

## Recherche du genre Staphylococcus

### A- Conduite d'une identification de Staphylococcus en microbiologie médicale

- Nature des prélèvements susceptibles de comporter des Staphylococcus : pus, sérosités, (selles, urine, sang ...)

J1: A partir du prélèvement, réaliser :

-> un examen microscopique : si présence de coques ronds (1µm), Gram(+), groupés en amas  
=> *possibilité de staphylocoques*

-> des isolements sur milieu enrichi (gélose au sang ou gélose Trypcase-Soja) et sur milieu sélectif (gélose de Chapman) - incubé à 37°C.

J2: Identification des colonies isolées :

-> refaire un Gram

-> rechercher la catalase

=> *si coque Gram(+), catalase (+), suspicion de Staphylococcus*

-> effectuer alors un test rapide pour l'identification de Staphylococcus aureus, par la mise en évidence soit du récepteur du fibrinogène (staphylside test), soit de la protéine A (aurea kit).

=> *si le test est positif, conclure à Staphylococcus aureus*

-> sinon poursuivre l'étude en ensemençant une galerie comprenant :

- un isolement sur Trypcase-Soja (aspect des colonies, pigments, catalase)

- un tube VF (confirmation du genre par étude du type respiratoire)

- un milieu de Chapman (confirmation du genre par résistance à NaCl 75‰ et étude de la fermentation du mannitol)

- un bouillon spécial, staphylocoagulase ou cœur-cervelle, pour la recherche de la coagulase libre sur plasma de lapin.

J3: Lecture des différents ensemencements et test de la coagulase libre

=> *si le germe ne possède pas de coagulase, il ne s'agit pas de Staphylococcus aureus, l'identification précise de l'espèce nécessite alors une étude des caractères biochimiques de la souche, ie ensemencement d'une galerie API 20 STAPH*

Remarque : le plus souvent, on ensemence la galerie API 20 STAPH en même temps que le reste de la macro-galerie, ceci permet de gagner 1 jour.

### B- Conduite d'une recherche de Staphylococcus en microbiologie alimentaire

En microbiologie alimentaire, on s'intéresse exclusivement à la mise en évidence de *Staphylococcus aureus*, seul à produire une entérotoxine protéique cause d'intoxications alimentaires.

Le but est d'obtenir un dénombrement de ces souches, l'interprétation se fait en fonction de normes.

J1: Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* est réalisé sur milieu sélectif (milieu de Baird-Parker) à partir du produit pur et de plusieurs de ses dilutions.

J2: Pour les boîtes comprenant entre 15 et 150 colonies, les colonies suspectes sont comptées, et 10 de ces colonies sont repiquées dans un bouillon cœur-cervelle pour vérifier le caractère "coagulase libre".

J3: Test de la coagulase libre sur les différents bouillons. On obtient ainsi le % de colonies véritablement *Staphylococcus aureus* parmi les colonies suspectes. Il faut tenir compte de ce pourcentage pour calculer la concentration en *Staphylococcus aureus* du produit brut.

Remarque : pour certains produits comme le lait, on réalise à J1, en parallèle de l'ensemencement sur Baird-Parker, des enrichissements en bouillon Chapman.

Les bouillons présentant une culture à J2 sont repiqués sur Baird-Parker et traités comme précédemment.

Cette pratique permet de déceler de très faibles concentrations de bactéries, mais ne permet pas de rendre de résultats réellement chiffrés, seules les mentions "moins de 1 bactérie par ..." ou "au moins 1 bactérie par..." sont acceptées.