

Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite

BEN HASSEN S.1, MESSADI L.1, BEN HASSEN A.2

1 Laboratoire de Microbiologie, Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, Sidi Thabet, Tunisie

2 Services des laboratoires du Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Rue Djebel Lakhdar, Bab Saâdoun, 1006 Tunis, Tunisie

* Correspondance : BEN HASSEN Assia,
Tél/Fax : 00216 71 56 56 23
Email : bh.assia@planet.tn

RESUME : Cent huit souches de staphylocoques ont été isolées à partir de 73 prélèvements de lait de quartiers de vaches atteintes ou non de mammite de 3 exploitations différentes. Parmi ces souches 47 ont été isolées à partir de prélèvements de lait lors de consultations pour mammites à l'Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire (Sidi Thabet). L'identification des souches isolées par le système ID 32 Staph révèle la prédominance des staphylocoques coagulase négative (79,7 %) par rapport à l'espèce *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (17,5 %). Les principales espèces de staphylocoques coagulase négative isolées ont été : *S. chromogenes*, *S. epidermidis* avec des fréquences respectives de 19,5 %, 10,5 %. La production de l'exopolysaccharide, facteur de virulence, a été essentiellement observée chez les espèces : *S. epidermidis*, *S. xylosus* et *S. warneri*. L'analyse du profil génomique par l'électrophorèse en champs pulsé des espèces de *S. epidermidis*, *S. xylosus* et *S. warneri* isolées chacune au sein de la même exploitation montre leur origine non clonale. L'étude du profil de sensibilité des souches isolées fait ressortir la résistance élevée de *S. aureus* vis-à-vis de la pénicilline G. Les staphylocoques coagulase négative sont plus sensibles à la pénicilline G. Par contre, *S. haemolyticus* révèle des résistances à l'oxacilline, la gentamicine et l'érythromycine. Aucune résistance n'a été observée pour la rifampicine et la vancomycine.

INTRODUCTION

En Tunisie, la production laitière a connu une évolution spectaculaire durant la dernière décennie permettant au pays d'atteindre l'autosuffisance en la matière. Il reste de ce fait à assurer la qualité hygiénique du lait tributaire de l'état sanitaire de la glande mammaire. Les infections mammaires bovines représentent, en Tunisie, 20 % des pathologies rencontrées chez la vache laitière (Aouadi, 1991). Cette étude porte sur l'agent infectieux le plus souvent isolé de mammites à savoir le genre *Staphylococcus* et en particulier aux staphylocoques coagulase négative (SCN). Ces espèces sont de plus en plus responsables de mammites subcliniques et cliniques, en partie du fait de la production d'une substance polysaccharidique ou slime, considéré comme un facteur de virulence responsable d'adhésion aux cellules de l'hôte.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL

Septante trois prélèvements de quartiers de vaches atteintes ou non de mammites, provenant de 3 exploitations de type intensif du nord du pays (ExpI, ExpII et ExpIII), ont été collectés sur une période de 4 mois (février-juin 2001). Soixante et un souches de staphylocoques ont été isolées à partir de ces prélèvements. Quarante sept souches isolées de lait de vaches atteintes de mammites cliniques ou subcliniques ont été fournies par le service de Microbiologie de l'Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet (ENMV). Par ailleurs, trois souches de *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), *S. warneri* et *S. xylosus* d'origine humaine ont été utilisées pour la comparaison génomique avec des souches des mêmes espèces d'ori-

gine animale. La souche *S. aureus* ATCC 29723 a été utilisée comme référence pour le contrôle de qualité interne.

Une enquête épidémiologique a été réalisée, pour les 3 exploitations, par le biais d'une fiche de renseignement relative au type d'élevage, à la conduite et à l'hygiène de la traite.

METHODES

Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués au niveau de la mamelle en lactation, juste avant la 2^e traite (après-midi). Le lait est collecté dans un flacon stérile après une désinfection des trayons par l'alcool à 70°, un lavage et l'élimination des premiers jets. Au cours du prélèvement, le flacon est maintenu aussi horizontalement que possible de l'extrémité du trayon. Les

échantillons de lait sont immédiatement placés à une température de +4°C pendant 18 heures au maximum.

Examen direct

Septante trois échantillons, acheminés le jour même au laboratoire, ont fait l'objet d'un examen direct sur cellule de Malassez pour la détermination de la numération cellulaire exprimée en éléments blancs/ml (EB/ml). Cet examen permet de corréler la présence de bactéries dans l'échantillon à une infection mammaire (> 10⁶ EB/ml) ou à une simple colonisation (< 10⁴ EB/ml).

Isolement et identification

La culture a été réalisée sur gélose cœur-cerveau additionnée de 5% de sang de cheval et sur milieu de Chapman (Difco). L'identification du genre *Staphylococcus* a été effectuée par les méthodes conventionnelles (coloration de Gram, recherche de la catalase, mise en évidence de la DNase et de la coagulase libre), celle de l'espèce par la galerie ID 32 Staph (BioMérieux).

Recherche de la production de l'exopolysaccharide (slime)

La recherche de la production de l'exopolysaccharide ou slime a été réalisée par la méthode à la safranine à 1% sur plaques de microtitration. La lecture de la densité optique des biofilms adhérents a été déterminée par le lecteur ELISA à 495 nm (El Solh, 1998). L'interprétation en positif ou négatif a été réalisée selon la détermination de la DO à 495nm. Un test est considéré positif si sa DO est > moyenne des DO des blancs + 3 déviations standard (DS). La moyenne des blancs a été de 0,1772 et la DS de 0,0678, soit moyenne + 3 DS = 0,3782.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou antibiogramme selon la technique d'écouvillonnage de Kirby Bauer du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (SOUSSY *et al.*, 2002). Le milieu utilisé a été la gélose Muller Hinton (MH)

(Sanofi Diagnostics Pasteur) et l'inoculum a été préparé selon les recommandations du CA-SFM.

Les disques d'antibiotiques testés sont les suivants : pénicilline G (10 UI), oxacilline (5 µg), streptomycine (30 µg), gentamicine (30 µg), erythromycine (15 UI), clindamycine (2 UI), pristinamycine (15 µg), lincomycine (15 µg), tétracycline (30 UI), chloramphénicol (30 µg), rifampicine (30 µg), triméthoprime-sulfamides (1,25/23,75 µg), vancomycine (30 µg), teicoplanine (30 µg), acide fusidique (10 µg), ofloxacine (5 µg), fosfomicine (50 µg).

La lecture des diamètres d'inhibition, après 24h d'incubation, a permis l'interprétation en catégorie S (sensible), I (intermédiaire), R (résistant) selon les recommandations du CA-SFM 2002. La catégorie I a été incluse dans celle R.

La détermination de la concentration minimale inhibitrice a été réalisée pour les souches de sensibilité diminuée à la teicoplanine par la méthode E-Test (AB-Biodisks) étant donné la mauvaise diffusion de cet antibiotique en milieu gélosé (Bismuth *et al.*, 2000).

Typage génomique par électrophorèse en champ pulsé

Le typage génomique par électrophorèse en champ pulsé (ECP) a été effectué pour l'espèce prédominante productrice de l'exopolysaccharide isolée de chacune des exploitations (*S. epidermidis*, *S. warneri* et *S. xylosus*) dans le but de déterminer une certaine clonalité des souches circulantes dans une même exploitation.

Cette ECP a été réalisée après restriction enzymatique de l'ADN génomique par SmaI (Amersham Pharmacia Biotech) sur appareil CHEF DRIII (BioRad) dans les conditions suivantes : temps de pulse initial 1 seconde, temps de pulse final 40 secondes, temps de migration 18 heures, courant 6V/cm², angle de déviation 120°, température 12°C.

Le DNA-PFGE (Amersham Pharmacia Biotech) a été utilisé comme marqueur de taille. L'analyse comparative des profils génomiques a été effectuée par le logiciel UVItech. Nous avons, de plus, comparé ces souches à des souches d'origine humaine pour rechercher une éventuelle spécificité animale.

RESULTATS

Enquête épidémiologique

Elle a surtout porté sur la conduite et l'hygiène de la traite facteurs étroitement liés à l'installation d'infections mammaires. Dans l'exploitation I, les conditions d'hygiène sont mauvaises à savoir une instabilité du vide de la machine à traire, un système d'évacuation défectueux et une eau de lavage de mauvaise qualité. Pour les 3 exploitations, nous avons constaté un lavage de tout le pis, non suivi d'essuyage. L'élimination des premiers jets et le traitement au tarissement sont des pratiques irrégulières. Le trempage des trayons par une solution antiseptique, l'alcool iodée, à la fin de la traite n'est appliquée que dans l'exploitation III.

Corrélation entre numération cellulaire et culture (tableau I)

Trente sept prélèvements sont à cytologie < 10⁴ EB/ml et 26 prélèvements sont à cytologie > 10⁶ EB/ml. Sur les 37 prélèvements à cytologie faible, 86,5% sont à culture positive, dont 46% positive à un seul staphylocoque, 37,8% à plusieurs staphylocoques et 2,7% sont positives à autres germes. Pour les prélèvements à cytologie élevée, 53,9% sont à culture négative, 23% à culture positive à un staphylocoque et 15% à autres germes.

Répartition des espèces de *Staphylococcus* selon l'exploitation (tableau II)

Quarante deux souches ont été isolées de l'exploitation I, 13 de l'exploitation II et 6 de l'exploitation III. Pour l'exploitation I, les espèces prédominantes sont *S. chromogenes* (17), *S. epidermidis* et *S. warneri* (5 souches chacune). Dans l'exploitation II, nous constatons la prédominance des espèces *S. warneri* et *S. xylosus* respectivement 5 et 4 souches.

Les 6 souches de l'exploitation III appartiennent à 5 espèces différentes dont *S. xylosus* isolé 2 fois.

La production de l'exopolysaccharide (slime) (figure 1)

La production de l'exopolysaccharide a été essentiellement observée chez les souches de SCN. Les espèces les

Tableau I : Répartition des prélèvements de quartiers en fonction des résultats de la numération cellulaire et de l'analyse bactériologique

Culture	Numération (Eléments Blancs/ml) :			
	<10 ⁴ (%)	>10 ⁶ (%)	ND*	Total (%)
Culture positive :				
- 1 <i>Staphylococcus</i>	17 (46)	6 (23)	5	28 (38,3)
- > 1 <i>Staphylococcus</i>	14 (37,8)	2 (7,7)	0	16 (21,9)
- Autres germes	1 (2,7)	4 (15,4)	1	6 (8,2)
Culture négative	5 (13,5)	14 (53,9)	4	23 (31,5)
Total	37 (50,6)	26 (35,6)	10 (13,6)	73

*ND : non déterminé

Tableau II : Répartition des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de mamelle en fonction de l'exploitation

Espèce	Exploitation I	Exploitation II	Exploitation III	Souches ENMV*
<i>S. chromogenes</i>	17	1	0	5
<i>S. epidermidis</i>	6	0	0	4
<i>S. warneri</i>	6	5	1	0
<i>S. haemolyticus</i>	3	1	1	5
<i>S. capitis</i>	3	0	0	0
<i>S. xylosus</i>	2	4	2	0
<i>S. hominis</i>	1	0	1	2
<i>S. aureus</i>	1	0	0	21
<i>S. intermedius</i>	1	0	0	2
<i>S. lentus</i>	1	0	0	0
<i>S. cohnii</i>	1	0	0	0
<i>S. simulans</i>	0	1	1	8
Total	42	13	6	47

*ENMV : Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet

Tableau III- Fréquences de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* et des staphylocoques coagulase négative (SCN)

Antibiotique	% <i>S. aureus</i>	% SCN [espèce la plus résistante]
Pénicilline G	64	22,6 [<i>S. haemolyticus</i>]
Oxacilline	4	1,7 [<i>S. haemolyticus</i>]
Streptomycine	20	16,5 [<i>S. hominis</i>]
Gentamicine	0	2,6 [<i>S. haemolyticus</i>]
Chloramphénicol	8	4,3 [<i>S. epidermidis</i>]
Tétracycline	36	20,8 [<i>S. epidermidis</i>]
Erythromycine	0	16,5 [<i>S. haemolyticus</i>]
Pristinamycine	0	0
Rifampicine	0	0
Sulfamide-triméthoprime	0	2,6 [<i>S. haemolyticus</i>]
Acide fusidique	4	6,9 [<i>S. xylosus</i>]
Ofloxacine	0	0,7 [<i>S. lentus</i>]
Vancomycine	0	0
Teicoplanine	0	5,2 [<i>S. hominis</i>]

plus productrices de ce facteur de virulence ont été : *S. epidermidis* (26,5 %) suivi de *S. xylosus* (20,6 %), *S. warneri* (20,6 %) et *S. simulans* (8,8 %). La production de l'exopolysaccharide a été faible parmi les souches de *S. aureus* avec une fréquence de l'ordre de 2,7 % seulement.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques (tableau III)

La résistance à la pénicilline G touche 64 % des souches de *S. aureus*, celle à l'oxacilline seulement 4 %. Les fréquences de résistance à la streptomycine et à la tétracycline sont respectivement 20 % et 36 %.

Les SCN sont plus sensibles à la pénicilline G que *S. aureus* avec une fréquence de résistance de 22,6 %. Le pourcentage de résistance à l'oxacilline est de 1,7 %. Il s'agit de 2 souches de *S. haemolyticus*.

Le pourcentage de résistance des SCN à la streptomycine était de 16,5 %, 2,6 % de résistance à la gentamicine et 16,5 % à l'érythromycine.

Aucune résistance n'a été observée pour les glycopeptides pour *Staphylococcus aureus* alors que 5,2 % des souches de SCN ont été de sensibilité diminuée à la teicoplanine confirmée par la CMI. Parmi les autres antibiotiques, nous avons retrouvé une résistance élevée à la tétracycline 20,8 %. Pour la rifampicine, l'ofloxacine, l'association sulfamides-triméthoprime et l'acide fusidique, les fréquences de résistance sont nulles ou < 10 % pour *S. aureus* et les SCN.

Résultats des CMI vis à vis de la teicoplanine (figure 2)

Seules les souches, présentant un diamètre d'inhibition < 17 mm pour la teicoplanine sur l'antibiogramme, ont fait l'objet d'une CMI par la méthode E-test (18 souches). Parmi ces souches, 2 présentent une sensibilité diminuée à la teicoplanine (CMI de 8 mg/l), 4 souches un haut niveau de résistance respectivement 16, 32 et > 256 mg/l. les 12 autres souches ont une CMI < 4 mg/l et ont donc été classées dans la catégorie sensible.

Résultats de l'électrophorèse en champ pulsé (figures 3 et 4)

Une identification génomique comparative par ECP a été effectuée pour les

Tableau IV : Marqueurs épidémiologiques des souches comparées par électrophorèse en champ pulsé

Souche (N°)	N° exploitation	Antibiotype	Production d'exopolysaccharide
<i>S. warneri</i> (42a)	II	sensible	+
<i>S. warneri</i> (43)	II	sensible	+
<i>S. warneri</i> (44a)	II	sensible	+
<i>S. epidermidis</i> (53)	I	Peni R	+
<i>S. epidermidis</i> (68b)	I	Tétra R	+
<i>S. xylosus</i> (93)	III	Fus R	+
<i>S. xylosus</i> (94)	III	Peni R + Fus R	+

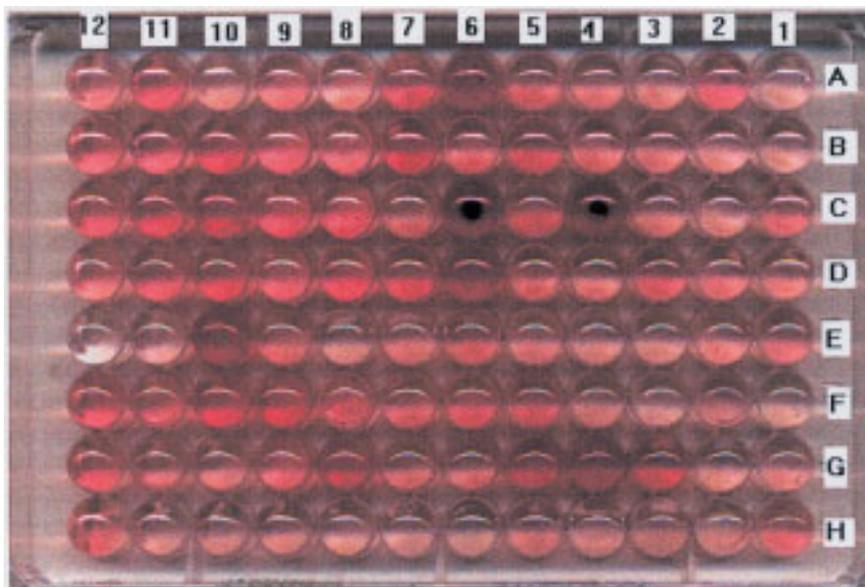


Fig. 1 : Résultat de la recherche de la production de l'exopolysaccharide de surface par la méthode à la safranine. Exemples de souches slime positif sur la plaque

Cupule N° A6 : *Staphylococcus warneri* (Densité optique 1,87)
 Cupule N° C4 : *Staphylococcus warneri* (Densité optique >3)
 Cupule N° D6 : *Staphylococcus xylosus* (Densité optique 0,887)

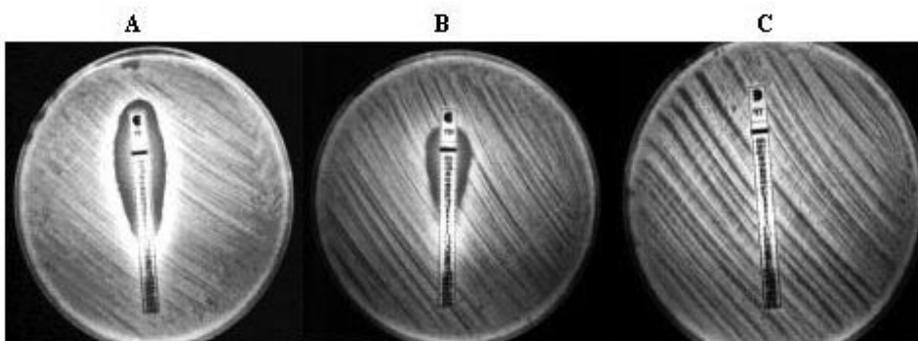


Fig. 2 : Détermination de la CMI teicoplanine par méthode E-test

A : *S. chromogenes* 25b, sensible à la teicoplanine (CMI 2 mg/l),
 B : *S. warneri* 34a, sensibilité diminuée à la teicoplanine (CMI 8 mg/l),
 C : *S. hominis* 18, résistant à la teicoplanine (CMI > 256 mg/l).

souches représentées dans le tableau IV. Les souches reliées à une mammitte subclinique sont 42a, 53, 68b, 93 et 94. Les souches 43 et 44a ont été isolées à partir d'infections latentes. Des souches humaines isolées d'hémoculture : *S. warneri*, *S. epidermidis* et *S. xylosus* ont été utilisées pour une comparaison entre les souches animales et humaines.

Chacune de ces souches a présenté un profil génomique propre (figure 3). L'analyse numérique des différentes bandes obtenues selon leurs poids moléculaire montre que le pourcentage de similitude le plus grand était de 40% (2 souches de *S. warneri* de l'exploitation II : 42a, 44a). Les souches humaines sont différentes des souches animales avec 0% d'homologie pour *S. epidermidis* et *S. xylosus* et de 10 à 30% pour *S. warneri* (figure 4).

Discussion et conclusion

Le nombre élevé de SCN isolé dans l'exploitation I (41 souches) serait dû aux mauvaises conditions d'hygiène de la traite. Par ailleurs, un nombre plus faible de SCN a été retrouvé dans l'exploitation III, qui, elle, pratique la désinfection des trayons après la traite. Plusieurs travaux montrent que l'application d'une désinfection des trayons après la traite contribue à la diminution de la prévalence des SCN (Todhunter *et al.*, 1993).

Les résultats relatifs à la numération cellulaire montre que 53,9% des prélèvements à cytologie >10⁶ EB/ml sont à culture négative. Longo et collaborateurs (1994) rapportent que 53,3% des numérations élevées ne

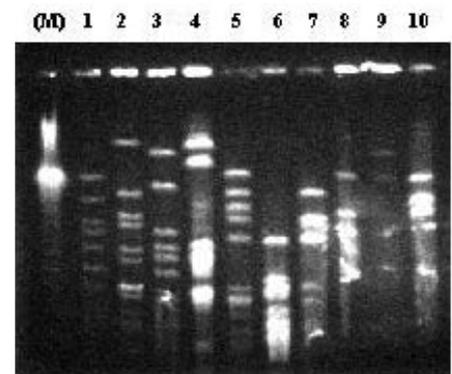


Fig. 3 : Résultats de l'électrophorèse en champ pulsé

M : marqueur de taille; 1, 2 et 3 : *S. warneri*,
 4 : *S. warneri* humaine, 5 et 6 : *S. epidermidis*,
 7 : *S. epidermidis* humaine, 8 et 9 : *S. xylosus*,
 10 : *S. xylosus* humaine

sont pas toujours associées à l'isolement d'un germe. Ils attribuent ce résultat à la période de lactation, à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait, ou à la présence de germes tels les mycoplasmes ou les mycobactéries nécessitant des milieux de culture spécifiques.

86,5 % des prélèvements à cytologie < 10⁴ EB/ml sont à culture positive. Il pourrait s'agir soit de germes de colonisation, soit d'infections latentes comme définit par Poutrel (1992). Les exploitations I et II, qui ne pratiquent pas de désinfection des trayons, sont les plus concernées par ces prélèvements à interprétation délicate.

Les résultats bactériologiques de notre étude placent les SCN comme les agents étiologiques staphylococciques les plus fréquemment rencontrés dans les mammites cliniques, subcliniques et latentes (numération cellulaire > 10⁴ EB/ml sans signes cliniques). Ces germes ont longtemps été considérés comme des agents peu pathogènes, d'ailleurs désignés par pathogènes mineurs, rarement responsables de mammites cliniques et subcliniques (Fabrè *et al.*, 1991). Smith et Hogan (1995) ont montré que les SCN font partie de la flore extérieure normale de la mamelle isolée au niveau de la peau de trayon, du canal du trayon de même qu'au niveau d'échantillons de lait prélevés aseptiquement.

Cependant, les recherches effectuées au cours des 10 dernières années font apparaître l'importance des SCN en tant que germes pathogènes, responsables de plus en plus de mammites

cliniques et subcliniques (BES *et al.*, 2000).

Les résultats de notre étude montrent que les SCN sont reliés à 60 % des cas de mammites cliniques, 62,8 % des cas de mammites subcliniques et 97,5 % des cas d'infections latentes. D'après une enquête bactériologique tunisienne réalisée sur les mammites cliniques, les SCN étaient responsables de 21,4 % des cas de mammites cliniques (Arfaoui, 2001).

Pyörälä (1995) montre que les SCN sont responsables de plus de 3 % des cas de mammites subcliniques et 20 % de cas de mammites cliniques. Dans une étude plus récente, les SCN sont les plus fréquemment isolées avec un pourcentage de 41 % contre 29 % pour *S. aureus* (Fabrè *et al.*, 1997).

Nos résultats se rapprochent de ceux de Fabrè puisque la fréquence des SCN est nettement plus élevée que celle de *S. aureus* isolé à raison de 3,3 % des cas d'infections latentes et de 40 % des cas de mammites cliniques.

La répartition des espèces de SCN est variable en fonction des études. Cette variation pourrait être attribuée à l'utilisation de différents systèmes d'identification.

Au cours de notre étude, *S. simulans* est en tête des mammites cliniques, comme retrouvé par Bigerson (1992). Alors que Watts et Owens (1987), révèlent la prédominance des espèces *S. epidermidis* et *S. hyicus*.

Pour les mammites subcliniques, nous retrouvons en premier, *S. epidermidis*. Il en est de même pour Bigerson (1992), alors que Jarp

(1991) n'a pas isolé du tout de *S. epidermidis*. Dans notre étude et dans celle de Bigerson (1992), *S. chromogenes* prédomine dans les infections latentes.

Nos résultats montrent une variation de la production du facteur de virulence en fonction de l'espèce. *S. epidermidis*, *S. warneri* et *S. xylosus* sont les espèces les plus productrices de slime. La fréquence élevée parmi ces 3 espèces n'est pas le fait de souches répétitives puisque leurs pulsotypes se sont révélés différents. Une étude réalisée par Watts et collaborateurs (1990) montre également que l'espèce la plus productrice de l'exopolysaccharide (slime) est *S. epidermidis* avec une fréquence de 42,9 %. Ce caractère fréquemment décrit chez *S. epidermidis* serait à l'origine d'une adhésion et d'une agrégation des staphylocoques aussi bien sur les cellules de l'hôte que sur les corps étrangers. Cet exopolysaccharide de surface des staphylocoques, serait un obstacle aux mécanismes de défense naturels de l'hôte. De plus, il empêche la diffusion des antibiotiques *in vivo*, d'où la notion de facteur de virulence.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a fait ressortir des fréquences de résistance élevées chez *S. aureus* notamment pour la pénicilline, où nous retrouvons une nette augmentation par rapport à une étude réalisée en 1991 par Messadi, 64 % contre 18,6 % ; pour la tétracycline, 36 % contre 23,9 %. Pour la streptomycine, une fréquence plus faible a été observée, 20 % contre 47,2 %. Par contre les fréquences de résistance à l'oxacilline, la gentamicine et l'érythromycine sont plus faibles qu'en 1991.

Les SCN sont plus sensibles que *S. aureus* vis-à-vis de la pénicilline, l'oxacilline et la streptomycine. Une moindre activité a été retrouvée pour la gentamicine, l'érythromycine et la teicoplanine, parmi les espèces *S. haemolyticus* et *S. hominis* mais dont les fréquences de résistance n'atteignent pas celles des souches d'origine humaine (Vandenesch, 1995).

Le résultat de l'ECP confirme l'origine non clonale de nos souches puisque le pourcentage d'homologie est nettement inférieur 80 %.

Il ressort de notre étude les principaux points suivants :

- ◆ La fréquence d'isolement importante de SCN dans le lait avec

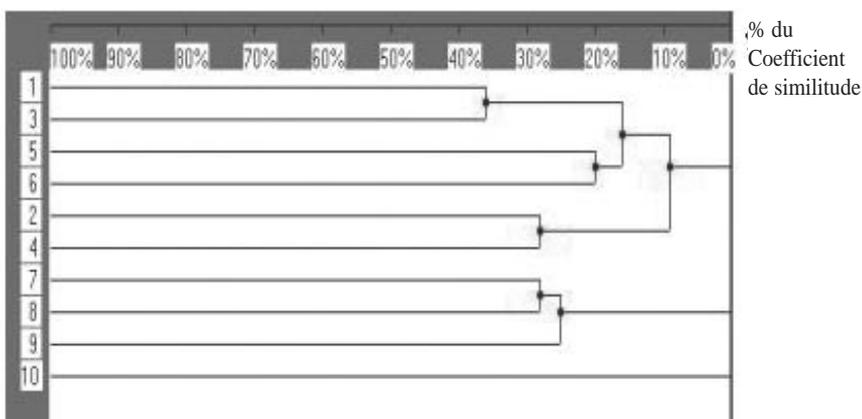


Fig. 4 : Dendrogramme des souches *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. xylosus*,

- 1 : *S. warneri* 42a (exploitation II), 2 : *S. warneri* 43 (exploitation II), 3 : *S. warneri* 44a (exploitation II), 4 : *S. warneri* 2379 (humaine), 5 : *S. epidermidis* 53 (exploitation I), 6 : *S. epidermidis* 68b (exploitation I), 7 : *S. epidermidis* 832 (humaine), 8 : *S. xylosus* 93 (exploitation III), 9 : *S. xylosus* 94 (exploitation III), 10 : *S. xylosus* 748 (humaine).

comme principales espèces *S. chromogenes*, *S. epidermidis*, *S. warneri* et *S. simulans* ;

- ◆ Une spécificité d'espèce en fonction du type clinique de mammite ;
- ◆ La production de l'exopolysaccharide de surface ou slime rencontrée essentiellement chez *S. epidermidis* ;
- ◆ Une nette hétérogénéité des souches circulantes dans une même exploitation ;
- ◆ Des fréquences de résistance élevées vis à vis de la pénicilline G, la tétracycline et la streptomycine, antibiotiques largement utilisés en médecine vétérinaire. Ces fréquences sont cependant nettement plus faibles que celles des souches d'origine humaine. Aussi les staphylocoques isolés de lait associés ou non à une mammite ne contribueraient pas à la dissémination des résistances observées en pathologie humaine.

ABSTRACT

Identification and characterisation of Staphylococcus species isolated from cow milk associated or not with mastitis

One hundred and eight strains of staphylococci are isolated from 73 samples of milk quarters associated or not with mastitis from three farmers. Forty seven strains of them are isolated from milk quarter received in the course of diagnostic of mastitis at the School of Veterinary Medicine. The identification of the different strains, by the ID system 32 Staph, shows the predominance of the coagulase negative staphylococci (79.7 %) with regard to *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (17.5 %). The main isolated coagulase negative staphylococci are *S. chro-*

mogenes (19.5 %) and *S. epidermidis* (10.5 %). The factor of virulence of the coagulase negative staphylococci, exopolysaccharid, is essentially produced by the following species : *S. epidermidis*, *S. xylosus* and *S. warneri*. The genomic analysis of strains of *S. warneri*, *S. epidermidis*, and *S. xylosus* shows their unclonal origin. The sensibility's profil of all strains of staphylococci reveals the high resistance of *S. aureus* to penicillin G. Coagulase negative staphylococci are more sensitive to penicillin G. However, *S. haemolyticus* presents resistances to the oxacillin, the gentamicin and erythromycine. No resistance for rifampicin and vancomycin was observed both on strains of *S. aureus* and coagulase negative staphylococci.

BIBLIOGRAPHIE

- AOUADI A. Contribution à l'étude des paramètres zootecniques dans les grands élevages bovins du gouvernorat de Béja. (Thèse de Doctorat Vétérinaire) Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet : Tunis, 1991, 100.
- ARFAOUI W. Enquête bactériologique sur les mammites cliniques à *Staphylococcus aureus* chez la vache laitière. (Thèse de Doctorat Vétérinaire) Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet : Tunis, 2001, 108 p.
- BES M., GUERIN-FAUBLEE V., MEUGNIER H., ETIENNE J., FRENEY J. Improvement of the identification of staphylococci isolated from bovine mammary infections using molecular methods. *Vet. Microbiol.*, 2000, **71** :287-294.
- BIGERSON A., JONSSON P., HOLMBERG O. Species identification and some characteristics of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine udders. *Vet. Microbiol.*, 1992, **31** : 181-189.
- BISMUTH R., LECLERCQ R. *Staphylococcus* et antibiotiques. In : Freney J., Renaud F., Hansen W., Bollet CL. (eds), Précis de Bactériologie Clinique. Editions Alexandre Lacassagne : Paris, 2000, 611-618.
- EL SOLH N. Staphylocoques. In : Eyquem A., Alouf J., Montagnier L. (eds), Traité de Microbiologie Clinique. Piccin Nuova Libreria : Italie, 1998, 567-591.
- FABRE J.M., BERTHELOT X., LEBRET P., BLANC M.F., BLANC M.C. Estimation de la fréquence des différents germes responsables d'infections mammaires en élevage bovin laitier dans le sud-ouest de la France. *Rev. Méd. Vét.*, 1991, **142**, 823-829.
- FABRE J.M., MORVAN H., LEBREUX B., HOUFFSCHMITT P., BERTHELOT X. Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France. *Bull. Group. Techn. Vet.*, 1997, 5-B-573, 9-15.
- JARP J. Classification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis. *Vet. Microbiol.*, 1991, **27**, 151-158.
- LONGO F., BEGUIN J.C., CONSALVI P.J., DELTOR J.C. Quelques données épidémiologiques sur les mammites subcliniques de la vache laitière. *Rev. Méd. Vét.*, 1994, **145**, 43-47.
- MESSADI L., BEN MILED L., HADDAD N. Mammites bovines en Tunisie : bactéries responsables et antibiorésistance. *Rev. Méd. Vét.*, 1991, **142**, 313-319.
- POUTREL B. Les staphylocoques et streptocoques de mammite. In : Hermier J., Lenoir J., Webe F. (eds), Groupes microbiens d'intérêt laitier. Lavoisier : Paris, 1992, 415-440.

- PYÖRÄLÄ S. Staphylococcal and streptococcal mastitis.
In : Sandholm. M, Honkanen-Busalski .T., Kaartinem.
I., Pyörälä. M. (eds), The bovine udder and mastitis.
Edition Helsinki, 143-148.
- SMITH K.L., HOGAN J.S. Epidemiology of mastitis.
Proceedings of the 3rd International Mastitis Seminar,
Tel Aviv, Israel, 1995, S6 , 3-12.
- SOUSSY J.C. Comité de l'antibiogramme de la Société
française de Microbiologie. Communiqué, 2002. 47p.
- TODHUNTER D.A., CANTWELL L.L., SMITH K.L.,
HOBLET K.H., HOGAN J.S. Characteristics of coagu-
lase-negative staphylococci isolated from bovine intra-
mammary infections. *Vet. Microbiol.*, 1993, **34** , 373-
380.
- VANDENESCH F., ETIENNE J. Les staphylocoques à
coagulase négative : identification et répartition actuelles
des différentes espèces en pathologie. *Lett. Infect.*, 1995,
10 , 379-384.
- WATTS J.L., OWENS W.E. Synergistic hemolysis associa-
ted with coagulase-negative staphylococci isolated from
bovine mammary glands. *J. Clin. Microbiol.*, 1987, **25** ,
2037-2039.
- WATTS J.L., NAIDU A.S., WADSTROM T. Collagen bin-
ding, elastase production, and slime production associa-
ted with coagulase-negative staphylococci isolated from
bovine intramammary infections. *J. Clin. Microbiol.*,
1990, **28** , 580-583.