

# Staphylococcus (famille des Staphylococcaceae)

[ [morphologie - classification](#) | [habitat](#) | [pouvoir pathogène](#) | [isolement](#) | [identification](#) | [traitement et antibiogramme](#) | [prophylaxie](#) | [compléments](#) ]

mardi 23 mai 2006

## 1. MORPHOLOGIE CLASSIFICATION

Les coques Gram + catalase + le plus souvent rencontrés au laboratoire sont distingués en deux genres principaux par le type respiratoire : *Staphylococcus* et *Micrococcus*.

Les *Staphylococcus* sont des **coques Gram + possédant une catalase**, oxydase - avec les réactifs habituels, toujours immobiles.

Le GC % est de 30 à 39 %.

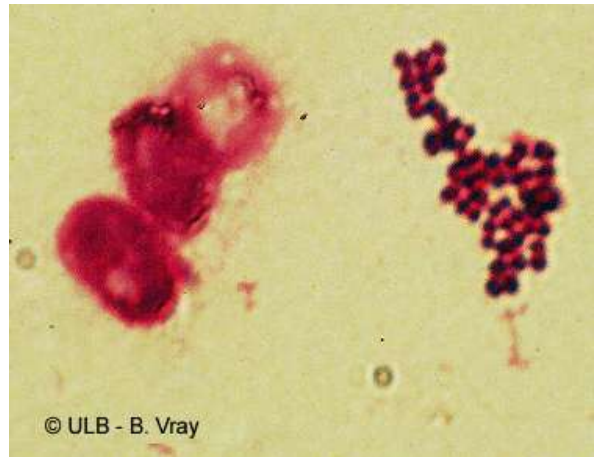
Les ***Staphylococcus*** sont occasionnellement pathogènes, souvent en amas au Gram.

Ils peuvent être capsulés.

Au contraire, les ***Micrococcus*** sont souvent de gros coques, en tétrades. On prendra garde toutefois à la nature du milieu : s'il est hypersalé les coques sont souvent plus gros. Ces ***Micrococcus***, ainsi que d'autres bactéries possédant les mêmes caractères, généralement aérobies strictes contrairement aux *Staphylococcus* aéro-anaérobies ont un GC% élevé de 68 à 74 %. Ils sont aujourd'hui classés dans une famille des ***Micrococaceae* redéfinie**. Seul le genre *Planococcus* reste apparenté aux *Staphylococcus*. Les *Staphylococcus* sont proches des *Enterococcus*, *Bacillus* et *Listeria*...

Il existe un *S. aureus* anaérobie stricte.

La classification de bergeys situe les *Staphylococcaceae*.



© ULB - B. Vray

phylum XIII : Firmicutes	Class I : Clostridia	Ordre I : Clostridiales	famille des Clostridiaceae
			famille des Peptostreptococcaceae
			famille des Eubacteriaceae
			famille des Peptococcaceae
			famille des Acidominococcaceae
	Class II : Mollicutes	Ordre I : Mycoplasmatales	famille des Mycoplasmataceae
		Ordre V : Incerta sedi	famille des Erysipelotrichaceae (genre Erysipelothrix)
	Class III : Bacilli	Ordre I : Bacillales	famille I des Bacillaceae (genres Bacillus, Amphibacillus, Virgibacillus...)
			famille II des Planococcaceae
			famille IV des Listeriaceae (genre Listeria et Brochothrix)
			famille V des Staphylococcaceae (genres Staphylococcus, Gemella...)
			famille VII des Paenibacillaceae
		Ordre II : Lactobacillales	famille I des Lactobacillaceae (genres Lactobacillus, Pediococcus...)
			famille II des Aerococcaceae
			famille IV des Enterococcaceae (genres Enterococcus...)
famille V des Leuconostocaceae			
famille VI des Streptococcaceae (genres Streptococcus, Lactococcus)			

## 2. HABITAT

Les coques Gram + catalase + sont des parasites des muqueuses et de la peau. On les trouve aussi dans la flore intestinale.

*S. aureus* possède de grandes capacités de survie à l'extérieur.

## 3. POUVOIR PATHOGÈNE

Deux types sont à distinguer : l'infection d'une part, l'intoxication alimentaire d'autre part.

### 3.1. Infection et chocs toxiques

Une bactérie domine : *Staphylococcus aureus* qui est un hôte normal de l'individu (commensal). Les autres *Staphylococcus* sont très opportunistes. *Staphylococcus saprophyticus* est parfois retrouvé dans des infections du tractus urinaire.

Toutes les infections sont possibles particulièrement de la peau (**furuncles, anthrax, cellulite, panaris, impétigos...**) ou à partir de la peau. Les autres *Staphylococcus* sont aussi rencontrés en particulier sur terrain débilisé. Il est possible que des souches soient plus pathogènes que d'autres mais leur identification n'est pas suffisante pour les individualiser. C'est le cas des souches possédant une panto-valentine leucocidine (PVL) pouvant provoquer des pneumonies très sévères sur des terrains non débilisés.

Dans certains cas le mécanisme est aussi immunopathogène par production de **superantigènes**, retrouvés d'ailleurs dans le cas de l'intoxication alimentaire (chocs toxiques qui dans sa forme sévère est caractérisé par la fièvre (> 39°C), une hypotension systolique, un rash cutané scarlatiforme, vomissements et diarrhées, myalgies, thrombopénie, etc...).

#### Facteurs de pathogénicité (virulence)

Différents produits extracellulaires peuvent être des facteurs de pathogénicité :

<b>Coagulase</b>	coagule le plasma et favorise donc l'isolement de l'infection dans un cocon protecteur.
<b>Hyaluronidase</b>	hydrolyse l'acide hyaluronique des tissus conjonctifs.
<b>Phosphatase</b>	hydrolyse les différentes molécules phosphatées cellulaires.
<b>Gélatinase</b>	hydrolyse les collagènes tissulaires.
<b>Hémolysine <math>\alpha</math></b>	détruit les cellules probablement en "perçant" par un mécanisme inconnu la membrane (DL50 40 $\mu$ g par kg de souris).
<b>Leucocidine</b>	tue les granulocytes et les macrophages par fixation sur la membrane (souches provoquant des furuncles ou des pneumonies).
<b>« Entérotoxines » (immunotoxines)</b>	responsable des empoisonnements alimentaires probablement par un mécanisme de "super-antigènes" (voir intoxication). Elles sont thermorésistantes (à 100°C).
<b>TSST1</b>	toxine de choc staphylococcique de même nature que les entérotoxines et pouvant provoquer un grave choc superantigénique
<b>Exfoliatine</b>	dissocie la couche granulaire de l'épithélium. Elle est responsable de lésions bulleuses. Le mécanisme d'action est superantigénique d'une part, et activateur probable d'une protéase clivant les desmosomes reliant les cellules granuleuses de l'épiderme.
<b>Protéine A</b>	provoque la fixation des IgG par le fragment Fc et isole donc les Staphylocoques de l'action du site anticorps, est cytotoxique, et déclenche la réaction inflammatoire.
<b>Récepteur au fibrinogène (Coagulase liée ou "clumping factor")</b>	favorise la fixation des bactéries sur les caillots ou sur les tissu recouverts de fibrinogène.

#### Causes favorisant l'infection

Différentes causes favorisent l'infection staphylococcique :

1	<b>Ruptures cutanées</b> (blessures, interventions chirurgicales, brûlures, dermatoses)
2	<b>Corps étrangers</b> (poussières et gravillons dans une plaie, points de suture, cathéters, prothèses).
3	Une infection <b>virale</b> préalable (grippe et rougeole en particulier).
4	L'usage préalable d'une <b>antibiothérapie</b> pour laquelle le <i>Staphylococcus</i> est résistant.
5	les <b>déficits leucocytaires</b> quantitatifs (leucopénie) ou qualitatifs (comme la granulomatose familiale).
6	Les <b>déficits dans l'immunité humorale</b> (Anticorps)
7	Diverses pathologies : <b>diabète, artériosclérose, éthylisme, insuffisance rénale</b>

## Notes :

On ne peut exclure une sensibilité individuelle pour certaines souches.  
Sous le même vocable de *Staphylococcus aureus* peuvent coexister des clones plus ou moins pathogènes. Il est rare que l'identification dépasse le nom d'espèce et ne permet donc pas de le mettre en évidence.

## 3.2. Intoxication alimentaire

Certains *Staphylococcus aureus*, extrêmement fréquents, sont capables de produire une toxine thermorésistante dans des aliments, toxine qui déclenche un syndrome digestif peu grave, avec en particulier des vomissements (toxine émétique). Le taux de mortalité est de 0.

Elle agit comme **superantigène**.

Dans l'aliment, les *Staphylococcus* sont très souvent apportés par un manque d'hygiène du personnel. Pensons à la cuillère qui sert à goûter puis à regouter un plat. L'aliment en cause est favorable à la culture, mais, même chauffé, il reste dangereux car, si les bactéries sont thermosensibles, la toxine est thermorésistante. Elle est souvent appelée entérotoxines : ce terme est impropre puisqu'elle agit non sur l'intestin mais sur le système immunitaire intestinal. Le terme d'immunotoxines serait préférable. D'autre part, il ne s'agit pas d'une infection : le terme de TIAC, toxiinfections alimentaire collective, souvent utilisé, est faux. On doit parler d'**intoxication**.

Rq : certains auteurs donnent comme mécanisme d'action de l'entérotoxine la stimulation de récepteurs nerveux intestinaux parasympathiques. Peut-être ces deux interprétations se rencontrent-elles par une stimulation nerveuse liée aux médiateurs libérés par l'action superantigénique !!!

Rq : Il existe différents sérotypes d'entérotoxines : de A à E principalement et de G à M mais mal connues. Le plus fréquent est le type A.

La dose toxique serait de 100 ng pour l'homme. Du fait de sa thermostabilité l'aliment peut ne pas contenir de *S. aureus*. Pour un aliment cru, la concentration en *S. aureus* efficace est de l'ordre de  $10^6$  cellules par g. Cette thermorésistance peut être grossièrement évaluée par une durée de 30 min à 120°C. C est plus résistante que B plus résistante que A.

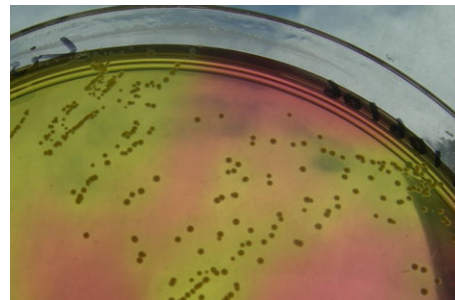
## 4. ISOLEMENT

Les coques Gram + catalase + cultivent facilement sur gélose ordinaire. On trouvera souvent des *Micrococcus* contaminants de l'air sur les milieux d'isolement. Ils proviennent probablement des individus par la desquamation de la peau par exemple. Pour la température de culture, *S. aureus* cultive, selon les souches, entre 6 à 12°C et entre 39,5 et 48°C.

À pH 4, la croissance s'arrête. *S. aureus* cultive jusqu'à un aw de 0,83 en aérobiose et 0,90 en anaérobiose.

Trois milieux sélectifs sont utilisables :

- **le milieu de Chapman**. (milieu hypersalé au mannitol et au rouge de phénol)  
Ce milieu n'est pas favorable ! La culture des *Staphylococcus* mais très inhibiteur des autres bactéries (sauf certains Gram + comme les Entérocoques, et certains Gram - comme *Proteus*...) Il faut bien reconnaître que ce milieu n'est pas un bon milieu d'isolement des *Staphylococcus* car certains ne cultivent pas et d'autres en des durées excessives.



aspect caractéristique de *S. aureus* sur Chapman

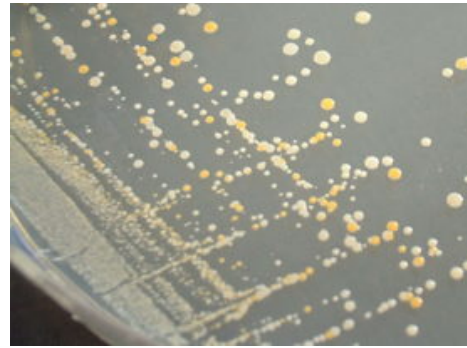
- **le milieu de Baird Parker** (milieu au tellurite-lithium et au jaune d'œuf)  
Ce milieu est riche et utilisé surtout en **microbiologie des aliments**. Il permet la mise en évidence classiquement de la lécithinase et la lipoprotéinase. Les colonies peuvent de plus être noires par réduction du tellurite en tellure noir.  
$$6 H^+ + 4 e^- + TeO_3^{2-} \rightarrow Te + 3 H_2O$$
*Staphylococcus aureus* est lécithinase +, lipoprotéinase + et réduit le tellurite en tellure.



aspect caractéristique de *S. aureus* sur Baird Parker

- **la gélose au sang + ANC** (ANC = Acide nalidixique + Colimycine) Ce milieu est utilisé pour la plupart des gram +. En médical il est préférable à Chapman car la culture de Staphylocoques sera plus sûre que sur Chapman.

ATTENTION : les souches de Staphylocoques donnent souvent un **aspect hétérogène** (colonies de différentes tailles, coloration.... On peut avoir l'impression d'un mélange.



aspect hétérogène d'une souche pure de *Staphylococcus aureus* sur GTS

## 5. IDENTIFICATION

### 5.1. Identification du genre

Les deux genres *Staphylococcus* et *Micrococcus*, souvent retrouvés dans les mêmes prélèvements, sont avant tout distingués par le type respiratoire. La voie d'attaque du glucose est en rapport. D'autres tests sont possibles, utilisés avec ou sans les précédents. Cela reste très historique.

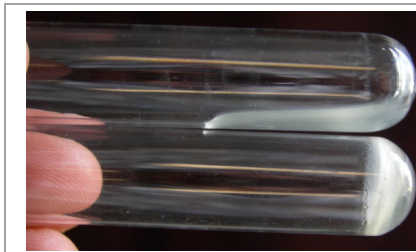
Ce sont

- la sensibilité à la lysostaphine (100 µg) (*Staphylococcus* sensible, *Micrococcus* résistant),
- la sensibilité à la nitrofurantoïne (300 µg) (*Staphylococcus* sensible, *Micrococcus* résistant),
- l'acidification du glycérol en aérobiose (*Staphylococcus* acidifiant, *Micrococcus* non acidifiant)...

### 5.2. Identification d'espèce

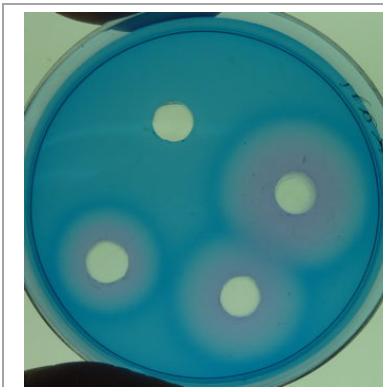
L'identification d'espèce de *Staphylococcus* peut se faire par :

- la présence de **pigment jaune d'or** (les *Micrococcus* ont souvent des pigments jaune clair ou même rose ou rouge)
- la recherche de la **coagulase libre**



en haut souche coagulase -  
en bas souche coagulase +

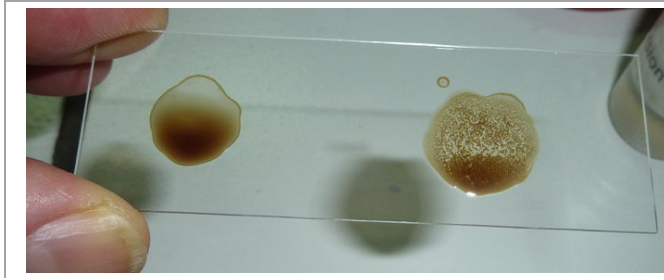
- la recherche d'une **DNase** ou d'une **DNase thermorésistante**



La gélose contient DNA et bleu de toluidine.  
Les différents puits contiennent du bouillon cœur cerveau ensemencé depuis 24 h avec les souches testées, bouilli ou non bouilli et avec d'éventuels témoins.  
La coloration rose traduit l'hydrolyse du DNA.

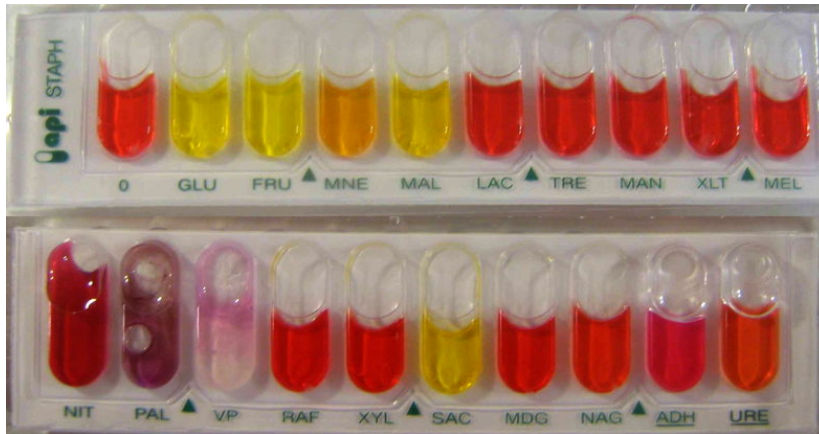
- la recherche de la **protéine A** (récepteur au fragment Fab des Ig) par coagglutination d'hématies porteuses des Ig.
- la recherche du **récepteur au fibrinogène** (clumping factor, coagulase liée) par coagglutination d'hématies porteuses de fibrinogène.
- la recherche d'une **capsule polysidique de SARM (MRSA en anglais)**, capsule pouvant masquer les autres facteurs, par coagglutination de particules recouvertes d'Anticorps anticapsulaires fixés par leur fragment Fc.

- la **recherche combinée** par
  - coagglutination de la protéine A et du récepteur au fibrinogène ou
  - par coagglutination de la protéine A, de capsule de SARM et du récepteur au fibrinogène (test bioMérieux, Fumouze...).



- Test biomérique avec
- témoin négatif (gauche)
  - test positif (droite)

- la fermentation ou l'utilisation du **mannitol**
- une galerie **API20 Staph** ou une **ID 32 Staph**



Galerie API20 Staph



Galerie Id32 Staph

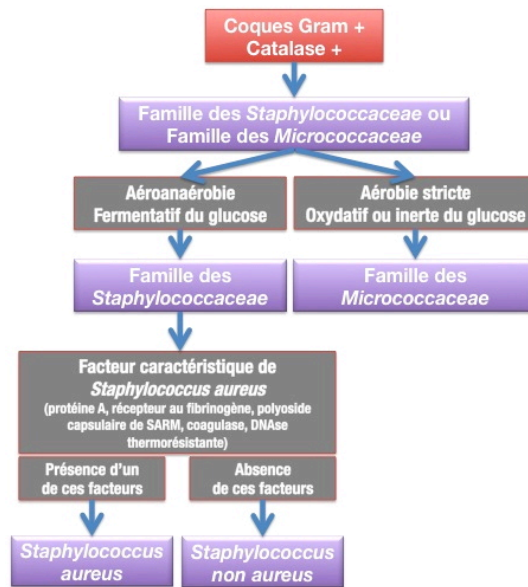
La galerie pourra donc comprendre :

- une gélose ordinaire (pureté, aspect des colonies, tests sur lame)
- VF et CTA glucosé (ou MEVAG Staph)
- un bouillon Coeur Cerveille (coagulase, recherche de la thermonucléase)
- (une gélose à l'ADN ensemencée en strie.)
- (un milieu de Chapman éventuellement conditionné en GI)
- une galerie Id32 Staph en cas de recherche épidémiologique ou de *Staphylococcus non aureus*

## 5.3. Démarche d'identification en bactériologie médicale

Le diagramme suivant permettra de conclure pour la bactériologie médicale. La présence d'un seul facteur de pathogénicité suffira. Les réactifs actuels de coagglutination sont de toute façon polyvalents.

Notons que beaucoup de laboratoires réalisent à la fois les tests de coagglutination et de la coagulase libre. L'intérêt de ce dernier, en cas de positivité du premier ne me parait pas évident.



## 6. TRAITEMENT ET ANTIBIOGRAMME

Le traitement des Staphylococcies a été révolutionné par l'apparition de la Pénicilline. Malheureusement les **résistances** sont très rapidement venues compliquer les choses dès 1946. L'antibiogramme est donc essentiel. L'existence d'un mode particulier d'expression de la résistance est rencontré avec la méticilline ou l'oxacilline (pénicillines M) : c'est la **résistance hétérogène** que seule 1 bactérie sur  $10^5$  exprime (sauf pour les clones purs).

Cette résistance est liée à une nouvelle protéine liant les béta-lactamines (PLPa), enzyme de synthèse du peptidoglycane, qui ne lie plus (ou mal) les béta-lactamines. Ces *Staphylococcus aureus* sont appelés **SARM** ou *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (en fait oxacilline).

On réalisait, pour leur recherche, un antibiogramme dans des conditions particulières :

- **Mueller Hinton à 30°C ou MH hypersalé à 37°C** : le ralentissement de la culture permettant aux colonies mutantes, de croissance plus lente, d'émerger (dans le cas contraire les souches normales cultivant plus rapidement occupent le terrain en "étouffant" les mutants)
- **Inoculum plus lourd** permettant d'avoir plus sûrement les quelques mutants possédant la PLP adéquate.

Aujourd'hui, la **résistance à la céfoxitine** est utilisée pour cette recherche : un diamètre inférieur à 22 mm montre une mutation des PLP2a et donc une résistance à toutes les bétalactamines. Il est aussi possible de **rechercher le gène** correspondant mecA ou la PLP2a par des techniques de biologie moléculaire ou le produit du gène par des techniques immunologiques. La recherche d'une bétalactamase est utile en cas de sensibilité.

Attention : la résistance hétérogène à l'Oxacilline ou à la Métilcilline, ou à la Céfoxitine, entraîne une résistance à TOUTES LES Bétalactamines.

## 7. PROPHYLAXIE

La prophylaxie des staphylococcies est particulièrement difficile. Il est parfois utile **d'éviter l'utilisation des antibiotiques** en se contenant d'antiseptiques pour éviter l'émergence de souches multirésistantes : il ne faut pas oublier que le *Staphylococcus* pathogène est souvent un hôte normal de la peau du malade ! Mais il existe aussi des clones très pathogènes qui peuvent se répandre rapidement dans le monde.

Toutefois, *S. aureus* peut-être relativement résistant aux antiseptiques (iode, chlore, peroxydes...).

La réduction décimale par traitement thermique est obtenue à 60°C pour une durée de 0,4 à 8 min. et la réduction décimale par traitement par radiations de 0,1 à 0,6 kGy.

Des mesures d'hygiène sont probablement la seule façon d'éviter la transmission.

Un vaccin aurait été mis au point (OptionBio 296) par une équipe américaine : il est composé de polyosides capsulaires (types 5 et 8 parmi les 12 types connus) conjugué à une protéine, l'exoprotéine A de *Pseudomonas aeruginosa* recombinante (obtenue atoxique par génie génétique).

## COMPLÉMENTS

- **Des informations en anglais sur le "Toxic shock syndrome toxin"** à l'adresse internet suivante : <http://monera.ncl.ac.uk/path/vtec.html>
- **Centre de référence des Toxémies ! Staphylococcus** : en français : <http://cism.univ-lyon1.fr/dm3/staph/txtstaph.htm> (pb)

