

**N° d'Ordre :**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE L'AGRONOMIE

# Mémoire

**De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)**

**Filière : Sciences agronomiques**

**Spécialité : Eau et Environnement**

Intitulé du thème :

**Effluents d'abattoirs : source de  
contamination de staphylocoque résistante aux  
antibiotiques dans l'environnement**

Présenté par : **Mr SEMMAH Nouredine**

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : **Mr AMAR Youcef** (Professeur/UDL/SBA)

Examineur : **Mr MHAMDIA Chafik** (M.C.A/UDL/SBA)

Promoteur : **Mr BELMAMOUN Ahmed Réda** (M.C.A/UDL/SBA)

**Année universitaire 2020 - 2021**

**Session : « Juin »**

## **Dédicace**



**Toute réussite dans ma vie est grâce aux sacrifices et au courage de mes parents.**

**A Mes chers parents je dédie ce travail.**

**A toute Ma famille.**

**A La promotion de Master 2 en Agronomie, (Eau et Environnement).**

## Remerciement



**Mes remerciements les plus sincères sont adressées à :**

**Mon promoteur Mr BELMAMOUN Ahmed Réda, pour la confiance qu'il m'a accordé en acceptant de suivre mon travail, pour son aide et ces précieux conseils.**

**Aux responsables du laboratoire de microbiologie, département de l'agronomie.**

**Aux responsables de l'unité d'abattage et de transformation avicole de zahana à l'image de Mr le Directeur de l'unité et Mr MOUADEB Houari, Mr BEKKOUCHE Mehieddine (Docteur vétérinaire) en acceptant d'effectuer mon stage au sein de leurs structure.**

**À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.**

## Résumé

L'augmentation de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques est un sujet de préoccupation important. Après une brève description des mécanismes impliqués dans les résistances du staphylocoque aux différents antibiotiques, nous décrivons l'état actuel des résistances en abattoir de volaille, La lutte contre les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques représente un enjeu majeur de santé publique,

La résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale est un problème de santé publique. En effet, cette résistance peut être transmise aux bactéries pathogènes de l'homme et ainsi être à l'origine d'échecs thérapeutiques. Afin de lutter contre l'émergence et la diffusion de la résistance, et également de protéger la santé du consommateur, il est nécessaire de pouvoir suivre à l'échelle internationale l'évolution de cette résistance.

L'objectif de ce travail consiste à isoler des souches de *Staphylococcus aureus* à partir des eaux de rejets de l'abattoir de ZAHANA (société des abattoirs de l'ouest –oran- / G.A.O). Ce travail comportera deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique mettant au point des généralités sur les effluents d'abattoirs et leurs impacts sur l'environnement, ainsi que des généralités sur les *Staphylococcus aureus* et leurs résistance aux antibiotiques.
- La deuxième partie expose l'ensemble des méthodes expérimentales mises en œuvre pour l'isolement, purification et identification de *Staphylococcus aureus*, et enfin l'étude de la sensibilité des souches de *S.aureus* isolées aux antibiotiques.

Les résultats enregistrés sont très satisfaisants, ils montrent la Résistance des souches isolées des effluents de l'abattoir en majorité des différents antibiotiques utilisés.

### ***Mot clés :***

-effluents d'abattoirs –*staphylococcus aureus*- antibiotique.

## Abstract

The increased resistance of staphylococci to antibiotics is a matter of significant concern. After a brief description of the mechanisms involved in staphylococcus resistance to different antibiotics, we describe the current state of resistance in poultry slaughterhouses. The fight against bacteria that are multi-resistant to antibiotics represents a major public health issue,

Antibiotic resistance in bacteria of animal origin is a public health problem. Indeed, this resistance can be transmitted to pathogenic bacteria of man and thus be at the origin of therapeutic failures. In order to fight against the emergence and spread of resistance, and also to protect consumer health, it is necessary to be able to monitor the development of this resistance on an international scale.

The objective of this work is to isolate strains of *Staphylococcus aureus* from the wastewater of the slaughterhouse of ZAHANA (the western abattoirs company –Oran- / (G.A.O)). This work will consist of two parts :

- The first part is a bibliographic summary focusing on general information on slaughterhouse effluents and their impact on the environment, as well as general information on *Staphylococcus aureus* and their resistance to antibiotics.
- The second part describes all the experimental methods used for the isolation, purification and identification of *Staphylococcus aureus*, and finally the study of the sensitivity of the strains of *S. aureus* isolated to antibiotics.

The results recorded are very satisfactory, showing the resistance of strains isolated from slaughterhouse effluents to most of the different antibiotics used.

**Keywords :**

- slaughterhouse effluents - *staphylococcus aureus* - antibiotic.

## ملخص

الزيادة في مقاومة المضادات الحيوية من المكورات العنقودية هو مصدر قلق كبير. بعد وصف موجز للآليات المشاركة في مقاومة المكورات العنقودية للمضادات الحيوية المختلفة ، نصف الحالة الحالية للمقاومة في مسالخ الدواجن ، تمثل مكافحة البكتيريا المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية قضية رئيسية في مجال الصحة العامة ، مقاومة المضادات الحيوية في البكتيريا ذات الأصل الحيواني هي مشكلة صحية عامة. في الواقع ، يمكن أن تنتقل هذه المقاومة إلى البكتيريا المسببة للأمراض في البشر ، وبالتالي تكون سببا للفشل العلاجي. ومن أجل مكافحة ظهور وانتشار المقاومة، وكذلك لحماية صحة المستهلك، من الضروري أن نكون قادرين على رصد تطور هذه المقاومة على المستوى الدولي

مجتمع المسالخ في (والهدف من هذا العمل هو عزل سلالات المكورات العنقودية الذهبية من مياه تصريف مسلخ الزهانا وسيتألف هذا العمل من جزأين). (G.A.O) / -الغرب - وهران

- الجزء الأول هو توليفة ببليوغرافية تطور العموميات على النفايات السائلة المسالخ وتأثيرها على البيئة، فضلا عن العموميات على المكورات العنقودية والأورية ومقاومتها للمضادات الحيوية
- الجزء الثاني يعرض جميع الطرق التجريبية التي نفذت لعزل وتنقية وتحديد المكورات العنقودية أوريوس، وأخيرا - للمضادات الحيوية S.aureus دراسة حساسية سلالات معزولة من النتائج المسجلة مرضية للغاية ، فهي تظهر مقاومة السلالات المعزولة عن النفايات السائلة في المسلخ في غالبية المضادات الحيوية المختلفة المستخدمة

### الكلمات الرئيسية

- النفايات السائلة المسلخ-
- المكورات العنقودية أوريوس
- المضادات الحيوية

# Liste des abréviations

**A.D.N** : Acides Désoxyribonucléiques.

**A.M** : Ante-Mortem

**AMX** : Amoxicilline

**BA** : Bacitracine

**CD** : Clindamycine

**C.M.I** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**G.A.O** : Group Avicole de l'Ouest.

**U.A.T** : Unité d'Abattage et de Transformation.

**S** : Staphylococcus.

**D.B.O 5** : Demande Biochimique en Oxygène pendant 5 jours

**P.M** : Inspection Post-Mortem.

**S.N.C** : Système Nerveux Central.

**D.C.O** : Demande Chimique en Oxygène.

**D.D.P.P** : Direction Départementale de la Protection des Populations.

**D.O** : Déclaration Obligatoire.

**E** : Erythromycine

**FOX** : Cefoxitine

**I** : Intermédiaire.

**INVS** : Institut de Veille Sanitaire.

**I.S.O** : Organisation internationale de normalisation.

**N** : Néomycine

**NOR** : Norfloxacin

**OX** : Oxacilline

**P** : Pénicilline

**P.P.C** : Poulet de chair Prêt à la Cuisson.

**R** : Résistante.

**S** : Sensible.

**S.A.O** : Société des Abattoirs de l'Ouest.

**S.C.N** : Staphylocoques à Coagulas Négative.

**S.E.R.A.M** : Secretable Expanded Répertoire Adhésive Molecules.

**SXT** : Triméthoprim + Sulfamethoxazole

**T.I.A** : Toxi Infection Alimentaire.

**T.I.A.C** : Toxi Infection Alimentaire Collective.

**TE** : Tétracycline

**VA** : Vancomycine

# SOMMAIRE DES FIGURES ET TABLEAUX

**Tableau N°01** : Etat des connaissances en matière d'analyse bactériologique en abattoir.

**Tableau N°02** : taxonomie de *Staphylococcus aureus* (Prescott, 2010).

**Tableau N°03** : Toxines impliquées dans la virulence de *S.aureus* . (MacKinnon et al, 2000).

**Tableau N°04** : la résistance multiple aux antibiotiques parmi les souches de staphylocoques isolées

**Tableau N°05** : Antibiogramme

**Figure N°01** : Coloration de Gram de *S. aureus* (Marco Silva et al,2012).

**Figure N°02**: teste de coagulas en tube Medstudenti.(Mikrobiologija[enligne],2012).

**Figure N°03** : Mise en évidence de souche *S. aureus* grâce à la DNase

thermostable (Admin,Milieux de culture microbio alimentaire [en ligne], 2012 ).

**Figure N°04** : Test de la catalase avec présence de *S. aureus* (Collin County Community College District. Catalase Test [en ligne],2012).

**Figure N°05** : Fermentation du mannitol par des souches de *S. aureus* (Quizlet. MicroBio 225 (Lab Test 3) Selective and Differential Media, IMViC, BioChem Tests (with some bacterial samples [en ligne], 2012).

**Figure N° 06** : les échantillons (UAT -ZAHANA).

**Figure N° 07** : Aspect macroscopique des colonies sur milieu Chapman (photo personnel).

**Figure n° 08** : Coloration de gram (objectif x 100) (photos personnel)

**Figure N° 09** : Teste de catalase +

**Figure N°10** : Coagulase (+). (Photos personnel)

**Figure N°11** : Danse (+). (Photos personnel)

**Figure N° 12** : La galerie Staph API20E – (Photos personnel).

**Figure N°13** : Résultat de test staphytect (photos personnel).

**Figure N°14** : les résultats d'antibiogramme (photos personnel).

**Figure N°15** : Profil de résistance aux antibiotiques d'isolats de staphylocoque

**Figure N°16** : Antibiogrammes des staphylocoques isolés

**Figure N° 17** : Test biofilm (photo personnel).

**Diagramme N°01** : fabrication de poulets.

# Sommaire

<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b>Partie 01 : Etude bibliographique.....</b>	<b>02</b>
<b>Chapitre 01 : Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement.....</b>	<b>03</b>
<b>1.1 : Abattoirs de volaille .....</b>	<b>04</b>
<b>1-2 : Technologie d'abattage dans la filière avicole.....</b>	<b>04</b>
<b>1-2-1 : Transport des volailles vivantes.....</b>	<b>04</b>
<b>1-2-2 : Conditions d'abattage .....</b>	<b>04</b>
• <b>Conditions d'attente.....</b>	<b>05</b>
• <b>Inspection ante-mortem(AM).....</b>	<b>05</b>
• <b>Inspection post-mortem (PM).....</b>	<b>05</b>
<b>1-2-3 : Principales étapes d'une chaîne d'abattage .....</b>	<b>05</b>
<b>1-2-4 : Accrochage.....</b>	<b>05</b>
<b>1-2-5 : Etourdissement.....</b>	<b>05</b>
<b>1-2-6 : Mise à mort et saignée.....</b>	<b>06</b>
<b>1-2-7: Échaudage .....</b>	<b>06</b>
<b>1-2-8: Plumaison ou dé plumage .....</b>	<b>06</b>
<b>1-2-9 : Eviscération .....</b>	<b>06</b>
<b>1-2-10 : Lavage .....</b>	<b>07</b>
<b>1-2-11 : Ressuage .....</b>	<b>07</b>
<b>1-2-12 : Calibrage .....</b>	<b>07</b>
<b>1-2-13 : Troussage ou pliage .....</b>	<b>07</b>
<b>1-2-14 : Conditionnement-emballage-étiquetage .....</b>	<b>08</b>
<b>1-2-15 : Conservation par le froid.....</b>	<b>08</b>

1-La réfrigération .....	08
2-La congélation.....	08
1-3 : Impact environnemental des effluents d'abattoirs.....	11
1-3-1 : Pollution organique .....	11
1-3-2 : Pollution microbiologique .....	12
1-3-3 : Pollution physico-chimique .....	14
Chapitre 02 : Généralités sur les S aureus.....	15
2-1 : Place du S. aureus chez les bactéries.....	16
2-2 : Place du S. aureus dans le genre Staphylococcus .....	16
2-3 : Historique .....	16
2-4 : Habitat.....	17
2-5 : Classification de Staphylococcus aureus .....	18
2-6 : Caractères bactériologiques .....	20
2-6-1 : Caractères Morphologiques .....	20
2-7 : Caractère biochimique .....	20
- La coagulas ou staphylocoagulase .....	20
- La DNase thermostable .....	20
- La catalase .....	21
- La fermentation du mannitol .....	22
2-8 : Facteur de virulence.....	22
2-9 :Toxi-infections de Staphylococcus aureus .....	23
Chapitre 03 : Résistance des S. aux antibiotiques.....	25
3-1 : Les antibiotiques .....	26
3-1-1 : Définition .....	26

<b>3-1-2 : Critères de classification des antibiotiques .....</b>	<b>26</b>
- L'origine .....	26
- Le mode d'action.....	26
- Le spectre d'activité.....	26
- La nature chimique .....	27
<b>3-2 : Mécanismes de résistance.....</b>	<b>27</b>
<b>3-2-1 : Définition de la résistance bactérienne .....</b>	<b>27</b>
- Résistance naturelle ou intrinsèque.....	28
- Résistance acquise .....	28
<b>3-2-2 : Profil de résistance .....</b>	<b>28</b>
- Résistance à la Pénicilline G : .....	28
- Résistance aux aminosides : .....	29
- Résistance aux fluoroquinolones :.....	29
- Résistances aux autres antibiotiques : .....	29
- Résistance à la Méthicilline : .....	29
<b>Partie 02 : Matériels et Méthodes.....</b>	<b>31</b>
<b>1 : Cadre et objectifs de l'étude.....</b>	<b>32</b>
<b>2 : Description du lieu .....</b>	<b>32</b>
<b>3 : Nature des prélèvements .....</b>	<b>32</b>
<b>4 : Les analyses bactériologiques .....</b>	<b>33</b>
<b>4-1 : Isolement et purification.....</b>	<b>33</b>
<b>4-2 : Identification .....</b>	<b>33</b>
<b>5 : Le system API.....</b>	<b>33</b>
<b>5-1 : Intérêt clinique.....</b>	<b>33</b>

5-2 : Principe.....	33
5-3 : Méthode.....	34
5-4 : Résultat.....	34
6 : Les facteurs de virulences.....	34
6-1 : Le test à la coagulas.....	34
6-1-1 : Intérêt clinique.....	34
6-1-2 : Principe.....	34
6-1-3 : Mode opératoire.....	34
7 : Le test de Dnase.....	35
7-1 : Intérêt clinique.....	35
7-2 : Principe.....	35
7-3 : Mode opératoire.....	36
7-4 : Lecture.....	36
8 : Le test Staphylect Plus.....	36
8-1 : Intérêt Clinique.....	36
8-2 : Principe du test.....	36
8-3 : Matériel.....	37
8-4 : Méthode.....	37
8-5 : Lecture et interprétation des résultats.....	37
9 : Tests de sensibilité aux antibiotiques.....	38
9-1 : Méthode d'antibiogramme par diffusion (méthode des disques).....	38
9-1-1 : Principe.....	38
9-1-2 : But.....	38
9-1-3 : Milieu.....	38

<b>9-1-4 : Technique.....</b>	<b>39</b>
<b>9-1-5 : Lecture .....</b>	<b>39</b>
<b>10-la méthode rouge congo Agar.....</b>	<b>40</b>
<b>Résultats de discussion.....</b>	<b>42</b>
<b>I. Résultats.....</b>	<b>42</b>
<b>2. Identifications du genre Staphylococcus.....</b>	<b>42</b>
<b>3-Test de catalase.....</b>	<b>44</b>
<b>4-Test de coagulase libre.....</b>	<b>44</b>
<b>5-Le teste de Dnase.....</b>	<b>45</b>
<b>6-Identification des staphylocoques par l'Utilisation des API Staph.....</b>	<b>45</b>
<b>7-Teste staphytect plus.....</b>	<b>46</b>
<b>8-Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylocoques.....</b>	<b>47</b>
<b>9-Évaluation de la formation de biofilm par la méthode RCA.....</b>	<b>49</b>
<b>Conclusion</b>	
<b>Références Bibliographique</b>	

# **Introduction**

## **Introduction :**

Les effluents d'abattoirs correspondent à l'ensemble des rejets liquides produits sur le site de l'abattoir, c'est-à-dire les eaux résultant de l'activité d'abattage (procédé, lavage) et les eaux de vannes (Diallo, 2013).

La flore digestive des animaux de rente représente la source la plus importante quantitativement et qualitativement de micro-organismes banals ou pathogènes retrouvés dans les effluents bruts des abattoirs (protozoaires, champignons, bactéries anaérobies strictes et anaérobies facultatives). Les flores de la peau, du tractus uro-génital et du tractus respiratoire peuvent être également, mais dans une moindre mesure, participer à la contamination des effluents (Diallo, 2013).

Il a été constaté que les eaux usées non traitées contenaient des niveaux de bactéries coliformes totaux qui dépassaient les niveaux recommandés pour la décharge dans les plans d'eau. Il a également été trouvé que les masses d'eau réceptrices étaient contaminées par des bactéries fécales et que *Escherichia coli* dans l'eau en aval de tous les abattoirs étaient plus élevés que dans l'eau en amont des abattoirs, indiquant que les abattoirs étaient la source de pollution (Svanström, 2014).

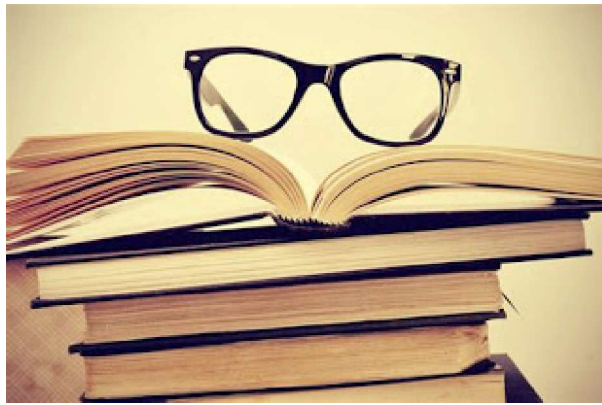
Les agents antibiotiques sont largement utilisés dans la production de volaille et sont habituellement administrés dans les aliments ou bien dans l'eau (Gyles, 2008) comme traitement, préventives, métaphylaxie et promoteur de croissance (Collignon et al, 2013).

Cette utilisation a contribué à la transformation de l'industrie de la volaille d'un grand nombre de petits agriculteurs à un nombre plus restreint de grands producteurs qui opèrent à haute efficacité (Bywater, 2005), mais aussi considérée comme l'une des principales sources de nouvelles combinaisons de Résistance aux antibiotiques (Lepelletier et al., 2015).

Les bactéries ont démontré une remarquable capacité à développer différents mécanismes de résistance aux antibiotiques et qui sont, au départ, tout à fait toxiques pour elles (Badrul, 2013). La résolution de ce problème est d'une importance économique et écologique pour notre pays, surtout dans les conditions actuelles.

Nous rendons compte que l'environnement ne sera préservé qu'au prix d'efforts exceptionnels, aussi bien sur le plan de l'organisation que du point de vue technique et juridique, et si nous nous inquiétons des conséquences que nos actes peuvent avoir pour nous-mêmes.

## **Partie 01 : Etude Bibliographique**



## Chapitre 01 :

# Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

## 1. Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

### 1.1 : Abattoirs de volaille

Les abattoirs de volaille présentent des particularités liées à la nature des animaux abattus. En effet, à la différence du déshabillage des carcasses d'animaux de boucherie qui permet de soustraire à l'effluent de l'abattoir une importante charge organique, le plumage nécessite une consommation d'eau importante, d'une part pour des raisons ergonomiques et sanitaires, les plumes ayant tendance à se disperser si elles ne sont pas mouillées, et d'autre part pour des raisons pratiques, le transport hydraulique des plumes étant une solution simple de mise en œuvre et adaptée à des unités de petite dimension. Les unités de grande capacité, utilisent le transport à sec aussi bien pour les plumes que pour les viscères, ce qui permet une importante réduction de la quantité d'eau utilisée et de la charge organique des effluents. L'abattage de poules est un cas particulier, cette activité générant des charges organiques élevées et incompressibles en rapport avec la nature de l'animal abattu : son tractus génital représente une masse importante et fortement chargée de matières grasses, et contient des jaunes d'œufs en formation contenant eux-mêmes beaucoup de lipides.

### 1-2 : Technologie d'abattage dans la filière avicole

#### 1-2-1 : Transport des volailles vivantes :

Sept à huit semaines après sa naissance et son arrivée à l'exploitation, le poussin est devenu un poulet consommable pesant 1,6 à 2kg vif. Il est alors acheminé vers le centre d'abattage et de conditionnement, Selon Jean et al. (2007), le transport des animaux depuis le lieu de production jusqu'au lieu d'abattage se fait à l'aide de camions adaptés à chaque type d'animaux. Le transport des animaux occasionne une fatigue et des stressés qui peuvent entraîner une altération de la qualité de la viande. Il est donc important de diminuer le stress en maîtrisant ses causes : température, durée et conditions du transport, état des animaux. Les volailles doivent avoir des tailles et des poids presque identiques, ceci afin d'éviter le problème de calibrage et pouvoir passer aisément dans les différentes machines notamment les plumeuses (Fraysse et Darre, 1990).

#### 1-2-2 : Conditions d'abattage

- **Conditions d'attente** : il faut mettre les poules au repos dans un endroit frais et leur donner la possibilité de s'abreuver à volonté mais à jeun pendant 12 heures au moins qui précèdent l'abattage pour que les opérations d'effilage et d'éviscération soient correctement

## Chapitre 01 : Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

---

effectuées (Matouty, 1992). Douceur de manipulation : les opérations de déchargement et d'accrochage doivent être faites avec le maximum de soin car, toute action brutale, entraîne un stress des animaux et par conséquent, une plumaison difficile (Colin, 1985).

• **contrôle sanitaire** : L'inspection sanitaire s'agit d'un examen macroscopique visuel parfois suivi d'examen complémentaire, de palpation et d'incision des carcasses et des abats destinés à vérifier la salubrité des viandes.

- **Inspection ante-mortem (AM)** : Lors de l'abattage des volailles, l'inspection sanitaire comprend une observation ante-mortem à l'arrivée des animaux à l'abattoir (Lupo et al, 2005). C'est une intervention clinique ponctuelle obligatoire qui permet de juger de l'état physique et de la santé des volailles. L'inspection s'effectue en principe pendant le repos dans les complexes avicoles (Matoury, 1992).
- **Inspection post-mortem (PM)** : L'inspection post-mortem a pour objectif de détecter et de retirer de la chaîne de la consommation les carcasses présentant des lésions évidentes, susceptibles d'affecter la sécurité ou la salubrité du produit (Lupo et al, 2005).

### 1-2-3 : Principales étapes d'une chaîne d'abattage :

Les conditions d'abattage du poulet ont un impact direct sur la présentation et la durée de conservation. Une attention particulière doit être portée sur les conditions d'hygiène du personnel, de la chaîne d'abattage et en règle générale considérer que toutes les manipulations à tous les stades d'abattage sont des points critiques. La chaîne d'abattage regroupe donc toutes les opérations d'abattage allant des soins avant la réception au calibrage des carcasses. Du point de vue technique (opérateur), on peut retenir la séquence suivante :

### 1-2-4 : Accrochage :

Les poulets sont accrochés par les pattes sur des fourches qui glissent sur un convoyeur aérien au moyen des galets et d'un système d'entraînement électromécanique. L'ensemble des rails, fourches et chaînes, crochets, balancelles est fixé aux suspentes et poteaux métalliques. La chaîne peut ainsi parcourir des segments en ligne droite, des montées, des descentes ou éventuellement emprunter des angles selon l'étape de traitement (saignée, échaudage, éviscération...) (Anonyme, 2007).

### **1-2-5 : Etourdissement :**

L'étourdissement chez la volaille se réalise par application d'un courant électrique ou électronarcose, le courant électrique passe alors par système nerveux central (SNC) et l'animal est étourdi. La technique la plus courante est le bain d'eau électrifié où les oiseaux accrochés par les pattes (la tête en bas) et leurs cous sont plongés dans l'eau électrifié, cette procédure tranquillise les animaux sans stopper le rythme cardiaque (pour faciliter la saignée) (Bilgili, 1992).

### **1-2-6 : Mise à mort et saignée :**

La saignée se déroule selon le rite musulman et de sectionner extérieurement les carotides à la base de la gorge. La saignée dure environ 4 minutes (mn) pour évacuer le maximum de sang et éviter ainsi la coloration rosée due à une saignée incomplète, cause de déclassement de carcasse et aussi à des fins hygiéniques (le sang étant un bon milieu de culture de micro-organismes), si elle est correctement réalisée, elle n'entraîne aucune altération au cours de la conservation (Matouty, 1992).

### **1-2-7 : Échaudage :**

L'opération consiste à tremper l'animal dans une cuve à échauder munie d'une résistance électrique et d'un thermomètre électronique pour le contrôle de la température (52°C). La durée du trempage et la température de l'eau ont une influence certaine sur l'apparence ultérieure de la carcasse, la tendreté de la chair et la charge microbienne superficielle et profonde (Matouty, 1992).

### **1-2-8 : Plumaison ou dé plumage :**

La plumaison s'agit d'enlever les plumes de l'animal sans arracher la peau, cette opération se termine par l'essicotage qui consiste à enlever les quelques petites plumes ou « sicots » qui restent au niveau de la tête, des ailles et du cloaque manuellement, La plumaison précède l'éviscération.

### **1-2-9 : Eviscération :**

- Effilage ou éviscération partielle C'est une extraction de l'intestin par l'orifice cloacal et vidage du jabot qui reste en place de même que le gésier, le cœur, le foie et les poumons. Des inconvénients comme la rupture de l'intestin à l'intérieur de la carcasse,

## Chapitre 01 : Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

---

l'impossibilité d'observer ou d'inspecter les organes internes font que les spécialistes recommandent d'éviter au mieux cette technique.

- Eviscération totale L'opération consiste en l'ablation totale de l'œsophage, du jabot, de la trachée, un des viscères thoraciques (cœur, poumons) et abdominaux (gésier, foie, intestins) ainsi que la section du cou et des pattes. L'éviscération commence par une fonte postérieure puis un retrait des viscères sans rupture et enfin une préparation des abats comestibles à savoir : - Cœur sans membrane péricardique, - Foie sans vésicule biliaire, - Gésier sans revêtement corné. Généralement les carcasses sont présentées avec ou sans les abats, mais le cou et les pattes « in situ » (Diop, 1982).

### 1-2-10 : Lavage :

Il se fait par pulvérisation d'eau potable. Il permet une diminution importante des microorganismes qui se trouvent sur la peau des volailles et dans les cavités internes. Cette étape permet une diminution de 5 à 90% des microorganismes comme les entérobactéries et les coliformes (Silliker, 1980).

### 1-2-11 : Ressuage :

L'entrée en ressuage doit intervenir au plus tard 60 minutes après l'accrochage des volailles. La descente de la température doit être progressive en salle de ressuage. Aucune formation de glace ne doit apparaître sur les carcasses pendant le ressuage.

- La durée minimale de ressuage est définie dans chaque fiche produit. Dans tous les cas, l'objectif est d'atteindre une température comprise entre 0 et 4°C à cœur à l'issue de la phase de ressuage (Yves, 2009). C'est une sorte de séchage qui permet de diminuer l'humidité de la surface de la peau pour améliorer la durée de conservation du produit (Colin, 1985).

### 1-2-12 : Calibrage :

Les volailles ainsi ressuyées sont transférées vers une salle de calibrage. Un système de calibrage automatique permet d'effectuer un classement pondéral individuel des carcasses.

### 1-2-13 : Troussage ou pliage :

Cette phase vise à améliorer la présentation des carcasses pour répondre aux exigences du marché. Il s'agit de surprendre les masses musculaires pendant la rigidité cadavérique pour avoir une allure rebondie. Deux présentations sont possibles :

## Chapitre 01 : Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

---

- La dorsale avec chaque patte pliée sous l'aile correspondante, la tête étant sous l'une des ailes ;
- La ventrale avec chaque aile sous la cuisse correspondante, les pattes rabattues sur le dos et la tête sous une aile (Rosset et Lamelloise, 1984).

### 1-2-14 : Conditionnement-emballage-étiquetage :

- Conditionnement et emballage : Le poulet fraîchement abattu et soigneusement vidé doit être ensuite placé immédiatement au frais. Il ne faut en aucun cas emballer de la viande non refroidie. Le poulet emballé sous sachet en polyéthylène ou emballé sous film recouvrant une barquette peut généralement bien se conserver en frais à température de 0°C à 4°C pendant une semaine ou la durée de la DLC (date limite de conservation). En milieu congelé (-25°C) et sous emballage en sachets plastiques, la volaille peut se conserver jusqu'à 6 mois (Anonyme, 2007).
- L'étiquette : révèle l'identité de la marchandise avec quelques indications comme : - Nom et numéro d'agrément de l'abattoir ou du complexe avicole ; - Nature de la marchandise ; - Date de production ou de mise en congélation ; - Nombre et poids de chaque colis, etc.

### 1-2-15 : Conservation par le froid :

La conservation est indispensable après l'abattage pour éviter l'altération rapide des carcasses surtout dans les pays à climat chaud. En effet les phénomènes de putréfaction et de fermentation consécutive à la prolifération microbienne sont entravés à des températures inférieures à +6°C. En dessous de -10°C, il y a arrêt de la multiplication bactérienne alors que celle des levures et moisissures intervient en dessous de -18°C (Rosset et Lamelloise, 1984). La maîtrise de la chaîne du froid, dès l'abattage et jusqu'à la consommation, joue un rôle très important dans la conservation de la viande (DAOUDI et al, 2006). Selon Jeantel et al. (2006), la conservation par le froid est divisée en deux groupes principaux : la réfrigération et la congélation.

**1-La réfrigération :** La réfrigération est caractérisée par le maintien de la température du produit légèrement au-dessus de 0°C, Selon Lahellec et al. (1996), la température de stockage prévue pour les volailles réfrigérées est située entre 0°C et 4°C, mais différents essais ont montré que la durée de conservation sera prolongée d'autant que le stockage sera réalisé à une température plus proche de 0°C. La plupart des bactéries pathogènes ne se développent normalement pas aux températures de réfrigération.

## Chapitre 01 : Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

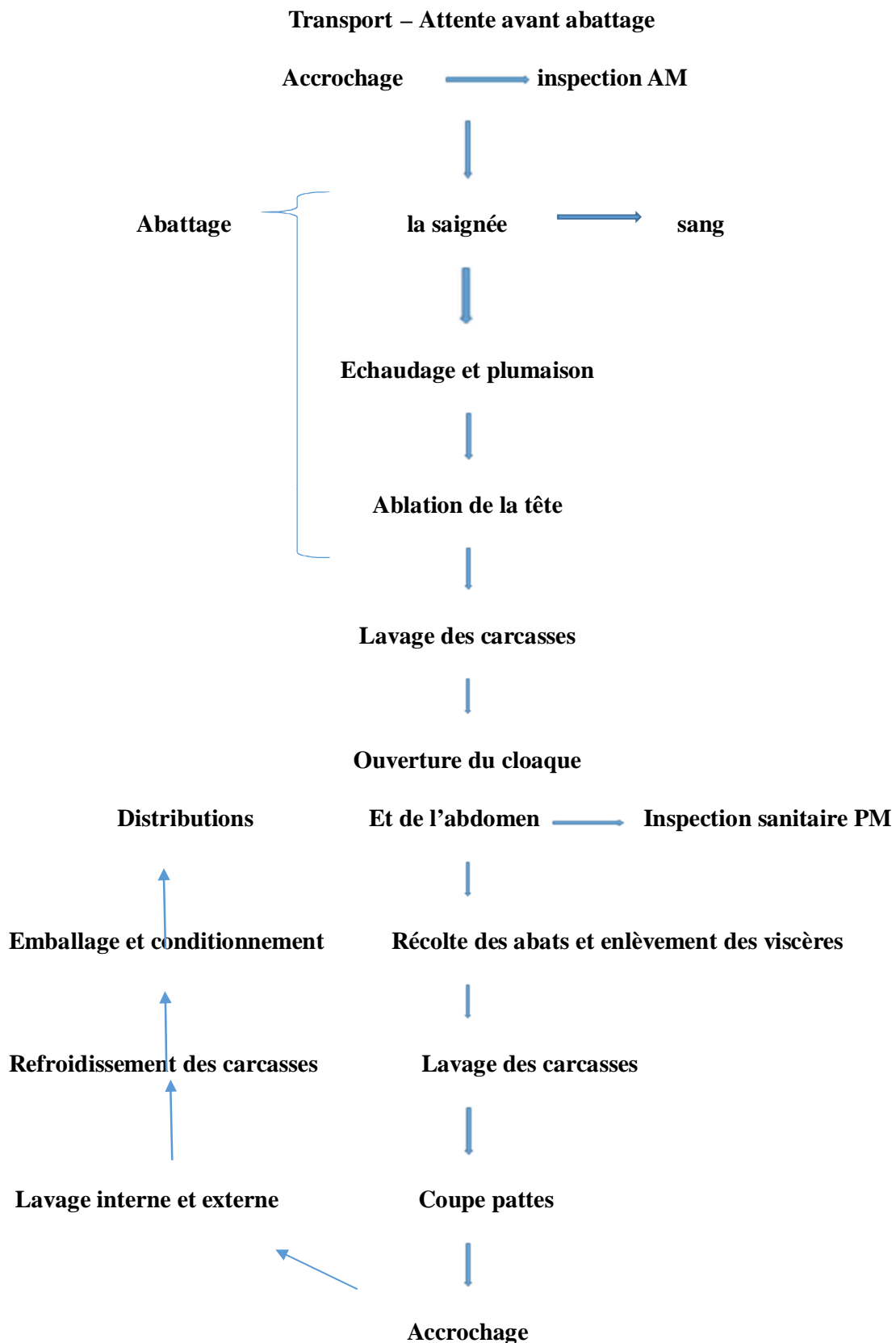
---

**2-La congélation** : La congélation est une technique de conservation extrêmement utile et utilisée ,Elle est l'action de soumettre un produit au froid de façon à provoquer le passage de l'eau qu'il contient à l'état solide ,La congélation repose sur un abaissement de température du produit légèrement au-dessous de 0°C (en général vers -18°C). La référence pour la congélation, est qu'à -18°C, les microorganismes ne peuvent plus se multiplier, et la plupart des réactions enzymatiques sont bloquées (Rosset, 1984). La congélation des viandes présente les effets suivants :

- Les réactions de dégradation sont très ralenties ou arrêtées ;
- Le développement microbien est stoppé ;
- La formation des cristaux de glace dans l'aliment peut léser les parois des cellules.

# Chapitre 01 : Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

## Diagramme N°01 : fabrication de poulets :



### 1-3 : Impact environnemental des effluents d'abattoirs

Avant tout, le premier impact environnemental attribuable à l'abattoir est sa consommation d'eau : l'utilisation d'importante quantité d'eau pour le lavage en fait un « mauvais élève » dans le panorama industriel où la tendance générale est semblée toutefois incompressibles dans les installations modernes : puisque toutes les opérations de production de viande impliquent l'utilisation d'eau potable, préserver la ressource ne pourrait se faire au prix d'un risque accru pour le consommateur.

Les abattoirs produisent des eaux résiduaires issues des opérations de lavage du hall d'abattage contenant du sang, des eaux de lavage de la triperie-boyanderie et les contenus digestifs, des eaux de lavage des stabulations, des eaux de lavage des aires et des camions, ainsi que celles des appareils et des installations divers (Gannoun et al.2009). Ces effluents ont, le plus souvent, un aspect rougeâtre et présentent une importante charge en fragments de viandes, des graisses, des excréments, le contenu de panses, des débris de parage, des caillots de sang, des morceaux de cornes et d'onglons, des matières stercoraires, des fèces et des pailles.

Le volume des eaux résiduaires rapporté au nombre d'animaux abattus varie significativement, il dépend de l'importance de l'abattoir, du mode d'exploitation et surtout de la nature de bêtes égorgées (Belghyti et al, 2009). .

#### 1-3-1 : Pollution organique

La nature organique de l'effluent implique que, dans une situation dégradée où il serait mal pris en charge par la filière de traitement, il peut perturber le milieu récepteur dans lequel il est rejeté : il constitue une source de nutriments qui va déstabiliser les réseaux trophiques du milieu, favorisant la croissance des populations d'espèces saprophytes qui vont coloniser le milieu et dominer les autres espèces, amenant l'écosystème concerné à une réduction de sa biodiversité. Le rejet d'azote et de phosphore est quant à lui impliqué dans le processus d'eutrophisation : lorsqu'un écosystème aquatique connaît une importante augmentation de ses intrants en azote et en phosphore, le profil du phytoplancton qu'il contient s'en trouve bouleversé. Si les conditions physiques du milieu le permettent, c'est-à-dire une température élevée, un éclaircissement important (et donc des conditions estivales) et un courant faible principalement, la croissance d'un nombre limité d'espèces phyto-planctoniques va être fortement favorisée, entraînant une explosion de leur population et une importante colonisation du milieu en surface.

## Chapitre 01 : Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

---

Cette biomasse végétale va interdire l'accès à la lumière des plantes aquatiques, entraînant leur mort. D'autre part, la respiration nocturne du phytoplancton présent en quantité anormalement élevée consommera tout l'oxygène dissous disponible, entraînant la mort de nombreux animaux aquatiques. Enfin, la mort de ces algues impliquera le dépôt de très grandes quantités de cadavre sur le fond de la pièce d'eau, privant poissons et invertébrés aquatiques de leur habitat. L'eutrophisation est par conséquent une pollution nutritionnelle de pléthore si le problème est considéré du point de vue du milieu récepteur.

### 1-3-2 : Pollution microbiologique

La microbiologie des effluents d'abattoir est un sujet étudié depuis la fin des années soixante. Une seule étude d'ampleur, à notre connaissance, a été menée en France. Elle a été réalisée par l'équipe de LECLERC et OGER sur toute l'année 1973, sur deux abattoirs en prélevant à un rythme hebdomadaire ou bimensuel. L'ensemble des études réalisées (tableau 01) présente une dominante : les Salmonelles sont souvent trouvées et ce, sur effluent brut, prétraité ou traité biologiquement. Les sérotypes présents sont, le plus souvent, prototrophes, ce qui veut dire qu'ils ne présentent pas d'exigences de milieu pour leur survie et leur multiplication, et présentent un potentiel pathogène. Les principaux sérotypes pathogènes rencontrés sont Salmonella Typhimurium et Enteritidis, responsables de syndromes diarrhéiques et, dans le contexte de l'alimentation, de toxi-infections alimentaires collectives. L'impact de l'effluent d'abattoir sur la santé publique n'en demeure pas moins flou même si le risque potentiel existe par la seule présence de Salmonelles. Plusieurs critères permettent de discuter cet impact. L'abattoir est un outil de production qui possède une caractéristique singulière : il constitue un véritable entonnoir pour les cheptels des différentes espèces de rente et, avant tout autre considération, cet entonnoir est un lieu de contact entre une population animale très importante et un effectif humain réduit, le personnel de l'abattoir. Les risques environnementaux liés au fonctionnement de l'abattoir sont donc au premier chef des risques de santé publique professionnelle.

Classiquement, les pathogènes incriminés en premier lieu dans le risque lié au travail à l'abattoir sont les bactéries du genre Mycobacterium responsables de la tuberculose et les différents sérovars de Brucella melitensis responsables de la brucellose (*LE BÂCLE, C., BALTY, I., LEPRINCE, A. Risque de transmission de l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine aux travailleurs de la filière viande de boucherie. Documents pour le médecin du travail, 4e trimestre 2000, 84, 1-20.*).

## Chapitre 01 : Effluents des abattoirs et l'impact sur l'environnement

<i>Taxons</i>	<i>Source</i>	<i>Lieu</i>	<i>Référence</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Poulets : fèces, carcasses, eau de refroidissement, le tout à l'abattoir</i>	<i>Turquie</i>	<i>Akan et al, 1998 (14)</i>
<i>Enterobacteriaceae, Micrococcus, Corynebacterium</i>	<i>Volailles : bac d'échaudage</i>	<i>Afrique du Sud</i>	<i>Geornaras et al, 1998 (18)</i>
<i>Salmonella, Yersinia, Pseudomonas</i>	<i>Effluent et eau de procédé d'abattoirs de porcs et multi-espèces</i>	<i>France</i>	<i>Renouf, 1995 (19)</i>
<i>Salmonella,</i>	<i>Effluent prétraité d'abattoir multi-espèces</i>	<i>Écosse</i>	<i>Johnston et al, 1986 (20)</i>
<i>Campylobacter enteritidis</i>	<i>Effluent prétraité d'abattoir multi-espèces</i>	<i>Royaume-Uni</i>	<i>Jones et al, 1990 (21)</i>
<i>Salmonella</i>	<i>Eaux usées d'abattoirs de porcs, de volailles, de bovins</i>	<i>France</i>	<i>Leclerc &amp; Oger, 1975 (12)</i>
<i>Salmonella</i>	<i>Effluent d'abattoir avec ou sans traitement biologique,</i>	<i>Australie,</i>	<i>Smith &amp; Grau, 1974 (22)</i>
<i>Salmonella</i>	<i>Effluents d'abattoir de porcs, bétail et volailles</i>	<i>Danemark,</i>	<i>Søgaard &amp; Brest Nielsen, 1979 (23)</i>

**Tableau N°01 : Etat des connaissances en matière d'analyse bactériologique en abattoir**

### 1-3-3 : Pollution physico-chimique

Le rejet d'abattoir possède un pH proche de la neutralité. En effet, le sang présent dans ce type d'effluent renferme majoritairement des complexes protéiques (fibrogène, protéine de coagulation, anticorps,...) actives à pH neutre. Le rejet d'abattoir se caractérise par une haute alcalinité, une demande chimique en oxygène importante, une grande teneur en matières volatiles, une teneur élevée en ammonium et en phosphore. Cet effluent renferme une fraction de DCO soluble nettement inférieure à la DCO totale. Cette différence est principalement due à la teneur élevée en matière organique en suspension comprenant essentiellement la matière grasse. Ces lipides représentent 40% de la DCO totale de l'effluent issu de l'abattage des bovins. Ces constituants représentent moins de 1% de la DCO soluble mais plus que 67% de la DCO insoluble du rejet d'abattoir. La fraction insoluble représente entre 30% et 75% de la charge polluante globale du rejet d'abattoir (Belghyti et al. 2009). En effet, la partie organique soluble est égale à 45% et 55% respectivement de la DCO totale et de la DBO5 totale. Ceci confirme la biodégradabilité modérée de la charge organique totale qui se caractérise par un rapport DBO5/DCO de l'ordre de 0,49 ; en comparaison avec un rapport de 0,61 pour la biodégradabilité de la fraction soluble. Enfin, le rejet d'abattoir présente un rapport C/N remarquablement élevé égal à 10 mg DCO /mg TKN, un rapport permettant une activité biologique satisfaisante (Belghyti et al, 2009).

**Chapitre 02 :**  
**Généralités sur les *S.aureus***

# Chapitre 02 : Généralités sur les *S aureus*

---

## 2. Généralités sur les *S aureus*

### 2-1 : Place du *S. aureus* chez les bactéries

Le *S. aureus* étant un organisme vivant procaryote et une bactérie à Gram positif, il se retrouve donc dans le règne bactérie puis dans le phylum firmicutes. Sa taxonomie complète le positionne dans la classe des Bacilli puis dans l'ordre des Bacilliales. En 2001, les chercheurs Garrity et Holt ont proposé de radier les *S. aureus* de la famille des Micrococcaceae (genre *Micrococcus* et *Stomatococcus*) grâce l'analyse des séquences de la sous-unité 16S de l'acide ribonucléique ribosomique (ARNr 16S) ainsi que d'autres analyses génétiques (**Dworkin et al,2006**) . Sa position taxonomique est maintenant bien définie et il a une famille à son nom : Staphylococcaceae (**Dworkin et al,2006**). Cette famille comporte les genres *Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus*, *Macrococcus*, ainsi que le plus important le genre *Staphylococcus*. On retrouve donc *S. aureus* dans le genre *Staphylococcus*.

### 2-2 : Place du *S. aureus* dans le genre *Staphylococcus*

Les *S. aureus* est une espèce de staphylocoques qui n'est pas unique dans le genre *Staphylocoque* Une minorité de staphylocoques a été isolée chez l'espèce humaine, les autres espèces étant exclusivement retrouvées chez des espèces animales. Certaines des 18 espèces staphylococciques isolées chez l'Homme sont pathogènes et peuvent donc entraîner des infections. Le genre *Staphylococcus* regroupe donc des espèces connues comme *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* ou *S. capitis*. A l'heure actuelle, il y a 47 espèces et 24 sous espèces dans le genre *Staphylococcus*( List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. J.P. Euzéby,2013).

Concrètement, la différence entre ces espèces et *S. aureus* peut s'établir grâce à des kits d'identification ainsi que par des galeries d'identification qui sont basés sur des caractères biochimiques. En effet une absence et/ou une présence d'une activité enzymatique, de facteurs de virulence, de dégradation d'un substrat peut identifier l'une ou l'autre des espèces staphylococciques.

### 2-3 : Historique

Les staphylocoques ont été découverts par Pasteur et Koch en 1877 à partir d'un pus de furoncle et d'ostéomyélite, considérés comme une entité unique, Leur implication possible en tant qu'agents pathogènes ne fut démontrée que plus tard par Ogston en 1881, qui mit en évidence

## Chapitre 02 : Généralités sur les *S aureus*

---

des espèces saprophytes colonisant la peau, et d'autres responsables de furoncles et de surinfections de plaies. (Hill, 1981).

*Staphylococcus aureus* communément appelé staphylocoques doré, est un staphylocoque à coagulase positive. Il a été, nommé ainsi par Rosenbach en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (Couderec, 2014).

### **2-4 : Habitat**

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont ubiquitaires, peu exigeantes et capables de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement extérieur, mais aussi en commensal des épithéliums cutanés et muqueux des hommes et des animaux, l'homme constitue un réservoir de plusieurs espèces de staphylocoques, dont *Staphylococcus aureus*. La bactérie colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveau-nés (Wertheim, 2005).

### **Dans l'environnement**

Les *S. aureus* est une bactérie qui est répandue sur la planète bleue de façon ubiquitaire. Il possède des capacités d'adaptation et de résistance au stress importantes et il est capable de survivre dans un large éventail d'habitats environnementaux. Ces capacités expliquent en partie la difficulté à éradiquer *S. aureus*. La bactérie peut être isolée de façon sporadique dans le sol, l'eau douce, le sable de la plage, l'eau de mer, la surface des plantes. Concrètement, elle est largement présente dans les poussières dispersées dans l'air et les surfaces (Dworkin et al, 2006). Les difficultés d'éradication du micro-organisme posent un problème en milieu hospitalier car les personnes hospitalisées peuvent être infectées par des *S. aureus* qui sont d'origine généralement humaine. Ces personnes se retrouvent contaminées par contact direct, par des aérosols, ou bien à partir de surfaces contaminées. Une étude a déterminé que durant une période de 18 mois, 64 % des échantillons d'air prélevés dans un bloc opératoire en activité (durant les opérations) étaient contaminés par *S. aureus* (Edmiston Jr.CE et al, 2005).

### **Dans les aliments et leur environnement de production**

La bactérie peut se retrouver dans les aliments comme par exemple, le lait, les produits laitiers ou la viande. La contamination des aliments peut être due principalement à la matière première qui est contaminée ou d'origine humaine lors de la fabrication et/ou le conditionnement de l'aliment dans l'industrie agro-alimentaire (Callon et al. 2007).

## Chapitre 02 : Généralités sur les S aureus

---

Ces contaminations sont souvent liées à un défaut d'hygiène du matériel de production ou de l'employé. La contamination des aliments est un problème à prendre en compte car *S. aureus* peut être responsable de toxi-infections alimentaires (TIA). S'il y a plusieurs personnes infectées par une toxi-infection alimentaire collective (TIAC), elles doivent impérativement se déclarer auprès des agences régionales de santé (ARS) ou de la direction départementale de la protection des populations (DDPP).

En effet, les TIAC figurent en France dans la liste des maladies à déclaration obligatoire (DO). Cette DO va être suivie d'une enquête épidémiologique afin d'identifier les aliments responsables et d'appliquer des mesures correctives pour éviter la survenue d'un nouvel incident. Les TIAC à *S. aureus* sont dues à l'ingestion d'entérotoxines staphylococciques. D'après l'institut de veille sanitaire (InVS), les TIAC à staphylocoques sont la première cause de TIAC devant celles liées aux salmonelles (InVS. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives, Données de la déclaration obligatoire, 2010).

Il y a eu 33 % de TIAC à *S. aureus* en France en 2010. Le plus grand épisode de TIAC à *S. aureus* s'est produit au Japon en 2000. Durant l'été, 13000 habitants du pays du soleil levant ont été intoxiqués par du lait écrémé dans la province d'Osaka. Les conséquences pour l'économie laitière fut dramatique (perte de 6 M€ licenciements, etc.) (Delarras et al, 2007) (Ikeda et al, 2005).

### 2-5 : Classification de *Staphylococcus aureus*

Selon la 9ème édition du Bergey's Manual, les staphylocoques sont Classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, l'introduction de techniques génomiques en 1976 a permis la vérification de certaines classifications tout en engendrant de nombreuses modifications, amenant progressivement à la taxonomie actuelle.

Règne	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	Staphylococcus
Espèce	Staphylococcus aureus

Tableau N°02 : taxonomie de *Staphylococcus aureus* (Prescott, 2010)

## Chapitre 02 : Généralités sur les *S aureus*

---

### 2-6 : Caractères bactériologiques

#### 2-6-1 : Caractères Morphologiques

Les Staphylocoques sont des cocci à coloration de Gram positive d'environ 1  $\mu\text{m}$  de diamètre, se disposant le plus souvent en amas ou grappes. Ils sont immobiles et ne produisent pas de spores. S'ils sont généralement capsulés in vivo, ils perdent progressivement leur capsule en culture, Ils sont aéro-anaérobies facultatifs, capables de se multiplier en milieu ordinaire entre 10 et 42 °C, avec un optimum thermique à 37 °C et à un pH compris entre 7,4 et 7,6. *Staphylococcus aureus* possède également la faculté de se multiplier sur milieux sélectifs hyper salés. (Flandrois, 1997). Sur les milieux gélosés couramment utilisées (Baird Parker, Mueller Hinton, Columbia ...), *S.aureus* produit des colonies circulaires, a bords réguliers, bombées et luisantes. Leur diamètre varie de 1 à 3 mm après 24h à 37°C et de 3 à 10 mm après 5 jours, plusieurs souches de *S.aureus* produisent des colonies pigmentées en jaune doré plus ou moins intense et des colonies à centre noir entourée d'un halo clair sur Baird Parker (Sutra et al, 1998).

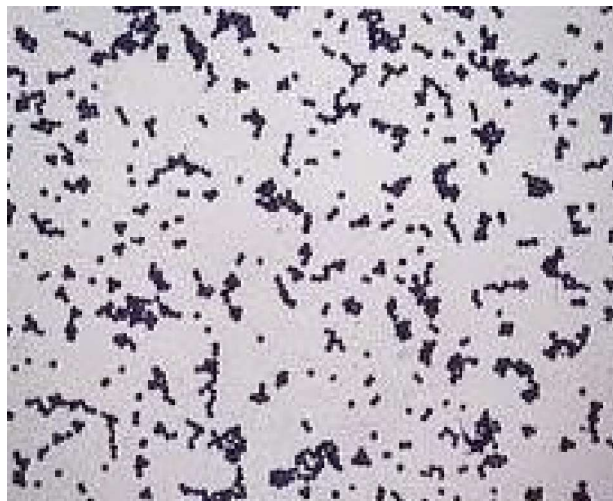


Figure N°01 : Coloration de Gram de *S. aureus* (Marco Silva, 2012).

## Chapitre 02 : Généralités sur les S aureus

---

### 2-7 : Caractère biochimique

Les Staphylocoques produisent une catalase, le critère de base de leur classification est la production de coagulas. (BOURGEOIS et al, 1988). Les staphylocoques à catalase positive et oxydase négative, la production d'une coagulas, d'un pigment caroténoïde jaune doré et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *Staphylococcus aureus* (SCP). Les autres espèces sont regroupées sous le terme de staphylocoques à coagulas négative (SCN). (Mee-Marquet et al, 2004).

#### La coagulas ou staphylocoagulase

La staphylocoagulase libre est le produit du gène *coa*. Ce gène induit la production d'une protéine extracellulaire et non d'une enzyme. Elle fait partie des SERAM (secretable expanded repertoire adhesive molecules) qui sont des nouvelles adhésines (Boden et al, 1989).

La coagulase est une protéine qui se fixe avec la prothrombine sur un site de liaison situé en N-terminal. Elle forme avec la prothrombine un complexe nommé staphylothrombine. Ce complexe va induire une polymérisation du fibrinogène en fibrine et ainsi la formation d'un thrombus (Kawabata et al, 1985). 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 (Verdie et al, 2012).

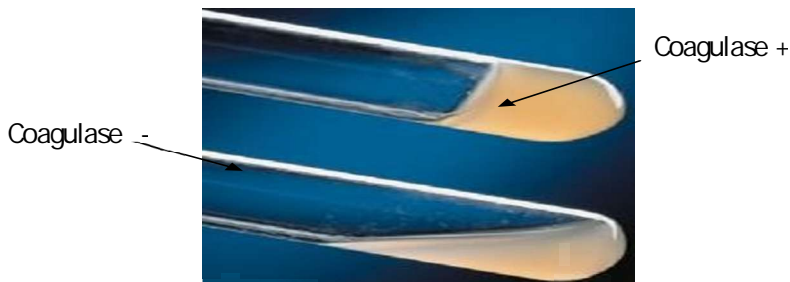


Figure N°02 : Teste de coagulas en tube (Medstudenti.Mikrobiologija, 2012).

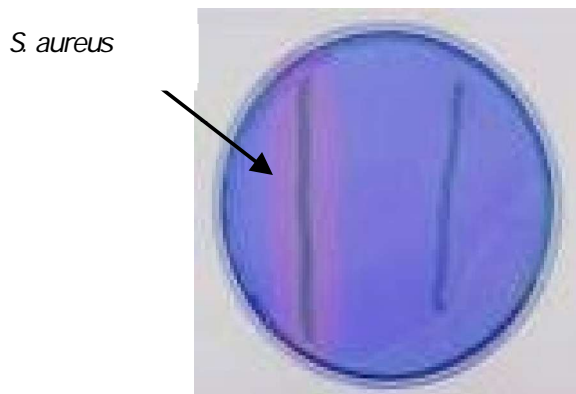
#### La DNase thermostable

La DNase thermostable est le produit du gène *nuc*. On la nomme aussi la thermonucléase et c'est une endonucléase. Cette enzyme coupe les acides désoxyribonucléiques (ADN) en

## Chapitre 02 : Généralités sur les *S aureus*

---

nucléotides ou poly nucléotides en hydrolysant les liaisons phosphodiesters. La thermo nucléase est caractéristique des souches de *S. aureus* (ainsi que deux autres staphylocoques à coagulase positive) et elle n'est pas détruite à des températures élevées (15 minutes à 100°). 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 et al, 2007).



**Figure N°03 : Mise en évidence de souche *S. aureus* grâce à la DNase thermostable (Admin, 2012).**

### **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'oxygène (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 +.



**Figure N°04 : Test de la catalase avec présence de *S. aureus* Collin County (Community College District, Catalase Test, 2012).**

### **La fermentation du mannitol**

Les *S. aureus* est capable de fermenter le mannitol. Le mannitol est un polyol et on peut le retrouver comme édulcorant ou bien comme excipient dans les médicaments. 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.



**Figure N°05 : Fermentation du mannitol par des souches de *S. aureus* (Quizlet, MicroBio, 2012).**

### **2-8 : Facteur de virulence :**

*Staphylococcus aureus* possède de nombreux facteurs de virulence et de pathogénicité (facteur d'adhésion, toxines, enzymes) et exerce son pouvoir pathogène par la libération d'une ou de plusieurs toxines, les entérotoxines libérées par les bactéries sont responsables de toxi-infections alimentaires (Tableau 03). La production de toxines à l'origine du syndrome de choc

## Chapitre 02 : Généralités sur les *S aureus*

toxique staphylococcique est plus rare. Enfin, la leucocidine de Panton-valentine est une toxine qui crée des pores dans la membrane des cellules, elle est associée à des infections cutanées. (Shallcross et al, 2013).

Famille	principales toxines	Mécanismes d'action ou syndromes toxiques spécifiques
Toxines super antigéniques	Toxines du choc toxiques staphylococcique Enterotoxines A à E, G, I, U	Choc toxique staphylococcique par activation du système immunitaire et libération de cytokines de l'inflammation. Réaction auto-immune (psoriasis, rhumatisme ....) Intoxication alimentaire
Toxines formant des pores	Toxines à hélice alpha Alpha-hémolysine Gamma-hémolysine Leucocidine de panton-valentine	Destruction des cellules de défense de l'hôte par inflammation de pores au niveau des membranes cellulaires
Toxines à activité protéolytique	Exfoliatines	Syndrome d'exfoliation généralisé (ou syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée) Impétigo bulleux staphylococcique

**Tableau N°03 : Toxines impliquées dans la virulence de *S.aureus* (MacKinnon et al, 2000)**

### 2-9 :Toxi-infections de *Staphylococcus aureus*

Les toxi-infections alimentaires à *S.aureus* sont en réalité des intoxications dues à la l'ingestion d'aliments dans lesquels une souche de *S.aureus* s'est multipliée et a produit une ou plusieurs entérotoxines (kéroanton et al, 2007). La dose infectieuse d'entérotoxines staphylococciques est d'environ 1ng/g d'aliment ce taux est atteint lorsque la population de *S.aureus* excède les (105 cellules/g). Cependant, les entérotoxines seraient détectables même à un niveau de *S.aureus* faible (103cellules/g) (Lamprell, 2003).Les symptômes les plus fréquemment observés lors de ces intoxications sont des vomissements violents et répétés, des nausées, des diarrhées aqueuses et des douleurs abdominales. Occasionnellement peuvent être observés : maux de tête, transpiration, frissons, crampes musculaires, faiblesse

## Chapitre 02 : Généralités sur les *S aureus*

---

générale, hypotension, et prostration. Les TIA à *S .aureus* étant dues à des toxines préformées dans l'aliment et non à une colonisation digestive par une bactérie entéropathogène, il n'y a en général pas de fièvre ou une fièvre modérée (Michel, 2005). Les symptômes surviennent après une période d'incubation courte, entre 2 et 4 heures en moyenne après la consommation du repas contaminé, et disparaissent spontanément après 18 à 24 heures. Les cas de décès à la suite de TIA à *S.aureus* sont très rares et surviennent chez les jeunes enfants et les personnes âgées à la suite d'une déshydratation brutale provoquée par les vomissements et les diarrhées (Michel, 2005).

## Chapitre 03

# Résistance des S. aux antibiotiques

## Chapitre 03 : Résistance des S. aux antibiotiques

---

### 3 : Résistance des S. aux antibiotiques

Avant la découverte des antibiotiques, les pathologies infectieuses bactériennes entraînaient, dans la majorité des cas, la mort : la peste au moyen âge, la tuberculose et les blessures infectées sur les champs de bataille en sont des exemples. A partir de la découverte de la pénicilline par FLEMMING en 1929, les découvertes de molécules nouvelles ce sont succédées : céphalosporine, streptomycine, tétracyclines, chloramphénicol, etc.

Donc on est passé à l'ère antibiotique au cours de laquelle la guérison des pathologies bactériennes est considérée comme habituelle. Mais, malheureusement l'usage intensif et non réfléchi de ces molécules d'antibiotiques permet aux bactéries de développer une certaine résistance vis-à-vis de ces molécules et donc de s'adapter à une nouvelle situation écologique.

#### 3-1 : Les antibiotiques

##### 3-1-1 : Définition

Un antibiotique est une molécule toxique (microbiostatique ou microbicide) pour un groupe cible de microorganisme (bactéries, champignons, virus, parasite eucaryote ...), de mode d'action spécifique ; actif à des concentrations faibles, de l'ordre du  $\mu\text{g.cm}^3$  ; généralement synthétisé par un microorganisme mais souvent modifié chimiquement ou même synthétisé entièrement par des chimistes (JOFFIN et LEYRAL, 2009). Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans les bactéries, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (OGAWARA , 1981).

##### 3-1-2 : Critères de classification des antibiotiques

L'abondance des molécules a rendu nécessaire leur classification en familles et sous-familles, qui peuvent se faire selon (PASTAN et LAPOUGE, 2011) :

**L'origine** : élaborée par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétiques).

**Le mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse protéique, synthèse des acides nucléiques (GAILLARD et al, 1995).

**Le spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) : Un antibiotique à spectre large agit sur la majorité des espèces bactériennes pathogènes précises. Certain à Gram+ et Gram-. Un antibiotique à spectre étroit a une action

## Chapitre 03 : Résistance des S. aux antibiotiques

---

limitée (antibiotique des bactéries Gram+) ou très limitée (antibiotique anti Staphylocoque) (DELARRAS, 2007).

**La nature chimique :** très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (Ex : cycle béta – lactame) sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse (GAILLARD et al, 1995).

- ❖ Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne
- ❖ Les -lactamines
- ❖ La fosfomycine
- ❖ Les Glycopeptides
- ❖ Destructeurs de la membrane cytoplasmique
- ❖ Les polymyxines
- ❖ Inhibiteurs du fonctionnement de l'ADN
- ❖ Les quinolones
- ❖ Les imidazolés
- ❖ Les sulfamides
- ❖ Le triméthoprim
- ❖ Inhibiteurs de la synthèse des protéines
- ❖ Les aminosides
- ❖ Les macrolides
- ❖ Les tétracyclines
- ❖ La rifampicine

### 3-2 : Mécanismes de résistance

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème majeur de santé publique. La connaissance des caractéristiques de résistance bactérienne, de son support génétique ; caractère naturel ou acquis, de son expression phénotypique ou ses divers mécanismes biochimiques permet de mieux comprendre l'épidémiologie des espèces résistantes.

#### 3-2-1 : Définition de la résistance bactérienne

Un microorganisme est considéré « résistant » vis-à-vis d'un antibiotique lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. Les bactéries sont dites multi- résistantes

## Chapitre 03 : Résistance des *S.* aux antibiotiques

---

lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistance naturelle et acquise, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotique. Elles sont alors résistantes à plusieurs antibiotiques ou classes pharmacologiques d'antibiotiques (CARLE, 2009).

### **Résistance naturelle ou intrinsèque :**

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie, la résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. La résistance intrinsèque est permanente, stable est transmissible à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (MANDELL et al, 2009).

### **Résistance acquise :**

Les bactéries, préalablement sensibles à un antibiotique, peuvent développer une résistance à cet antibiotique, ce qui implique des changements génétiques chromosomiques ou extra – chromosomiques. Elles ne concernent que quelques souches, d'une même espèce, normalement sensible à un antibiotique donné. La résistance acquise possède généralement un faible risque de transmission horizontale lorsque la résistance est la suite d'une mutation chromosomique. En revanche, la résistance acquise est considérée comme ayant un potentiel élevé pour la diffusion horizontale de résistance aux antibiotiques, lorsque les gènes de résistance sont présents sur des éléments génétiques mobiles (plasmides et transposons) (KHACHATOURIANS, 1998 ; commission Européenne, 2008).

### **3-2-2 : Profil de résistance**

Chez *S.aureus*, l'émergence de la résistance aux antibiotiques peut être considérée comme une série de vagues de résistances (Chambers, 2009).

### **Résistance à la Pénicilline G :**

La sécrétion de pénicillinases est présente chez 70 à 90 % des *S. aureus*. Lorsque le laboratoire de bactériologie signale une résistance à la pénicilline (sans résistance à l'oxacilline), celle-ci implique aussi une résistance à l'ampicilline, l'amoxicilline. En revanche, les pénicillines

## Chapitre 03 : Résistance des S. aux antibiotiques

---

associées à un inhibiteur de pénicillinase (acide clavulanique) ou les  $\beta$ -lactamines insensibles aux pénicillinases (céphalosporines, imipenem) restent actives. Fait important en pratique, les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftriaxone) sont dix fois moins actives que l'oxacilline sur le staphylocoque, ce qui rend leur utilisation illogique en dehors des cas d'infections mixtes. (Leclercq, 2002).

### **Résistance aux aminosides :**

Les staphylocoques sont normalement sensibles à tous les aminosides, les aminosides sont surtout utilisés en association avec les  $\beta$ -lactamines ou les glycopeptides avec lesquels, ils synergisent en bactéricidie (Bismuth, 2000).

L'aminoside le plus communément touché chez les SARM est L'amikacine car plus de 90 % d'entre eux expriment une résistance à la Kanamycine. Cet antibiotique devrait être a priori évité dans les infections à staphylocoques. D'autre part, gentamicine est moins touchée (chez environ 5-30 % des SARM). (Leclercq, 2002).

### **Résistance aux fluoroquinolones :**

Les résistances du staphylocoque aux fluoroquinolones sont liées à des mutations dans les cibles, impliquées dans la synthèse de l'ADN bactérien, d'autres mécanismes de résistance telle que l'effet de perméabilité, des pompes d'efflux et une diminution de la disponibilité des quinolones sur le site cible peuvent également être impliquée ; des gènes ont été détectés tels que des gènes QRDR des gènes *gyrA* et *gyrB*. La résistance est croisée entre diverses fluoroquinolones tel que (péfloxacin, Ofloxacin, ciprofloxacine, lévofloxacine) ( Rasha et al ,2013).

### **Résistances aux autres antibiotiques :**

L'Acide Fusidique est toujours actif. Il est utilisé qu'en association pour éviter la sélection de mutants résistants. Les glycopeptides ne sont pas des bons antibiotiques qui malgré leur activité sur les souches multirésistantes, présentent plusieurs défauts : CMI élevée (1 à 2 mg·L<sup>-1</sup>), vitesse de bactéricidie lente (48 heures), et faible diffusion intracellulaire et tissulaire (Bismuth, 2000).

### **Résistance à la Méthicilline :**

Le gène *mecA* codant une protéine liant la pénicilline additionnelle appelée PLP2a rend la bactérie résistante à la quasi-totalité de cette classe d'antibiotique, notamment à la méticilline

## Chapitre 03 : Résistance des S. aux antibiotiques

---

ou à l'oxacilline (Jorgensen, 1991). Un nouveau gène de résistance à la méticilline appelé mecC codant une nouvelle PLP (PLP2c) a été mis en évidence à partir de souches humaines et bovines de S. aureus. Les SARM porteurs du gène mecC possèdent un profil de résistance original, caractérisé par une faible expression de la résistance à l'oxacilline ( Skov 2014).

## Partie 02 : Matériels Et Méthodes



# Matériels Et Méthodes

---

## 1 : Cadre et objectifs de l'étude

Cette étude a été réalisée au niveau de l'abattoir de ZAHANA (unité d'abattage et de transformation avicole-groupe avicole de l'ouest), durant une période de trois mois, allant de 12 Mars jusqu'à la fin du mois de Juin. Elle a pour objectif d'étudier l'impact des effluents de l'abattoir et leur impact sur l'environnement à travers de l'isolement de bactérie de *s.auréus* et l'étude de leurs profils de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques.

## 2 : Description du lieu

L'unité d'abattage et de transformation de ZAHANA (U.A.T), située à la daïra de ZAHANA wilaya de MASCARA, appartenant à la société des abattoirs de l'ouest(S.A.O) –ORAN- Groupe Avicole de l'Ouest(G.A.O)-MOSTAGANEM, cette unité a été construite par l'intercool(DANEMARK), et a été mise en service en 1993.

La superficie totale de cette unité est 40 000 M<sup>2</sup>, la superficie de production est 3000M<sup>2</sup>, et la superficie de l'administration 395 M<sup>2</sup>. Cette unité occupe 90 personnes de travail. L'Activité principale de cette unité c'est l'abattage et la transformation du poulet, dont les principaux produits est : le poulet de chair prêt à la cuisson (PPC), la découpe, les produits élaborés (pâté de volaille-galantine-mortadelle-salami-saucisse sèche). La Capacité de production de cette unité est : Poulets abattus=3000 sujets/h.24000sujets/jour.74000T/an.Poulets transformés : 1T500/j. La Capacité de stockage est de 300Tonnes dans la chambre froide négative ,100Tonnes dans la chambre froide positive et 2x16Tonne /j dans le tunnel de congélation. Cette unité est alimentée en eau par un forage et avec un lieu de stockage (bâche à eau) d'une capacité de 420 M<sup>3</sup>

## 3 : Nature des prélèvements

Nos prélèvements ont été effectués au niveau de 4 segments de la chaîne de production du poulet de chair à savoir : le four de cuisson des sous-produits, la salle de réception du poulet vif, la salle d'abattage, et la salle d'éviscération.

Les échantillons des eaux de rejet sont recueillis dans des flacons en verre stériles, d'une capacité de 500 ml, étiquetées et numérotées.

Une fois prélevés, les échantillons sont placés dans une glacière à une température voisine de 4°C, puis acheminés au niveau du laboratoire (ISO 17604, 2003).

# Matériels Et Méthodes

---

## 4 : Les analyses bactériologiques

Les méthodes utilisées dans la recherche et l'identification des germes présents dans les eaux de rejets sont :

Des méthodes de routine décrites par Carl (2014).

### 4-1 : Isolement et purification

L'isolement est pratiqué sur le milieu Chapman, à partir du bouillon d'enrichissement BHI ; L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures. Après une lecture morphologique, les différentes colonies suspectées sont ré-isolées sur le milieu Chapman afin d'obtenir des cultures pures.

Une première orientation a été réalisée après vérification de l'absence de contamination par coloration de Gram et les tests de catalase et de l'oxydase.

### 4-2 : Identification

L'identification du genre est effectuée par l'aspect de colonies sur gélose et la fermentation du mannitol sur le milieu Chapman. Les Staphylocoques apparaissent ainsi comme des coques, à Gram + et catalase +.

L'identification des Staphylocoques fait recours à différents tests biochimiques (Carl, 2014).

## 5 : Le system API

Les colonies présumées ont été confirmées par la caractérisation biochimique utilisant le système API-20-Staph (BioMérieux, Marcy-France).

### 5-1 : Intérêt clinique

Les tests effectués en tube de 15 ou 20 ml ont été progressivement remplacés depuis de nombreuses années par des tests biochimiques miniaturisés en galerie. API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres Staphylococcus, comprenant une base de données (Bannerman et al, 2007).

### 5-2 : Principe

La galerie API Staph comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les substrats sont reconstitués par l'ajout d'une suspension bactérienne. Les réactions produites

## Matériels Et Méthodes

---

pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés donc ce sont des tests colorimétriques ou révélés par l'addition de réactifs (Bannerman et al, 2007).

### 5-3 : Méthode

L'organisme a été sous cultivé sur gélose nutritif à 37 °C pendant 18-24 heures.

Inoculer une colonie pure et bien isolée dans le milieu API Staph pour faire une suspension bactérienne homogène avec une turbidité équivalente à 0,5 McFarland et cette suspension a été utilisée immédiatement après la préparation (Markey et al, 2013).

### 5-4 : Résultat

L'Index analytique du profil (API ; BioMérieux) est le système le plus populaire pour le diagnostic bactériologie dans le monde. L'identification est obtenue par le numéro à 7 chiffres généré par la feuille de données de la bande profil de l' API- 20-Staph tester. La lecture du profil numérique est obtenue par la version du logiciel apiweb 4.1.

## 6 : Les facteurs de virulences

Les Staphylocoques produisent un grand nombre de facteurs de virulence (Carl, 2014).

### 6-1 : Le test à la coagulase

#### 6-1-1 : Intérêt clinique

Dans la clinique, les staphylocoques sont différenciés sur la production de la coagulase libre (Carl, 2014).

#### 6-1-2 : Principe

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

L'enzyme catalyse la formation de caillots de fibrine dans le plasma, en activant la prothrombine, qui convertit le fibrinogène en fibrine.

#### 6-1-3 : Mode opératoire

##### a) Préparation du plasma

\*Prélever 10 ml de solvant à l'aide d'une pipette stérile ;

## Matériels Et Méthodes

---

\*Ajouter stérilement ces 10 ml de solvant directement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé (Bio-Rad, France) ;

\*Agiter légèrement pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse.

### **b) Préparation de l'échantillon**

\*À partir d'une culture de la souche à étudier, réaliser une subculture en bouillon

Staphylocoagulase ou en bouillon nutritif. Incuber la culture 18 heures à 37°C ;

\*Mélanger dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma reconstitué et 0,5 ml de la culture. Incuber le mélange à 37°C pendant 24 heures ;

\*Réaliser un témoin bouillon-plasma, si l'on n'utilise pas le bouillon Staphylocoagulase. Selon les instructions de fabricant, certaines préparations de bouillon ordinaire, nonensemencées, mélangées au plasma de lapin, peuvent entraîner sa coagulation. Il est donc indispensable de le faire au préalable.

### **c) Résultats attendus**

Certaines souches de Staphylocoques provoquent la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 24 heures. La prise en masse du plasma est généralement totale, au point que le tube peut être retourné. Un caillot moins compact visible avant la 24<sup>ème</sup> heure doit être considéré comme positif. Le milieu doit être observé toutes les heures pendant les 4 premières heures. En effet certaines souches produisent de la fibrinolyse qui lyse les zones de coagulation. Au bout de 24 heures, cette réaction peut entraîner une fausse réaction négative.

## **7 : Le test de Dnase**

### **7-1 : Intérêt clinique**

L'identification des Staphylocoques pathogènes, par la recherche de la désoxyribonucléase (la Dnase) (Denis et al, 2011).

### **7-2 : Principe**

La Dnase est une enzyme qui hydrolyse l'ADN (Acide Désoxyribonucléique). La mise en évidence de la production d'une Dnase est effectuée sur une gélose contenant de l'ADN. L'organisme hydrolyse l'ADN et l'utilise comme source de carbone et d'énergie pour la croissance.

# Matériels Et Méthodes

---

## 7-3 : Mode opératoire

À partir d'une culture de la souche à étudier, réaliser une subculture en bouillon coeur-cervelle.  
Incuber la culture 18 heures à 37°C ;

\*Les bactéries sont ensemencées en utilisant un inoculum lourd et en réalisant une pique centrale ;

\*Incuber à 37 ° C pendant 18-24 h ;

\*Après incubation, l'hydrolyse de l'ADN est révélée en présence d'un colorant spécifique : le bleu de toluidine.

## 7-4 : Lecture

Si l'organisme qui se développe dans le milieu produit la Désoxyribonucléase, l'ADN serait dégradé, et le résultat est comme suit :

\*Zone claire autour de la strie : souche DNase (+) ;

\*Absence de zone claire autour de la strie donc souche DNase (-).

## 8 : Le test Staphylect Plus

### 8-1 : Intérêt Clinique

Le kit Staphylect Plus (Oxoid, Basingstoke, Royaume-Uni) est un test d'agglutination au latex sur carte, qui permet de différencier les *S.aureus* possédant le clumping factor, la protéine A et des polysaccharides capsulaires, des autres staphylocoques qui ne les possèdent pas (Soares et al, 2011).

\*La recherche du facteur d'affinité pour le fibrinogène (coagulase liée ou Clumping factor) : Ce test consiste en la mise en évidence du facteur d'affinité pour le fibrinogène présent à la surface des cellules ;

La recherche de la protéine A : cette protéine A peut être retrouvée chez *S. aureus*, mais aussi chez les souches de *S. hyicus* et de rares souches de *S. intermedius*. La protéine A est associée au peptidoglycane de 90 % des souches de *S. aureus* et à la propriété de fixer le fragment FC des immunoglobulines (Ig) de l'homme et du lapin.

# Matériels Et Méthodes

---

## 8-2 : Principe du test

Le test Staphytest Plus est constitué de particules de latex bleues, sensibilisées par du fibrinogène de porc et des IgG de lapin incluant des anticorps poly-clonaux spécifiques dirigés contre les polysaccharides capsulaires de *S. aureus*. Lorsqu'on mélange sur la carte le réactif avec les colonies de *S. aureus*, il apparaît une agglutination rapide due à la réaction entre le fibrinogène et le clumping factor, le fragment FC des immunoglobulines G et la protéine A, les IgG spécifiques et les polysaccharides capsulaires. L'agglutination peut aussi apparaître avec d'autres espèces possédant le clumping factor ou la protéine A telles que *S. hyicus* et *S. intermedius* (Leboffe et al, 2012).

## 8-3 : Matériel

\*Le réactif test (5,6 ml) : Particules de latex bleues sensibilisées par du fibrinogène de porc et des IgG de lapin contenant des anticorps poly-clonaux spécifiques dirigés contre les polysaccharides capsulaires de *S. aureus* ;

\*Le réactif de contrôle (5,6 ml) : Particules de latex bleues non sensibilisées ;

\*Les cartes de réaction : 35 cartes de réaction jetables sont fournies dans chaque kit.

## 8-4 : Méthode

\*Utiliser une culture jeune cultivée sur gélose nutritif pendant 18-36 heures d'incubation

\*Ramener le latex à température ambiante. S'assurer que le latex a été remis en suspension par agitation et expulser le latex du compte-goutte ;

\*Ajouter une goutte de latex dans le cercle de réaction prévu à cet effet, et une goutte de latex de contrôle dans l'autre cercle ;

\*Prélever 5 colonies de taille moyenne (équivalent 2-3 mm) et les émulsionner doucement avec le latex de contrôle. Procéder de la même façon avec le latex test ; Réaliser sur la carte un mouvement de rotation douce pendant 20 secondes environ et observer l'agglutination sous une lumière normale.

## 8-5 : Lecture et interprétation des résultats

### a) Résultat positif

Un résultat est considéré comme positif s'il y a agglutination des particules de latex bleues en moins de 20 secondes (présence probable de *S. aureus*).

# Matériels Et Méthodes

---

## **b) Résultat négatif**

Un résultat négatif est obtenu s'il n'apparaît aucune agglutination et que le latex demeure uniformément bleu dans le cercle test (absence probable de *S. aureus*).

## **c) Résultat ininterprétable**

Le test est ininterprétable si le réactif de contrôle montre une agglutination. Ceci indique que la culture provoque une auto agglutination.

## **9 : Tests de sensibilité aux antibiotiques**

### **9-1 : Méthode d'antibiogramme par diffusion (méthode des disques)**

#### **9-1-1 : Principe**

L'antibiogramme par diffusion en gélose consiste à déposer des disques imprégnés d'une concentration connue d'antibiotiques sur une géloseensemencée en nappe avec la bactérie à tester. Il repose sur le principe de la compétition entre la croissance d'une bactérie et la diffusion d'un antibiotique dans un milieu gélosé. L'antibiotique diffuse à partir du disque de papier selon un gradient de concentration décroissant. Après incubation, la culture délimite autour des disques des zones d'inhibition circulaires. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en millimètres à l'aide d'un pied à coulisses (Quentin-Noury, 2016).

#### **9-1-2 : But**

Selon (Caron, 2012) le but de la réalisation d'un antibiogramme est :

- 1) L'antibiogramme est un outil d'aide à la décision thérapeutique ; il aide à prévoir la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique ;
- 2) L'antibiogramme est un outil d'investigations épidémiologiques, c'est l'outil de typage bactérien le plus aisé en routine, souvent même le seul disponible. Le typage repose sur la comparaison des phénotypes de résistance, d'où le nom d'antibiot type.

Donc c'est un outil de surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et d'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles 3)

L'antibiogramme, est un outil d'aide à la politique antibiotique par ses résultats ; il collecte les données sur les bonnes pratiques d'utilisation des antibiotiques et pour cerner l'écologie globale ou particulière de populations.( Caron, F,2012)

# Matériels Et Méthodes

---

## 9-1-3 : Milieu

La gélose utilisée est une gélose Mueller-Hinton et son épaisseur doit être de 4 mm. La composition du milieu gélosé est importante car des modifications de composition peuvent avoir des conséquences sur le résultat des tests de sensibilité pour certains antibiotiques (CLSI, 2008).

## 9-1-4 : Technique

Les tests de sensibilité ont été réalisés par disque (Bio-Rad, France) et jugés conformément à l'Institut de Standards Cliniques et des Laboratoires (CLSI, 2008). *S. aureus* et les souches de Staphylocoques à coagulase négative, isolées à partir des échantillons de lait de mammite, ont été inspectées pour leur comportement de sensibilité contre divers agents antimicrobiens utilisés dans les pratiques de médecine vétérinaire et humaine. Les antibiotiques testés sont : la Pénicilline G (PG-10 UI), l'Amoxicilline + l'acide clavulanique (AMC- 20/10 µg), l'Oxacilline (OX- 1 µg), la Céfoxitine (Fox-30 µg), l'Erythromycine (E-15 µg), la Néomycine (N- 30 µg), Norfloxacin (NOR-5 µg), le Triméthoprim + sulfaméthoxazole (SXT- 1,25 / 23,75 µg), la Tétracycline (Te -30 µg), la Vancomycine (VA -30 µg), la Bacitracine (Ba-130 µg), la Clindamycine (Cm-2 µg) (CLSI 2008).

## 9-1-5 : Lecture

L'antibiogramme consiste à classer les bactéries dans l'une des trois catégories cliniques, sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R), vis-à-vis d'une série d'antibiotiques (Quentin-Noury, 2016).

\*Le résultat « R » (résistant) signifie que le risque d'échec thérapeutique est grand quel que soit le traitement ;

\*Le résultat « S » (sensible) signifie qu'il n'y a pas de mécanisme de résistance acquise exprimé in vitro. La probabilité de succès thérapeutique est forte ;

\*Le résultat « I » (intermédiaire) correspond à une zone d'incertitude qui ne peut pas prédire du succès ou de l'échec thérapeutique.

La procédure consiste à la :

1) Détermination du seuil de sensibilité de la bactérie vis-à-vis des antibiotiques étudiés ;

## Matériels Et Méthodes

---

2) Comparaison de ce seuil aux valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques, et catégorisation S, I ou R ;

3) Lecture interprétative, c'est-à-dire validation biologique et thérapeutique.

### **10-La méthode du Rouge Congo Agar :**

La gélose Rouge Congo est un milieu très convenable pour la détection de souches productrices de Slime. Sur ce milieu les souches exprimant le PIA (Polysaccharide Intercellular Adhésion) donnent des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatives.

- 1) Le milieu a été préparé avec 37 g/L BHIB, 50 g/L de saccharose, 10 g/L d'agar et 0,8 g/L du Rouge Congo, puis autoclavé à 121°C pendant 15 minutes (Nasr, et Al. 2012)
- 2) Le milieu estensemencé avec une anse d'une suspension de notre souche. La lecture a été faite après 24 heures à 37°C (Jain A, Agarwal A. 2009).
- 3) Les souches productrices de Slime donnaient des colonies noires à surface rugueuse contre des colonies rouges à surface lisse pour les souches non productrices. Les souches de phénotype variables donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge ou à centre rouge et à contour noir (Nasr, et Al. 2012)

# **Résultats Et Discussions**

# Résultats et Discussions

---

## 1. Résultats :

**1. Prélèvements :** Durant la période de cette étude, 04 sorties de prélèvement ont été effectués à savoir :

-salle de sous-produit (incinérateur) :(échantillon N°01)

-salle de réception du poulet vif : (échantillon N°02)

-salle d'abattage :(échantillon N°03)

-salle d'éviscération :(échantillon N°04)

Figure N°06



Figure N° 06 : les échantillons (UAT-ZAHANA)

(Photos personnel).

Sur les 04 prélèvements analysés, 02 se sont révélés positifs (développement bactérien), soit un taux de 50%, nous considérons comme négatifs, les prélèvements qui ne présentent aucun signe de culture au bouillon nutritif BHIB.

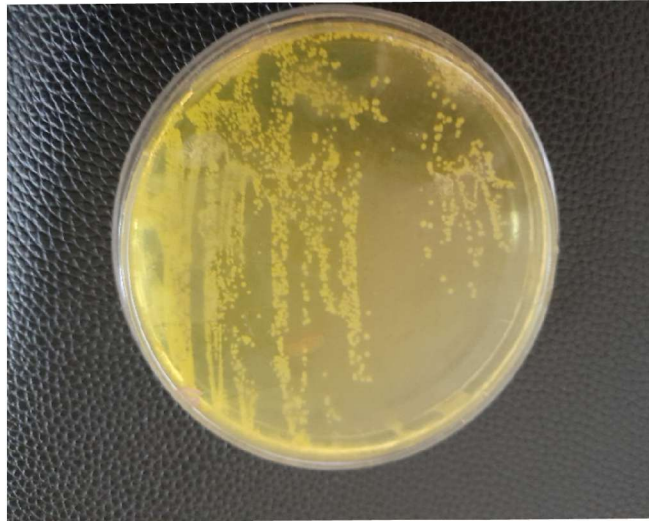
## 2-Identifications du genre Staphylococcus

Sur les quatre souches isolées à partir de 04 prélèvements, 02 répondent aux caractéristiques macroscopique et microscopique du genre Staphylococcus, soit un taux de 50 %.

Le développement bactérien sur le milieu Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (Entérocoques) peuvent y cultiver. Sur ce milieu, les colonies de staphylococcus apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleur blanche (figure 07)

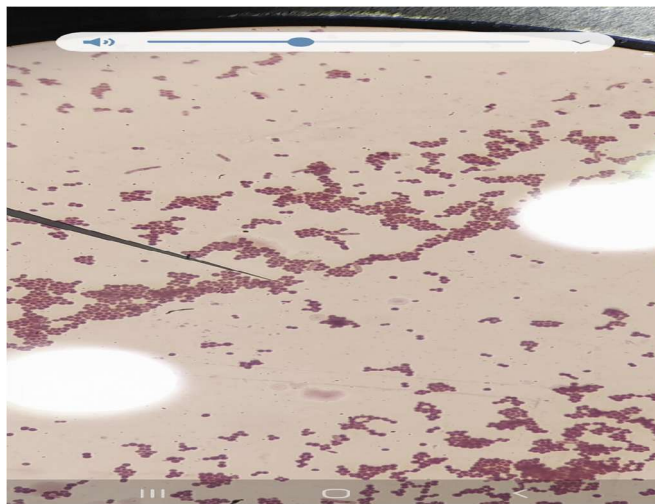
## Résultats et Discussions

---



**Figure N° 07 : Aspect macroscopique des colonies sur milieu Chapman (photo personnel).**

La coloration de Gram réalisée à partir du milieu de Chapman confirme la présence de cocci à Gram positif en diplocoque et en grappes de raisin (figure 08)



**Figure n° 08 : Coloration de gram (objectif x 100) (photos personnel)**

## Résultats et Discussions

---

### 3-Test de catalase

Toutes les cocci à Gram positif, testés pour la production d'une catalase, décomposent l'eau oxygénée, en eau et en oxygène qui se dégage. Ce qui traduit par le dégagement des bulles des gaz (effervescence) (figure 09).



**Figure N° 09 : Teste de catalase +**

Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction (MARCH et *al*, 1991).



### 4-Test de coagulase libre

Les deux souches des Staphylocoques isolées à partir des prélèvements effectués ont présenté un phénotype positif pour la production de coagulase.

Les résultats sont illustrés dans la (figure 10).



**Figure N°10 : Coagulase (+). (Photos personnel)**

## Résultats et Discussions

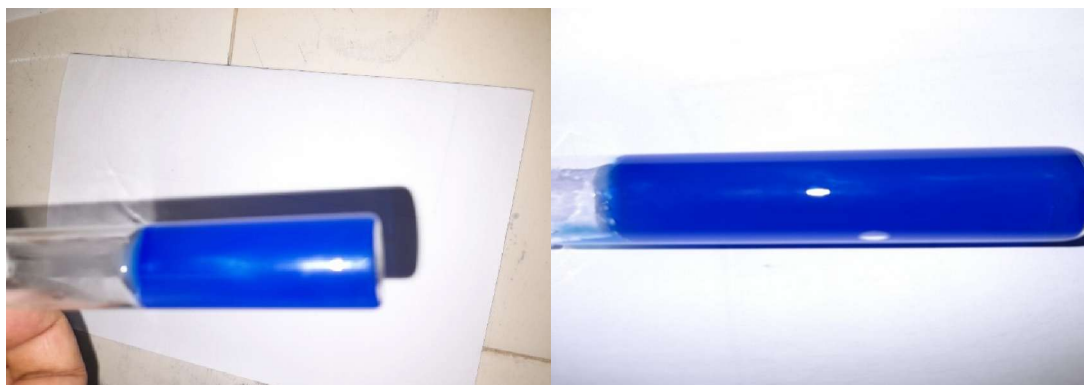
---

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 45°C,

La présence d'une coagulase est utilisée pour distinguer entre les staphylocoques à coagulase positive principalement *S. aureus*, ainsi *S. intermedius*, *S. hyicus* et les staphylocoques à coagulase négative (Hart and Shears, 1999).

### 5-Le teste de Dnase

Les deux souches de staphylocoques isolés révèlent une Dnase positive. Les microorganismes positifs à la Dnase, sont entourés de zones claires d'ADN dépolymérisé (Figure 11).



**Figure N°11 : Danse (+). (Photos personnel)**

La Dnase est un facteur de virulence de *S. aureus* (Sandel, M. K., et al, 2004). Elle est un critère important, utilisée pour identifier *S. aureus*, et est aussi importante que la coagulase dans la pathogénèse. Comme la coagulase, elle facilite la colonisation tissulaire, l'évasion immunitaire et la destruction des tissus.

Il a été rapporté que les Staphylocoques à coagulase négatives peuvent également avoir une activité de Dnase (Markey, et Al, 2013)

### 6-Identification des staphylocoques par l'Utilisation des API Staph

Les galeries API Staph miniaturisées reposant sur des tests enzymatiques (zymogramme) et des tests d'acidification ou d'utilisation des sucres (aux anogramme).

L'identification par ces galeries a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques de staphylococcus et a révélé deux différents biotypes.

6335751 = *S.xylosus*

2104143 = *S.hominis*

## Résultats et Discussions

---

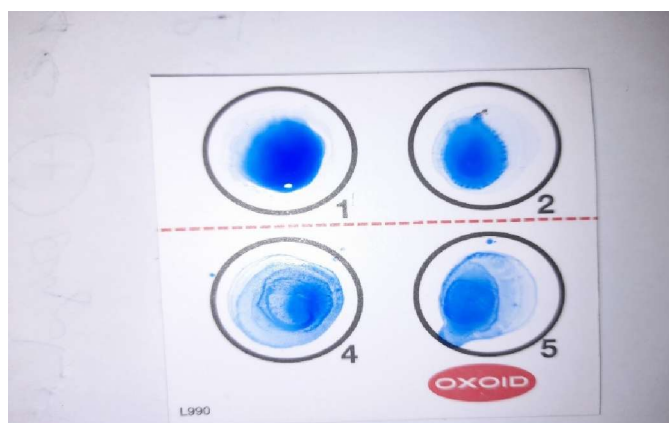


**Figure N° 12 : La galerie Staph API20E – (Photos personnel).**

### 7-Teste staphylect plus

L'une des caractéristiques qui distinguent les souches de Staphylocoques pathogènes des moins pathogènes est la capacité à produire de la coagulase libre et de la coagulase liée (Clumping factor)(Malinowski.,et al,2011)

Dans la présente étude, sur deux isolats de staphylocoques, deux (100%) se sont révélés être des souches productrices de coagulase libre.(Figure 13).



**Figure N°13 : Résultat de test staphylect (photo personnel).**

Les deux résultats sont positifs

## Résultats et Discussions

---

Un résultat positif considéré comme positif s'il y a agglutination des particules de latex bleus en moins de 20 secondes en présence probable de *S.aureus*. Néanmoins, d'autres espèces telles que *S. hyricus* et *S. intermedius* peuvent être coagulase positives (Amy L,et Kim L.,2001).

Plusieurs facteurs de virulence sont produits par *S. aureus*, y compris les protéines de coagulase ; ce qui est important dans la pathogénie la transformation du fibrinogène en fibrine, conduisant alors à la persistance de micro-organismes dans les tissus de l'hôte (Abdeen,et al.,2015) Au lieu de l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre les polysaccharides capsulaires, Staphylect-Plus travaille avec des anticorps polyclonaux de lapin contre ces structures de surface de *S. aureus*. La portion Fc de l'IgG de lapin est capable de détecter simultanément la paroi cellulaire liée à la protéine A. En outre le fibrinogène porcin est ajouté pour la détection de l'activité du clumping factor (Zschöck, et al. 2005)

### 8-Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylocoques

L'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire et humaine est considérée comme étant le facteur le plus important pour l'apparition et la diffusion des microorganismes résistants aux antibiotiques. Cette résistance n'inclue pas que les agents pathogènes, mais aussi la flore endogène des individus (animaux et humains) exposés à ce type de médicament

Dans la présente étude, les antibiotiques sont choisis pour l'antibiogramme en tenant compte des médicaments les plus fréquemment utilisés dans la médecine vétérinaire en Algérie. Pour cela, l'activité de 12 agents antibactériens est testée in vitro contre des souches de staphylocoques isolés à partir des effluents liquides d'abattoir (Figure 14).

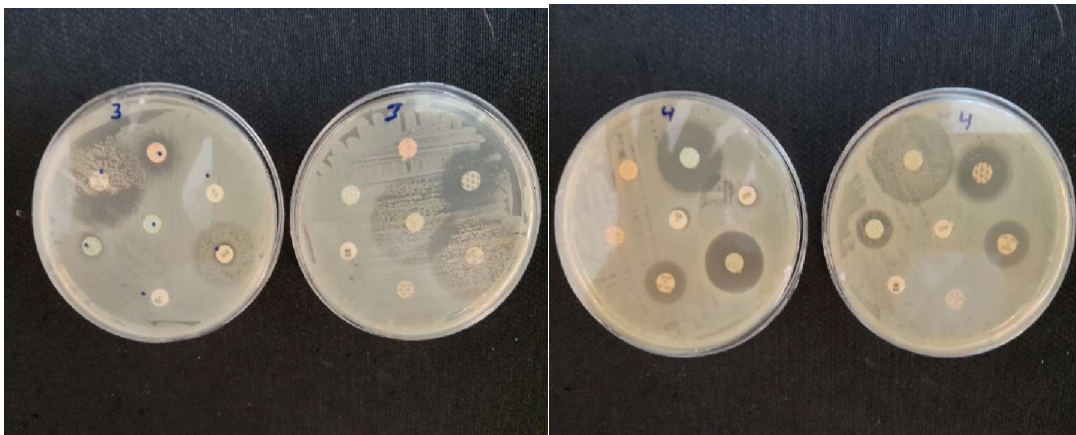


Figure N°14 : les résultats d'antibiogramme (photo personnel).

## Résultats et Discussions

---

D'après le Tableau 04, la résistance aux antibiotiques a été rencontrée dans 02 souches des staphylocoques isolées.

Les biotypes	Les souches résistantes	Nombre de souches résistantes par rapport au nombre d'antibiotiques <sup>9*</sup> -			
		1	2	3	4
6335751	1		*		
2104143	1		*		

**Tableau N°04 : la résistance multiple aux antibiotiques parmi les souches de staphylocoques isolées**

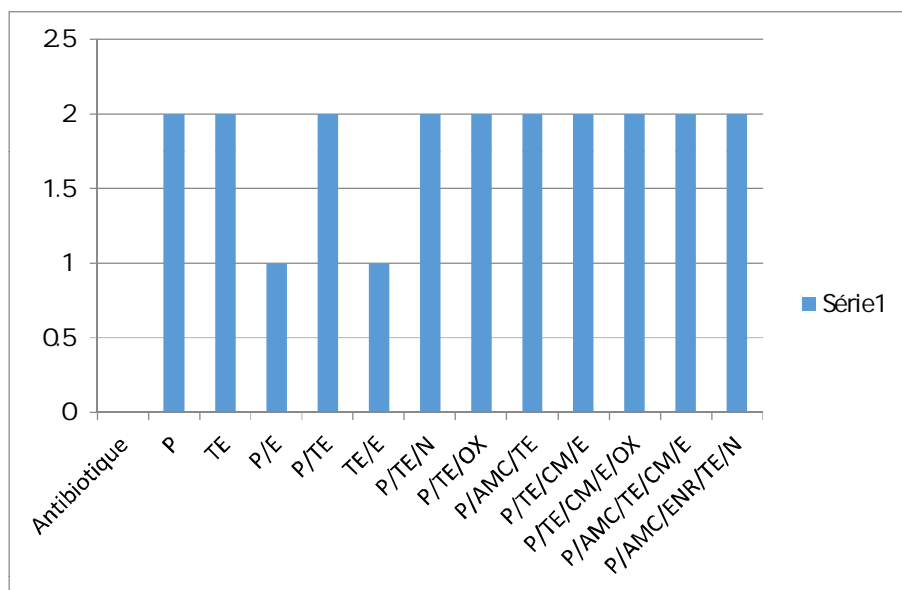
En littérature, la résistance multiple signifie : « la résistance à plus d'un agent antimicrobien », mais aucune définition normalisée pour la multirésistance n'a encore été convenue par la communauté médicale (Magiorakos, et al., 2012). -

## Résultats et Discussions

Antibiotiques testés	Code	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)			ECH 03	ECH 04
			R	I	S		
Pénicilline	PG	10UI	28	-	29	R	R
Amoxicilline+ Acide Clavulanique	AMC	20/10µg	19	-	20	R	S
Oxacilline S. aureus S.C.N	OX	1 µg	10 17	11-12	13 18	R	R
Céfoxitine**	FOX	30µg	21	-	22	R	S
Erythromycine	E	15µg	13	14-22	23	I	R
Néomycine	N	30µg	13	14-17	18	R	I
Enrofloxacin	ENR	5µg	16	17-22	23	I	R
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	SXT	1.25/23.75 µg	10	11-15	16	R	S
Tétracyclines	Te	30µg	14	15-18	19	R	R
Vancomycine**	Va	30µg	-	-	15	R	R
Bacitracine	B	130µg	<15	-	15	R	R
Clindamycine	Cm	2µg	<14	15-20	21	R	R

**Tableau N°05 : Antibiogramme**

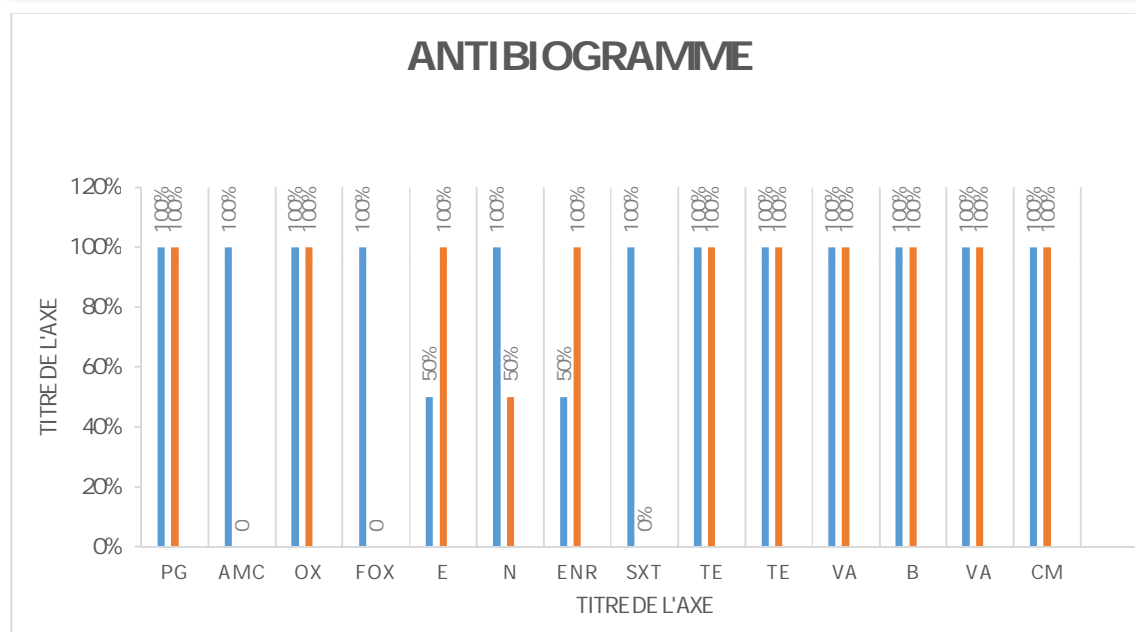
Cette étude a été menée dans le but d'étudier la résistance des souches Staphylococcus



**Figure N°15 : Profil de résistance aux antibiotiques d'isolats de staphylocoque**

Les souches isolées sont caractérisées par une forte résistance aux antibiotiques,

## Résultats et Discussions



**Figure N°16 : Antibiogrammes des staphylocoques isolés**

Cette étude a été menée dans le but d'étudier la résistance des souches Staphylocoques, isoler à partir de les effluents d'abattoir avicole, vis –à-vie aux 12 antibiotiques de différente familles.

A l'issue des tests de résistance de Staphylocoque aux antibiotiques, les résultats ont montré une fort résistance pour la majorité des antibiotiques, avec un taux de résistance de (100%), mis à part la néomycine avec un taux de (50%) pour l'échantillon N°04, et l'Erythromycine soit un taux de (50%) pour l'échantillon N°03.

La diffusion des SARM dans les abattoirs pose un problème de santé publique, nécessitant la détermination et la compréhension des caractères de résistances aux antibiotiques, qui représentent un des buts essentiels de la bactériologie médicale, pouvant faire évoluer les stratégies thérapeutiques (Aouati, H, 2009).

L'analyse globale de la résistance des SARM aux antibiotiques confirme la multi-résistance de ces germes qui sont connues par leur aptitude de résister à plusieurs autres familles d'antibiotiques (Mastouri M, et al, 2006).

### 9-Évaluation de la formation de biofilm par la méthode RCA

Plusieurs chercheurs ont étudié les stratégies employées par les micro-organismes pour produire des biofilms. Ils ont montré que les bactéries productrices de biofilm sécrètent certaines

## Résultats et Discussions

---

substances chimiques qui les protègent contre les désinfectants, les agents antimicrobiens et des systèmes immunitaires de l'hôte (Saitou K., et al, 2009) Les bactéries productrices de biofilms sont responsables de nombreuses infections qui sont difficiles à éradiquer. Ils présentent une résistance aux antibiotiques, par diverses méthodes telles qu'une pénétration limitée de l'antibiotique dans les biofilms (Afreenish H., et al, 2011)

Dans la présente étude, on a utilisé une méthode qualitative qui se base sur le caractère phénotypique des souches ensemencées sur milieu Rouge Congo. Les résultats obtenus nous ont permis de constater que les 02souches de Staphylocoques produisent un slime et montre un phénotype positif dans le milieu, par des colonies à centre noir et contour rouge (Figure17).



**Figure<sup>o</sup> 17 : Test biofilm (photo personnel).**

En utilisant de la gélose Rouge Congo, le colorant rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides bactériens formant un slime et donnent des colonies noires sur milieu CRA contrairement aux colonies non productrices. (Saitou K., et al. 2009).

Les microorganismes qui croissent dans un biofilm sont intrinsèquement plus résistants aux agents antimicrobiens que les cellules planctoniques (Amy L., et Kim L., (2001). Biofilms and Planktonic Cells of *Pseudomonas aeruginosa* Have Similar Resistance to Killing by Antimicrobial. *Journal of Bacteriology*. 183(23): 6746-6751.] ce qui confirme les résultats que nous avons obtenus vis à vis les antibiotiques testés. Des concentrations élevées d'agent antimicrobiens sont nécessaires pour inactiver ces derniers, comme la résistance aux antibiotiques qui peut augmenter de 1000 fois (Afreenish H., et al., 2011).

# Conclusion

Durant notre travail, nous avons étudié la résistance de 02 souches *staphyloque isolés* des effluents de l'abattoir avicole de ZAHANA (UAT.ZAHANA) wilaya de MASCARA ;

Ces souches présentent une Résistance très élevés vis-à-vis de 10 antibiotiques testés pour l'échantillon N°03 : **les Béta-lactamines** (Pénicilline, Amoxicilline+ Acide clavulanique, Oxacilline, Céfoxitine, Néomycine, Triméthoprim+ sulfaméthoxazole, tétracyclines, vancomycine), **Lincosamides** (Clindamycine) autre molécule (bacitracine), et 08 antibiotiques testés pour l'échantillon N°04 :

**Bétalactamines**(Pénicilline,Oxacilline),**lesMacrolides**(Erythromycine),**lesQuinolones**(Enrofl oxacine),**LesTétracyclines**(Tétracycline),**LesGlycopeptide**(vancomycine), **Les Lincosamides** (clindamycine) **Autre molécules** ( bacitracine).

Les résultats observés dans cette étude mettent en évidence la présence des souches de staphylocoques Résistantes aux antibiotiques dans l'abattoir avicole de ZAHANA, ce qui reflète l'évolution et l'émergence de la résistance aux antibiotiques. La résistance aux antibiotiques présente un véritable problème pour la santé animale et humaine, lorsque les traitements antibiotiques échouent, pour cela il faut le prendre au sérieux en faisant sensibiliser les partenaires de ce domaine à savoir les médecins, les vétérinaires, les éleveurs et toute la population concerné sur le bon usage des antibiotique et le risque observé lors d'un mauvais usage.

# Références Bibliographiques

## A

**Abdeen, E. E., Walid, M., Hussien, H., & Roshdy, S. 2015** . PCR for detection of virulence and antibiotic resistance genes of coagulase positive staphylococcus aureus from clinical mastitis in Egypt. International Journal of Basic and Applied Sciences, 4(3): 315.

**Admin. Milieux de culture microbio alimentaire [en ligne],**  
**<http://microbioalimentaire.dynamicforum.net/t1-a> consulté en novembre 2012**

**Afreenish H., Javaid U., Kaleem f., Omair M., Khalid A., Iqbal M. ( 2011)** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. Brazillian journal of Infection Diseases. 15 (4):1413-8670.

**Amy L. et Kim L. (2001).** Biofilms and Planktonic Cells of Pseudomonas aeruginosa Have Similar Resistance to Killing by Antimicrobial. Journal of Bacteriology. 183(23): 6746-6751. **ANONYME , (2007).** Technologie Post-Récolte, Troupeaux et Cultures des Tropiques, Agro-industrie :68-72.

**Asao, T, Kumeda, Y, Kawai, T, Shibata, T, Oda, H, Haruki, K, Nakazawa, H, Kozaki, S.**  
**An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. Epidemiol infect, 2003 ; 130 :33-40.**

**Aouati, H. (2009).** Isolement des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méthécillines: étude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques.

Département De Biochimie et De Microbiologie, algérie: thèse N°: 006.

## B

**Badrul H,(2013).** Antimicrobial Resistance and Production of Extended Spectrum Beta-Lactamases in Enterobacteriaceae from Birds in Bangladesh, Acta Universitatis Up saliensis ,

Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine :911.75 .

**Bannerman,T.L., & Peacock,S.J,2007.** Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase - positive cocci : Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press, 1: 390 -411.

**BOURGEOIS C. M. et MESCLE J. F. et ZUCCA J. (1988).** Microbiologie alimentaire. Ed. Technique et documentation-Lavoisier. Paris, p 65-74.

**Bywater, R. J, (2005).** Identification and surveillance of antimicrobial resistance dissemination in animal production,Poultry Science,84(4) : 644-648.

**BILGILI S.F, (1992).** Electrical Stunning of Broilers-Basic Concepts and Carcass Quality Implications :Review.J.App.Poult. Res. 1 :135-146

**Bismuth .R ,(2000)** Leclercq R. Staphylococcus aureus et antibiotiques, in Précis de Bactériologie clinique,Ed ESKA : 611-616.

**Boden, MK., Flock, JI. Fibrinogen-binding protein/clumping factor from Staphylococcus aureus, Infect Immun,1989; 57 (8), p2358-2363.**

## C

**Callon, C., Gilbert, FB., De Cremoux, R., Montel, MC. Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of S.aureus contamination from milk to cheese in goat cheese farms. Food Control. 2007; 19 :143-150.**

**Carl, A. B, 2014.**Staphylococcus in: encyclopedia of food microbiology, 3:482-501

**Caron, F. 2012.** L'antibiogramme: un quadruple outil pour le clinicien. Journal des Antiinfectieux,14(4): 168-174.

**CHACHATOURIANS ,G.G(1998)**Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria .can medic Assoc j1129-1136.

**Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol, 7: 629-41**

**Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2008.** Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved standard, 3rd ed , M31-A3; CLSI: Wayne, PA, USA.

**COLIN P, (1985).** Facteurs Liés à l'Abattage Influençant la Qualité des Carcasses ; in épuratoire, PhD Thesis.

**Collin County Community College District. Catalase Test [en ligne],** [http://iws2.collin.edu/dcain/CCCCD%20Micro/catalase\\_test.htm](http://iws2.collin.edu/dcain/CCCCD%20Micro/catalase_test.htm) consulté en novembre 2012.

**Collignon, P, Aarestrup, F. M., Irwin, R., & McEwen, S, (2013).** Human deaths and third-generation cephalosporin use in poultry, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 19(8) : 1339–1340.

**Couderec C, Jolivet S, Thiébaud ACM, Liger C, Remy L, Alvarez AS, Lawrence C, Salomon J, Herrman JL, Guillemot (ASAR) Study Group, (2014).** Fluroquinolone une is a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities: a nested case-case-control study. *Clin Infect Dis* 59:206-206.

## **D**

**DAOUDI A, RRENTZ J. C., MARTIN J et MEKHTICHE L, (2006).** Les produits carnés Halal : Charcuteries et Préparations Bouchères, Science et Technologie des Matières de Bouche. Ed., MAE-ERTI, France : 26-28. 153-241.

**Delarras, C. Microbiologie pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. 1er éd., Éditions Tec & Doc - EM Inter – Lavoisier, Paris, 2007, :476**

**Denis ,F, Ploy ,M.C, Martin, C, Bingen ,E, & Quentin ,R. 2011 .** Cocci à Gram positif dans in Bactériologie médicale: techniques usuelles. Editions Elsevier Masson, Paris : 287-299.

**Diallo, A.A, (2013).** Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale , prévalence et caractérisation avant et après traitement

**DIOPA, (1982).** Le Poulet de Chair au Sénégal : Production, Commercialisation et Perspectives de Développement. Th : Méd. Vêt. : Dakar.

**Dworkin, M, Falkow, S, Rosenberg, E, Schkeufer, KH, Stackebrandt, E. The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme éd. ; Springer, New-York, 2006 , Vol 4, Chap.1.2.1. The genera Staphylococcus and Micrococcus : 4-75.**

## E

**Edmiston Jr.CE, Seabrook, GR., Cambria, RA., Brown, KR., Lewis, BD., Sommers, JR., Krepel, CJ., Wilson, PJ., Sinski, S., Towne, JB. Molecular epidemiology of microbial contamination in the operating room environment: Is there a risk for infection? Surgery. 2005; 138 (4) :573-582.**

## F

**Flandrois J-P,(1997).** Bactériologie médicale. Presse Universitaire de Lyon.

**FRAYSSE J.L. et DARRE A, (1990).** Composition et Structure de Muscle, Evolution Postmortem,Qualité des viandes , *in* « Produire des Viandes sur quelles bases Economiques et Biologiques »,Volume 1,Lavoisier Paris :265.

## G

**GAILLARD L ,MARLIERLIER C,DUCREUZET C,ALLOUCH P,** les porteurs de *staphylococcus aureus* résistants à la méticilline. Intérêt de leur dépistage en soins de suite-réadaptation .REVgériatrie.2000 :25 :589-96.

## H

**Hill LR,(1981).** Taxonomy of the staphylococci, The staphylococci, Aberdeen University Press.

## I

**Ikeda, T, Tamate, N, Yamaguchi, K, Makino, S. Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. Appl Environ microbiol, 2005; 71 : 2793- 2795.**

**InVS. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives, Données de la déclaration obligatoire, 2010 :8.**

**Jain A, Agarwal A. 2009.** Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. Journal of Microbiology and Methods. 76: 88–92.].

## J

**JEANTEL R, CROGUENNEC T, SCHUCK P, et BRULE G, (2006).** Sciences des Aliments : Biochimie, Microbiologie, Procédés, Produits. Tec et Doc. Ed., Lavoisier, Paris : 275-286. 290.

**Jean Barrot** debreil E.F .(2008). Les analyses bactériologiques du lait des infections mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courante et leurs interet dans le traitemen des mammites. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (France) (Thèse) 71p.

**JOFFIN, GUY LEYRAL, (2009),** Microbiologie technique ,Dictionnaire des techniques,4 eme édition, ISBN : 978-7-2-86617-515-8.

**Joffin JN,(2001). Sutra, L., Federighi, M., Jouve, J.L.(1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Ed. Polytechnica(Paris), 308p.

## K

**Kawabata, S, Morita, T, Iwanaga, S, Igarashi, H. Staphylocoagulage-binding region in human prothrombin, J Biochem, 1985,97(1), :325-331**

**Kérouanton, A,Hennekinne J.A, Letertre C.,Petit L. Chesneau O, Brisabois A, De Buyser M.L. (2007).** Characterization of staphylococcus aureus strains associated with food poisoning outbreaks in France. International journal of food microbiology 115, 369-375.

## L

**LAHELLEC C, SALVAT G et C OLIN P (1996).** Viandes de volailles ,  
*in* : « Microbiologie Alimentaire : Aspect de la Qualité et de la Sécurité Alimentaire ». Technique et Documentation, 2eme éd., Lavoisier, Paris.

**Lamprell, H,(2003).**production des entérotoxines dans les fromages en fonction de la diversité phenotypique et génétiques des souches de staphylococcus aureus.thèse de Doctorat en sciences des aliments université de bourgogne( France ) : 79

**Leboffe, M. J., & Pierce, B. E, 2012.** A photographic atlas for the microbiology laboratory: Morton Publishing Company.

**Leclercq, R. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques Ann Fr Anesth Réanim ,2002 ; 21 : 375-83. 2002 Éditionsscientifiquesetmédicales Elsevier SAS.**

**Lepelletier D, Batard E, Berthelot P, Zahar JR, Lucet JC, Fournier S, Jarlier V, Grandbastien B, (2015).** Carbapenemase-producing enterobacteriae: epidemiology, strategies to control their spread and issues. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* :456- 25.

**List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. J.P. Euzéby: List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature – Genus, Staphylococcus [en ligne], <http://www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.html>, consulté en mai 2013**

**LUPO C, CHAUVIN C, BALAINE L, PETETIN I, PERASTE J.ET LE BOUQUIN S (2005).** Saisie Sanitaire lors de l'inspection des poulets de chair à l'abattoir : Etat des lieux dans le grand Ouest de la France en 2005 Afssa-Ploufragan, bp 53, 22440 ploufragan).

## **M**

**Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Harbarth,S., Hindler, J., Kahlmeter, G., & Olsson-Liljequist, B. 2012.** Multidrug-resistant, extensivelydrug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interimstandard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection*, 18(3): 268.

**MacKinnon MM,AllenKD,( 2000).**Long-term MRS carriage in hospital patients *J Hosp Infect* 46 :216-221.

**MATOUTY. P (1992).** Contribution à l'étude de la qualité bactériologique des viandes de volaille commercialisées à DAKAR,Thèse de doctorat.

**Malinowski, E., Lassa, H., Tomaszewska, J., &Małki ska-Horody ska, M. 2011**Phenotypical identification of atypical *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk ofcows from one herd. *Bull Vet InstPulawy*, 55: 211 -215.

**MANDELL,G.L.,BENNET,J.E.,DOLIN,R., MANDELL,D.P.,(2009).**principles and practice of infectious diseases.sixième édition,Elsevier ,churchill livingstone editeurs ,USA edition en ligne. <Http://www.ppdon-ligne.com>.

**Marco Silva, G. Staphylococcus aureus [en ligne], [http://7staphylococcus-aureus.blogspot.fr/2007/11/diagnostico-laboratorio\\_14.html](http://7staphylococcus-aureus.blogspot.fr/2007/11/diagnostico-laboratorio_14.html), consulté en novembre 2012.**

**Markey, B, Leonard, F, Archambault, M, Cullinane, A, & Maguire, D. 2013 .** *Clinical veterinary microbiology*: Elsevier Health Sciences:105-433.

**Mastouri M, Nour M, Ben Nejma M, Bouallegue O, Hammami M, Khedher M.**

(2006). Résistance aux antibiotiques de Staphylococcus aureus résistant à lamécilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. Pathologie Biologie 54: 33–36.

**Medstudenti.Mikrobiologija[enligne],<http://medstudenti.webs.com/mikrobiologija.htm>, consulté en novembre 2012.**

**Mee-Marquet N.V., Blanchard M., Domelier A.S., Quentin R,(2004).** Survey Study Group of the Relais d' Hygiène du Centre : Virulence and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus strains isolated from various origins. Pathologie Biologie; 52: 579–583.

**MICHEL F,(2005).** Bactériologie alimentaire, 2<sup>ème</sup> Ed. Economica, Paris : 45-47, 219.

**M. M. 2011.** Biodiversity and characterization of Staphylococcus species isolated from a small manufacturing dairy plant in Portugal. International journal of food microbiology, 146(2): 123-129.

## N

**Nasr S.A., AbuShady H. M., Hussein H.S. 2012.** Biofilm formation and presence of ica AD gene in clinical isolates of staphylococci. The Egyptian Journal of Medical Human Genetics 1110-8630.

## O

**OGAWARA,H.,( 1981).**Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalkactam antibiotics.Microbial.Rev.45(4),591 -619.

## P

**PASTAN A, LA POUGE A, (2011).** Les antibiotiques : structure, mode d'action, mécanismes de résistance. Bactériologie, WWW.roneos2010.totalh.com.

**Prescott L.M, Harley J.P, Klein D,(2010).** Microbiologie. 2<sup>ème</sup> Edition Française. De Boeck Université

## Q

**Quentin-Noury, C,2016.** Automatisation de l'antibiogramme au laboratoire de

bactériologie. Revue Francophone des Laboratoires, 2016(482): 49-59.

**Quizlet. MicroBio 225 (Lab Test 3) Selective and Differential Media, IMViC, BioChem Tests (with some bacterial samples [en ligne], [http://quizlet.com/4675318/microbio-225-lab-test-3-selective- and-differential-media-imvic-biochem-tests-with-some-bacterial-samples-flash-cards/](http://quizlet.com/4675318/microbio-225-lab-test-3-selective-and-differential-media-imvic-biochem-tests-with-some-bacterial-samples-flash-cards/) consulté en novembre 2012**

## **R**

**Rasha A. Hashem, Aymen S. Yassin, Hamdallah H. Zedan, Magdy A. Amin, (2013)** Fluoroquinolone resistant mechanisms in methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical isolates in Cairo, Egypt J Infect Dev Ctries 2013; 7(11):796-803.

**ROSSET R, LAMELOISE P, (1984)** Les viandes : Hygiène-technologie. Paris : S.N.V.I.M.A. : 292.

## **S**

**Shallercross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, Hayward AC. the role of the panton-valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease : a systematic review and meta analysis. Lancet Infect Dis, 2013 ;13 :43-54.**

**Saitou K., Furuhashi K., Kawakami Y., Fukuyama M. 2009.** Biofilm formation abilities and disinfectant resistance of Pseudomonas aeruginosa isolated from cockroaches captured in hospitals. Biocontrol Science. 14: 65-68.)

**Sandel, M. K., & McKillip, J. L. 2004.** Virulence and recovery of Staphylococcus aureus relevant to the food industry using improvements on traditional approaches. Food Control, 15(1): 5-10.].

**SILIKER J. H, (1980).** Microbial Ecology of foods. Food Commodities, vol. 2. Academic Press :997.

**Skov R, Larsen AR, Kearns A, Holmes M, Teale C, Edwards G, Hill R, (2014)** Phenotypic detection of mecC-MRSA: cefoxitin is more reliable than oxacillin. J Antimicrob Chemother;69 (1):133-5.

**Soares, J. C., Marques, M. R., Tavora, F. K., Pereira, J. O., Malcata, F. X., & Pintado,**

**Jorgensen J,(1991).** Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and methods for laboratory detection. *Infect Control Hosp Epidemiol*;12:14–219.

**Svanström Peter, (2014).** Pathogens and antibiotic resistant bacteria in abattoir waste and animals– a study involving abattoir wastewater, earthworms and Marabou storks. Sveriges lantbruks universitet. Swedish University of Agricultural Sciences. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science. Department of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health; 80 (35) :1652-8697.

## V

**Verdier, I, Lina, G., Gillet, Y, Vandenesch, F. Staphylococcus [en ligne],** <http://www.microbe-edu.org/etudiant/staph.html> consulté en novembre 2012.

## W

**Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, (2005).** The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*.5(12):751–62

## Y

**YVES R, (2009).** Cahier des charges label rouge- poulet blanc fermier-élevé en plein air entier et découpes, frais ou surgelé.  
important. *Pharmactuel* Vol, 42 Supplément 2 Décembre 2009, Le parrainage des antimicrobiens : vision 2010.

## Z

**Zschöck, M., Nessler, A., &Sudarwanto, I. 2005 .** Evaluation of six commercialidentification kits for the identification of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis.*Journal of applied microbiology*, 98(2): 450-455.