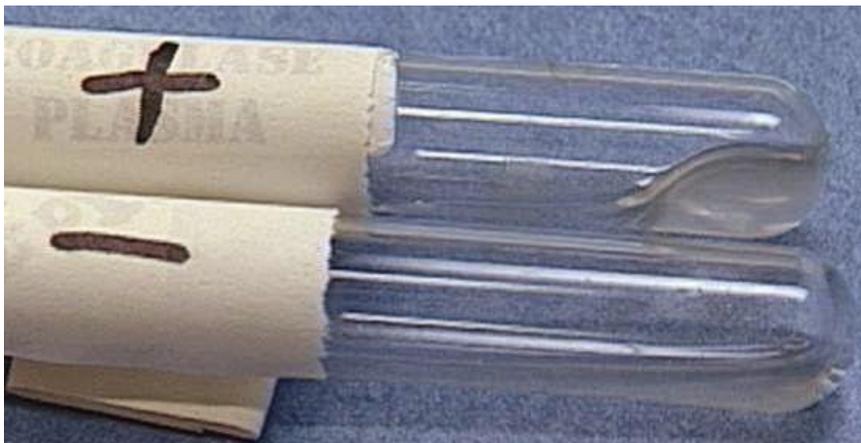


Vue microscopique de cocci gram négatif

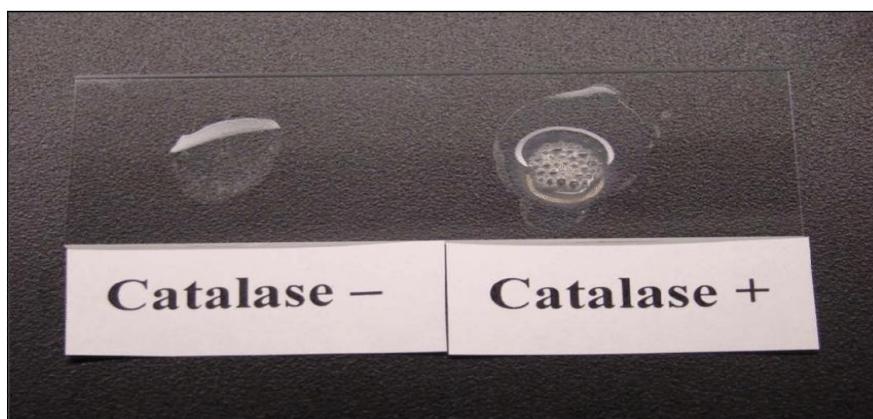


Vue microscopique de cocci gram positif

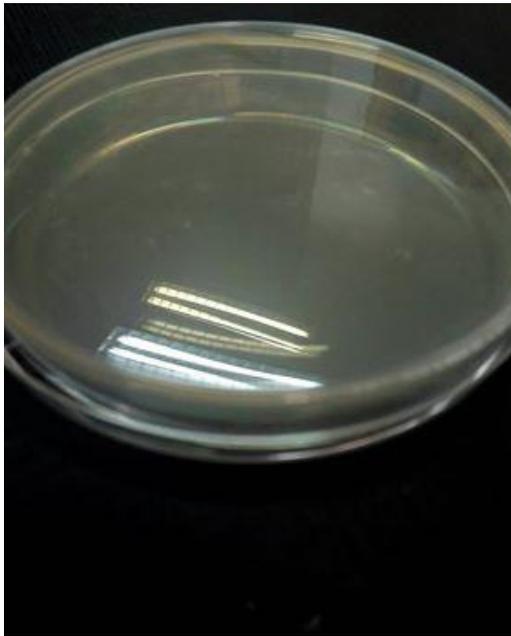
2. Test coagulase :



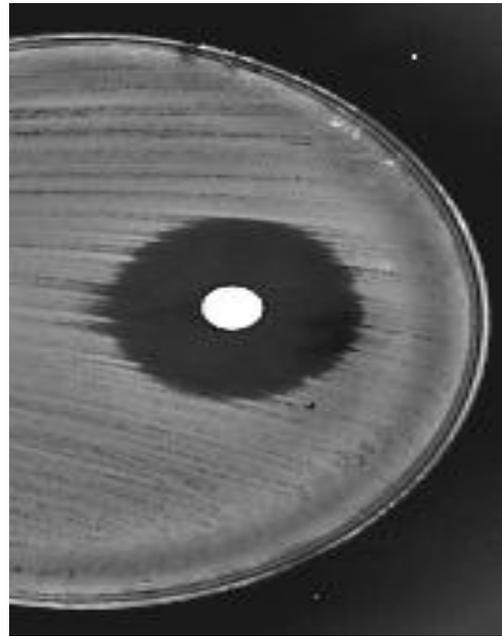
3. Test de la catalase :



Annexe D: Milieu d'antibiogramme :



Milieu MH avant l'utilisation



Milieu MH après l'utilisation

❖ Annexe E : Ecouvillons stériles humidifiés :



