

Hein

D- 1 383

Xe EUROPEAN MEETING OF MEAT RESEARCH WORKERS

=====

- R O S K I L D E (Danemark) -

I 9 6 4

RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES STAPHYLOCOQUES PATHOGENES

DANS LES PRODUITS CARNES

D. BASILLE

J. PANTALEON

P. PERRON

- F R A N C E -

=====

RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES STAPHYLOCOQUES PATHOGENES

DANS LES PRODUITS CARNES

D. BASILLE - J. PANTALEON - P. PERRON

En l'absence d'une épreuve directe et spécifique permettant la mise en évidence dans un aliment des staphylocoques entérotoxiques, on est conduit, dans l'état actuel de nos connaissances, à tenir toute souche de staphylocoques à coagulase + comme capable de causer une intoxication.

L'isolement de ces staphylocoques, à partir d'un produit alimentaire, est lui-même assez délicat en raison du plurimicrobisme généralement marqué du substrat. Cette condition impose la nécessité de recourir à des milieux d'isolement sélectifs ou sélectifs et différentiels.

Les reproches qui ont été adressés à ces milieux concernent un pouvoir inhibiteur possible vis-à-vis de certaines souches de staphylocoques pathogènes ou bien un manque de sélectivité et de pouvoir différentiel. On se trouve alors dans l'impossibilité de distinguer les colonies de staphylocoques des colonies formées par les Micrococci, les Bacillus, voire les Bacilles à gram . négatif.

Pour pallier ces déficiences, BAIRD-PARKER (*) a récemment proposé un milieu qu'il dénomme E.T.G.P.A. dont les éléments constitutifs sont les suivants (tableau I).

(*) PARKER (A.C.B.) J. Appl. Bact. 1962, 25, 12.

ENSEMENCEMENT ET INCUBATION DU MILIEU -

L'aliment à analyser est finement divisé dans un broyeur et 0,1 ml de la dilution au 1/10 est porté sur la surface du milieu, puis réparti à l'aide d'un étaleur de verre.

La boîte est placée à 37°C, le temps d'incubation est de 24 h.

LECTURE -

Deux conditions doivent être respectées :

- I/ la durée d'incubation de 24 h
- 2/ l'utilisation d'une lumière rasante d'intensité réduite.

Les staphylocoques coagulase + s'imposent par l'aspect caractéristique de leurs colonies ; il s'agit de points noirs de 1 à 1,5 mm de diamètre, entourés d'un halo d'éclaircissement de 2 à 5 mm de diamètre, tranchant sur le fond jaune opaque du milieu.

Les Micrococci donnent des colonies souvent plus fines sans halo apparent, au contraire, elles s'auréolent d'une zone d'opacification qui s'affirme encore plus nettement si le temps d'incubation est prolongé.

Sarcines et Bacillus produisent des colonies de teintes plus nuancées, elles présentent parfois une zone d'opacification, mais elles sont toujours dépourvues de halo. Les rares colonies dues à des bacillus gram négatif se signalent d'emblée par leur zone périphérique d'opacification. Nous avons pu vérifier ces caractéristiques en partant de souches microbiennes, fraîchement isolées de produits alimentaires.

RECHERCHES PERSONNELLES -

Leur but était de vérifier si le milieu E.T.G.P.A. assurait, dans la pratique de la bactériologie alimentaire, un pouvoir

.../...

sélectif valable et une fidélité satisfaisante afin de permettre le dénombrement direct des staphylocoques coagulase + .

a) La spécificité du milieu

A partir de 12 produits carnés, ensemencés sur un milieu E.T.G.P.A., 170 souches microbiennes provenant de colonies isolées ont été identifiées (tableau II).

b) La fidélité du milieu

Nous avons cherché à savoir si le milieu E.T.G.P.A., milieu hautement spécifique, donnait des résultats aussi fidèles et réguliers qu'un milieu d'isolement couramment utilisé en bactériologie alimentaire, la gélose Chapman.

Deux constatations ont alors été faites :

- 1/ le milieu E.T.G.P.A. assure la croissance rapide des staphylocoques. Dans le délai de 24 heures, il est possible de reconnaître et de dénombrer sur ce milieu les staphylocoques coagulase +. Dans le même temps, la croissance microbienne sur gélose Chapman est souvent peu marquée et les colonies mal différenciées : la durée d'incubation de ce milieu doit alors être prolongée à 48 heures.
- 2/ Le milieu E.T.G.P.A. offre une sécurité jamais rencontrée jusqu'alors pour la mise en évidence directe des staphylocoques coagulase + dans les produits alimentaires et, surtout, dans les produits carnés.

Cette constatation ressort de 23 expertises de produits carnés.

Des ensemencements simultanés étaient effectués sur E.T.G.P.A. et sur gélose Chapman. En règle générale, 10 colonies

.../...

prélevées sur chacun des milieux faisaient l'objet d'investigations bactériologiques pour la recherche des staphylocoques coagulase +.

Voici nos résultats comparés (tableau III). C'est dans 10 des 29 prélèvements que des staphylocoques coagulase + ont été décelés.

- En aucun cas, le résultat n'a été positif sur gélose Chapman et, parallèlement, négatif sur milieu E.T.G.P.A.

- Dans une seule éventualité, la recherche a été simultanément positive sur E.T.G.P.A. et sur gélose Chapman.

- Dans 9 cas, le résultat a été positif sur E.T.G.P.A. alors que le germe ne pouvait être détecté sur gélose Chapman (repiquage de 10 colonies).

C'est dire l'avantage très net de sensibilité montré par le milieu de BAIRD-PARKER au jaune d'oeuf pour l'isolement des staphylocoques coagulase +.

CONCLUSIONS -

Le milieu de PARKER au jaune d'oeuf réalise des conditions particulièrement favorables pour la croissance, la sélection, la différenciation et, par conséquent, le dénombrement par lecture directe des staphylocoques présumés pathogènes ; c'est-à-dire l'intérêt qu'il présente pour la bactériologie alimentaire et, tout particulièrement, dans le cas des produits carnés.

-:-:-

T A B L E A U I

=====

Composition du milieu de BAIRD-PARKER au jaune d'oeuf (E.T.G.P.A.)

a) composants essentiels :

- 5 % d'une émulsion de jaune d'oeuf (oxoid) E.
- 0,01 % de tellurite de potassium (B. D..H.) T.
- 1,2 % de glycocolle G.
- 1 % de pyruvate de sodium P.

b) une base nutritive gélosée à 2 % A.

.../...

T A B L E A U I I

=====

La spécificité du milieu.

170 souches provenant de colonies isolées ont été identifiées.

a) 75 colonies avec halo caractéristique

Dans les 75 cas, les germes présentaient les caractéristiques des staphylocoques pathogènes :

- fins cocci gram +
- catalase +
- pouvoir fermentant +
- coagulase +
- desoxyribonuclease +
- phosphatase acide +

b) 95 colonies sans le halo caractéristique.

Il a été isolé :

- 5 staphylocoques coagulase +
- 40 staphylocoques coagulase -, ou bien micrococci
- 33 Bacillus
- 3 Bacillus à gram -
- 14 sarcines.

CONCLUSION : 100 % des colonies à halo sont des Staphylocoques coag. +
5 % seulement des colonies non caractéristiques sont des staphylocoques. Il faut cependant ajouter que les 5 colonies aberrantes ne pouvaient conduire à une appréciation bactériologique erronée sur le produit d'origine, puisqu'elles étaient englobées parmi des colonies caractérisées de staphylocoques coagulase +.

T A B L E A U I I I

	I8 PRODUITS CARNES CRUS	II PRODUITS CARNES CUITS
Absence sur E.T.G.P.A. et Absence sur Chapman.....	10	9
Présence sur E.T.G.P.A. et présence sur Chapman.....	1	0
Présence sur E.T.G.P.A. et absence sur Chapman.....	7	2
Absence sur E.T.G.P.A. et présence sur Chapman.....	0	0

RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES STAPHYLOCOQUES PATHOGENES

DANS LES PRODUITS CARNES

D. BASILLE
J. PANTALEON
P. PERRON

RESUME

Les auteurs étudient le milieu de culture de BAIRD-PARKER (E.T.G.P.A.) du point de vue de son pouvoir sélectif et de sa fidélité vis-à-vis des staphylocoques coagulase + et le comparent au milieu d'isolement courant, la gélose de Chapman, afin de déterminer si cette méthode permet le dénombrement direct des staphylocoques coagulase +.

Les conclusions des auteurs sont que le milieu de Baird-Parker au jaune d'oeuf offre les conditions particulièrement favorables pour la croissance, la sélection, la différenciation des colonies de staphylocoques, par conséquent, le dénombrement par lecture directe des staphylocoques présumés pathogènes. D'où l'intérêt qu'il présente pour la bactériologie alimentaire, tout particulièrement dans le cas des produits carnés.

CONTROL OF PATHOLOGICAL STAPHYLOCOCCUS IN MEAT PRODUCTS

by D. BASILLE, J. PANTALEON and P. PERRON

SUMARY

The authors investigate the medium of BAIRD-PARKER E.T.G.P.A. from the stand point of his selective power and reliability in regard to staphylococcus coagulase +, and compare it to the gelose of Chapman the current isolating medium, in order to determine if this method allows the direct counting of staphylococcus coagulase +.

.../...

The authors' conclusions are : that Baird-Parker medium present specially favourable conditions for the growth, selection, differentiation, consequently the direct counting of staphylococcus presumed pathogenic ; from which. The interest it presents for the bacteriology of foods, specially of meat products.

UNTERSUCHUNG UND AUFZAHLUNG DER PATHOGENEN

STAPHYLOKOKKEN IM FLEISCHPRODUKTE

bei D. BASILLE, J. PANTALEON, P. PERRON

ZUSAMMENFASSUNG

Von den Autoren wurde das Kunstnährstoffmittel von Baird-Parker (E.T.G.P.A.) vom Standpunkt seiner Selectivitätsvermögen und Glaubwürdigkeit im Vergleich mit dem üblichen Kunstnährstoffmittel der Vereinzelnung, die Gelose von Chapman, im betreff der Staphylokokken coagulase +, studiert, um ob dieses Verfahren eine direkte Aufzählung der Staphylokokken Coagulase + ermöglicht festzustellen.

Sie beschliessen dass der Kunstnährstoffmittel von Baird-Parker mit Eigelb speziell günstige Eigenschaften für Wachstum, Selektion und Unterschiedlichkeit, demnach die Aufzählung der vorausgesetzten pathogenen Staphylokokken anbietet ; wovon das Interesse, dass es für Nahrungsmittelbakteriologie, insbesondere für Fleischprodukte darbietet.