

DETECTION DES STREPTOCOQUES β -HEMOLYTIQUES

Nous avons été interrogés à plusieurs reprises sur l'existence d'une méthode normalisée de recherche de ces microorganismes. C'est pourquoi, il nous paraît utile de faire une mise au point rapide sur cette question et nous remercions Mme Lafarge de l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, ex CNEVA) pour tous les renseignements fournis.

Les streptocoques β -hémolytiques sont des pathogènes responsables notamment d'affections rhino-pharyngées et de la scarlatine dans l'espèce humaine, de mammites chez les bovins. La réglementation française [1], **mais pas la réglementation communautaire**, dans ses critères microbiologiques pour le **lait cru, destiné à la consommation en l'état**, spécifie

l'absence de streptocoques β -hémolytiques dans 0,1 ml

et précise qu'entrent dans cette catégorie les streptocoques appartenant aux groupes A, B, C, G et L de Lancefield. Ces groupes font référence à une classification sérologique, établie en 1933, par Lancefield R.C. [2]

Or, si un avis du Journal Officiel, daté du 23/1/1996, [3] donne la liste des méthodes normalisées utilisables pour la détermination de tous les autres critères prévus à l'arrêté [1], il reste muet sur ce point. En fait, il n'existe aucune méthode normalisée de recherche de ces germes. Un projet semble avoir été développé par l'AFNOR, il y a 2-3 ans, mais abandonné depuis.

La littérature [4] signale qu'il n'existe pas de milieu sélectif réellement satisfaisant pour la détection des streptocoques. Cependant le milieu TKT, décrit en 1953 par Hauge et Ellingsen, cités en [4], est généralement considéré comme permettant la détection et la croissance sélective de l'ensemble des streptocoques β -hémolytiques [4] et [5]. Ce milieu est basé sur une gélose au sang, additionnée de sulfate de thallium (T), de violet c(K)ristal (K) et d'une toxine (T) provenant d'une culture de staphylocoques β -hémolytiques. Celle-ci accentue la réaction hémolytique des streptocoques recherchés. Il y a quelques années, cette toxine était fabriquée industriellement et permettait de fabriquer ce milieu relativement facilement. Or cette fabrication a été arrêtée, mettant les laboratoires utilisateurs dans l'obligation de produire eux-mêmes cette toxine, ce qui ne va pas sans difficulté, ou de trouver une autre solution !

En outre, les kits commerciaux de recherche des streptocoques fécaux s'intéressent principalement à ceux appartenant au groupe D de Lancefield, qui ne sont pas concernés ici.

Dès lors, l'AFSSA conseille d'utiliser comme milieu d'isolement une gélose classique au sang (par exemple, BioMérieux, prête à l'emploi). Elle recommande cependant de modifier légèrement le protocole habituel. En effet, sur ce milieu non sélectif, les streptocoques β -hémolytiques risquent de devenir indétectables, du fait de la forte concurrence d'autres germes à croissance plus rapide et produisant des colonies plus grosses. C'est pourquoi l'AFSSA préconise d'étaler 0,1ml de la suspension d'origine **sur plusieurs boîtes**, afin de favoriser la séparation des colonies.

Les colonies présentant une hémolyse doivent ensuite être repiquées pour confirmation et identification. Le premier test est un examen microscopique pour repérer les chaînettes de coques caractéristiques. Ces colonies caractéristiques sont ensuite soumises :

- à une coloration de Gram ; les streptocoques sont Gram+ ,
- au test de la catalase ; les streptocoques sont catalase - ,
- à une série de tests biochimiques comme le test de Camp, l'hydrolyse de l'esculine, de l'hippurate et l'utilisation de certains sucres. Ces tests peuvent être remplacés par l'utilisation d'une galerie d'identification, par exemple, la galerie API20Strep, qui permet de confirmer rapidement l'appartenance des colonies à une espèce pathogène de streptocoques.

Eventuellement, dans le cadre d'une recherche épidémiologique ou d'autres recherches particulières, il peut être nécessaire de compléter l'identification par des tests sérologiques [4], disponibles notamment sous forme de galeries prêtes à l'emploi.

Bibliographie

[1] **arrêté du 30/3/1994**, relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les laits de consommation et les produits à base de lait lors de leur mise sur le marché. Journal Officiel de la République Française du 21/4/1994

[2] **LANCEFIELD R.C.** A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. J. Exp. Med., 1933, V. 57, p. 571-595

[3] **Avis** relatif aux méthodes et normes utilisables pour la détermination des critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les laits de consommation et les produits à base de lait lors de leur mise sur le marché. Journal Officiel de la République Française du 23/1/1996

[4] **ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). International Association of Microbiological Societies** . Microorganisms in foods. 1. Their significance and methods of enumeration. Toronto : University of Toronto Press, 1978, ISBN 0-8020-2293-6. The *streptococci*, p. 38-41 & Hemolytic *streptococci*, p. 149-156.

[5] **POUTREL B.** Les staphylocoques et les streptocoques de mammites. In Les Groupes microbiens d'intérêt laitier. Hermier J., Lenoir J., Weber F. Eds. Paris : CEPIL, 1992 , p. 415-453.

Nous remercions les personnes du LDA de l'Ariège qui ont, il y a peu, attiré à nouveau notre attention sur cette question et partagé leurs interrogations avec nous.

