

Coques Gram (+) Cat (+) Genre Staphylococcus

A- Généralités

Caractères du genre :

- 1µm de diamètre, réguliers
- Isolés, par 2 ou groupés en amas caractéristiques ("grappes de raisin")
- Non exigeants
- Aéro-anaérobies facultatifs -> mise en évidence sur milieu VF
- Résistants à 75 g/L de NaCl -> mise en évidence sur milieu Chapman

Conditions de multiplication :

- Température optimale 37°C (limites 12-45°C)
- pH optimal 7,5 (limites 5,6-9)

Vitalité du germe :

- Sensible à la chaleur (tué en 1 h à 60°C), aux antiseptiques (cristal violet).
- Résistant au vieillissement des cultures, à la dessiccation, au froid.
- Résistant à de nombreuses substances inhibitrices :
 - > fortes concentrations en NaCl, de 75 à 150‰
 - > tellurite de potassium
 - > certains antibiotiques

Biotopes :

Les staphylocoques sont des germes ubiquitaires, ils vivent aussi bien en saprophytes dans le sol, l'eau ou l'air, qu'en commensaux de la peau ou des muqueuses de l'homme ou des animaux.

Principales espèces et pouvoir pathogène :

Il existe actuellement 31 espèces ou sous-espèces. La plupart des Staphylococcus sont habituellement saprophytes, pouvant éventuellement jouer le rôle de pathogène opportuniste :

- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Staphylococcus schleiferi*
- *Staphylococcus haemolyticus...*

On distingue cependant une espèce à fort potentiel pathogène : *Staphylococcus aureus* (=espèce type), responsable de suppurations diverses (furoncles, phlegmons, panaris), de manifestations systémiques (ostéomyélites, septicémies), et de manifestations digestives lors d'intoxications alimentaires.

B- Caractères de l'espèce Staphylococcus aureus

• Sécrétion de substances conférant un potentiel pathogène

1) les toxines

= substance élaborée par un organisme, possédant à la fois des propriétés toxiques et des propriétés antigéniques.

• Staphylolysines = hémolysines élaborées par Staphylococcus; la plus toxique est l'α hémolysine, ou α toxine.

L'α toxine est une exotoxine protéique à fort pouvoir nécrotique; elle provoque l'apparition d'antistaphylolysine qui la neutralise; elle peut être transformée en anatoxine utilisable comme vaccin.

- > Pouvoir hémolytique des Staphylococcus sur gélose Columbia au sang
- > Renforcement de l'hémolyse des Streptocoques B dans le test de Camp.

- La leucocidine, qui agit sur les polynucléaires de l'homme et du lapin. Elle est très antigénique et peut être transformée en anatoxine.
- L'exfoliatine, exotoxine protéique agissant de façon spécifique sur l'épiderme (liaisons cutanées bulleuses).
- Les entérotoxines, exotoxines protéiques, thermostables et résistantes aux sucs digestifs. Elles sont sécrétées uniquement par certaines souches susceptibles de contaminer des aliments (charcuterie, crème glacée ...). Elles sont antigéniques mais non transformables en anatoxine.
Elles sont responsables :
 - d'intoxications alimentaires, consécutives à l'ingestion d'aliments contaminés;
 - d'entérocrites aiguës, consécutives à un traitement antibiotique prolongé qui sélectionne, au sein de la flore intestinale, une souche de *Staphylococcus* résistante, productrice d'entérotoxine.

2) Les enzymes

Elles ne sont pas toxiques, mais participent au pouvoir pathogène par leur influence sur les tissus infectés.

- La coagulase libre ou staphylocoagulase, exoenzyme sécrétée dans le milieu environnant pendant la phase de croissance du germe. Elle est responsable de la formation de caillots, en catalysant la réaction de transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble, délimitant ainsi un foyer infectieux où les germes sont à l'abri de la phagocytose.
-> Diagnostic de *Staphylococcus aureus* lors de la mise en évidence de la coagulase libre par coagulation de plasma de lapin oxalaté.
- La désoxyribonucléase (DNAse) thermostable ou thermonucléase
Elle détruit l'ADN des noyaux cellulaires, entraînant des lésions tissulaires.
-> Diagnostic de *Staphylococcus aureus* lors de la mise en évidence de la DNAse thermostable à partir d'un bouillon cœur-cerveau de 24 h chauffé et de gélose à l'ADN et au bleu de toluidine.
- La fibrinolysine ou staphylokinase, elle digère la fibrine, provoquant la dislocation du caillot et la dissémination des germes.
- La hyaluronidase, responsable de l'hydrolyse de l'acide hyaluronique, substance de la matrice extra-cellulaire, qui devient alors perméable aux germes.

* Autres caractères importants pour l'identification de *Staphylococcus aureus*

- Le récepteur du fibrinogène ou coagulase liée ou dumping factor, que possèdent 98% des souches de *Staphylococcus aureus*.
-> Diagnostic de *Staphylococcus aureus* lors de la mise en évidence du KF à partir d'agglutination sur lame d'hématies sensibilisées (porteuses de fibrinogène) = staphyslide test.
- La protéine A, antigène retrouvé chez 90% des souches de *Staphylococcus aureus*. Cette protéine est capable de se fixer sur le fragment Fc des immunoglobulines d'homme ou de lapin.
-> Diagnostic de *Staphylococcus aureus* lors de la mise en évidence de la protéine A à partir d'agglutination sur lame d'hématies sensibilisées (porteuses d'immunoglobulines) = aurea kit.

Remarque : ces 2 derniers caractères ne sont significatifs que s'ils sont positifs ; un staphyslide test ou un aurea kit négatif peut correspondre à un *Staphylococcus aureus* RF(-) ou protéine A(-).

C- Diagnostic différentiel des Staphylococcus

Caractères	St. aureus	St. epidermidis	St. saprophyticus	St. haemolyticus	St. xylosus
Coagulase libre	+	-	-	-	-
liée	+	-	-	-	-
Thermonucléase	+	-	-	-	-
Protéine A	+	-	-	-	-
Novobiocine	S	S	R	S	R
Production d'acétoïne (VP)	+	+/-	+/-	+/-	+/-
Réduction des nitrates	+	+	-	+	+
Mannitol	+	-	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+

Schéma d'identification d'un Staphylocoque à partir d'une galerie classique

Milieus	Tests
Gélose nutritive	- Vérification du Gram, de la catalase - Vérification de pureté si le milieu est en boîte - Recherche de protéine A et/ou RF
Gélose VF régénérée ou MEVAG staphylocoque ou CTA au rouge de phénol + glucose	- Étude du type respiratoire - Étude de la voie d'attaque du glucose
Milieu de Chapman	- Étude de la culture en présence de 75g/L de NaCl - Étude de l'attaque du mannitol
Bouillon cœur-cervelle ou bouillon nutritif	- Réalisation de l'état frais pour observer le mode de groupement, la mobilité - Recherche de la coagulase libre et/ou de la thermonucléase

Schéma d'identification des staphylocoques

