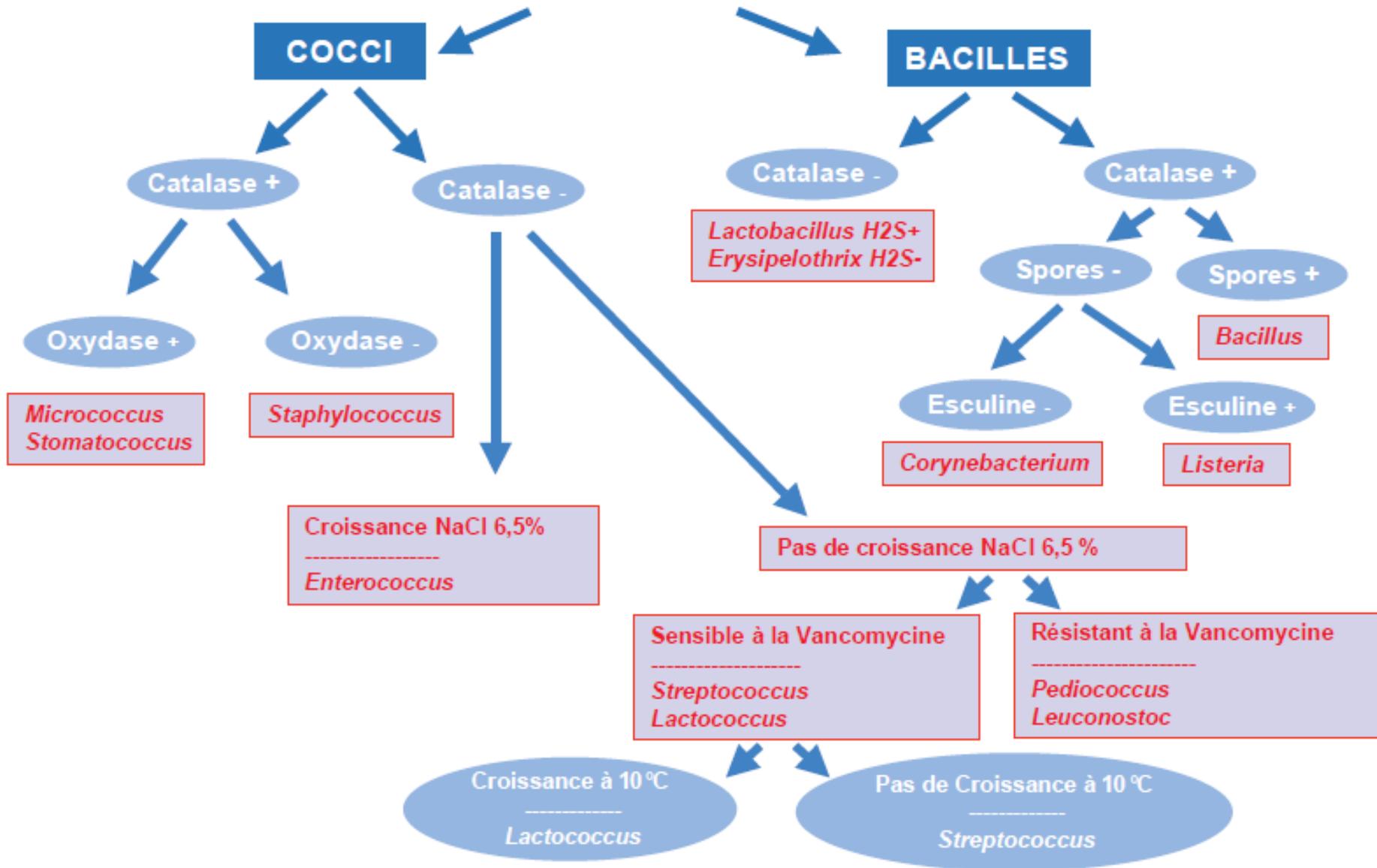


# **Famille des *Streptococcaceae* et des *Enterococcaceae***

- Ce sont des cocci à Gram positif dépourvus de catalase et d'oxydase.
- Ils produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose et sont anaérobies aéro-tolérants.
- Parmi toutes ces bactéries, les espèces des genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont le plus souvent impliquées en pathologie humaine.
- L'absence de catalase et l'aspect caractéristique en paires (diplocoques) ou en chaînettes permettent de les distinguer des *Micrococcaceae*.

# BACTÉRIES À GRAM POSITIF (HORS ANAÉROBIES ET BAAR)



# Le genre *Streptococcus*

- Le genre *Streptococcus* comprend 113 espèces (janvier 2016). L'espèce type du genre est *S. pyogenes*, décrite en 1884. Certaines espèces très virulentes, comme *S. pyogenes* ou *S. pneumoniae*, sont des bactéries pathogènes.
- D'autres espèces sont le plus souvent commensales mais deviennent des pathogènes « opportunistes » dans certaines circonstances.
- C'est le cas des streptocoques oraux qui peuvent être responsables d'endocardites.
- D'autres espèces, comme *Streptococcus mutans* qui peut être responsable de caries dentaires.

Les streptocoques se présentent sous l'aspect de cocci à Gram positif, de diamètre inférieur à 2  $\mu\text{m}$ , immobiles et asporulés.

Ils sont groupés en diplocoques ou en chainettes de longueur variable.

Certaines espèces se multiplient plus facilement en anaérobiose (*Streptococcus intermedius*) ou en présence de  $\text{CO}_2$  (*S. pneumoniae*, *S. mutans*).

Les streptocoques sont homofermentaires, catalase et oxydase négatifs.

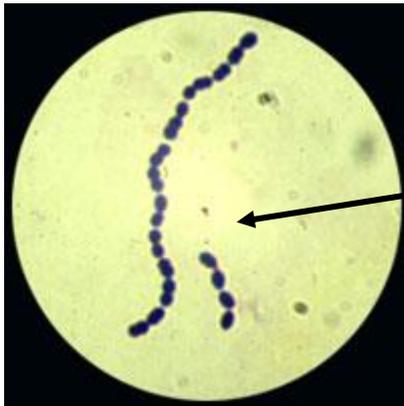
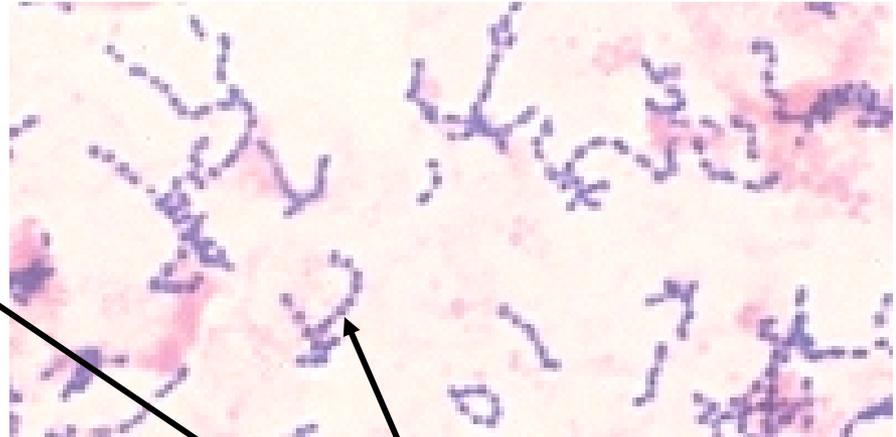
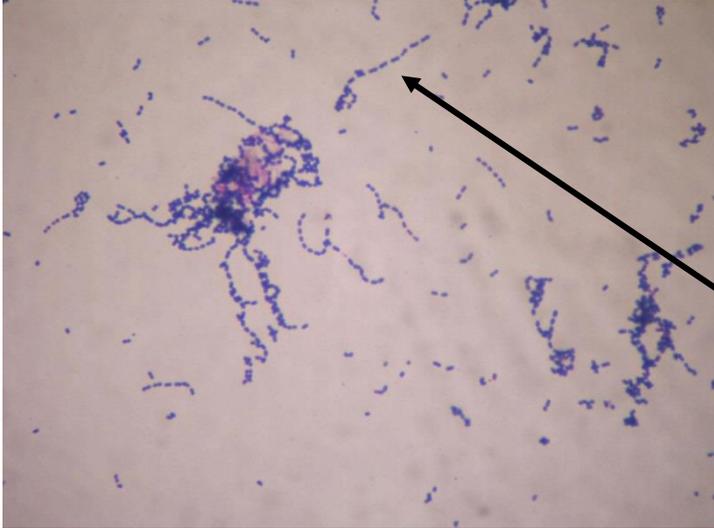
Ils se multiplient en milieu Man, Rogosa et Sharpe (MRS) sans production de gaz, contrairement à *Leuconostoc*.

Les streptocoques nécessitent pour leur multiplication de nombreux facteurs de croissance présents dans les milieux de culture complexes, tels que les géloses (trypticase soja ou Columbia) enrichies de 5 % de sang.

Les milieux réducteurs, type milieu de Schaedler ou bouillon au thioglycolate, favorisent leur métabolisme anaérobie préférentiel.

Croissance en 24 à 48 heures; Température optimale comprise entre 35 et 37°C

# Aspect microscopique

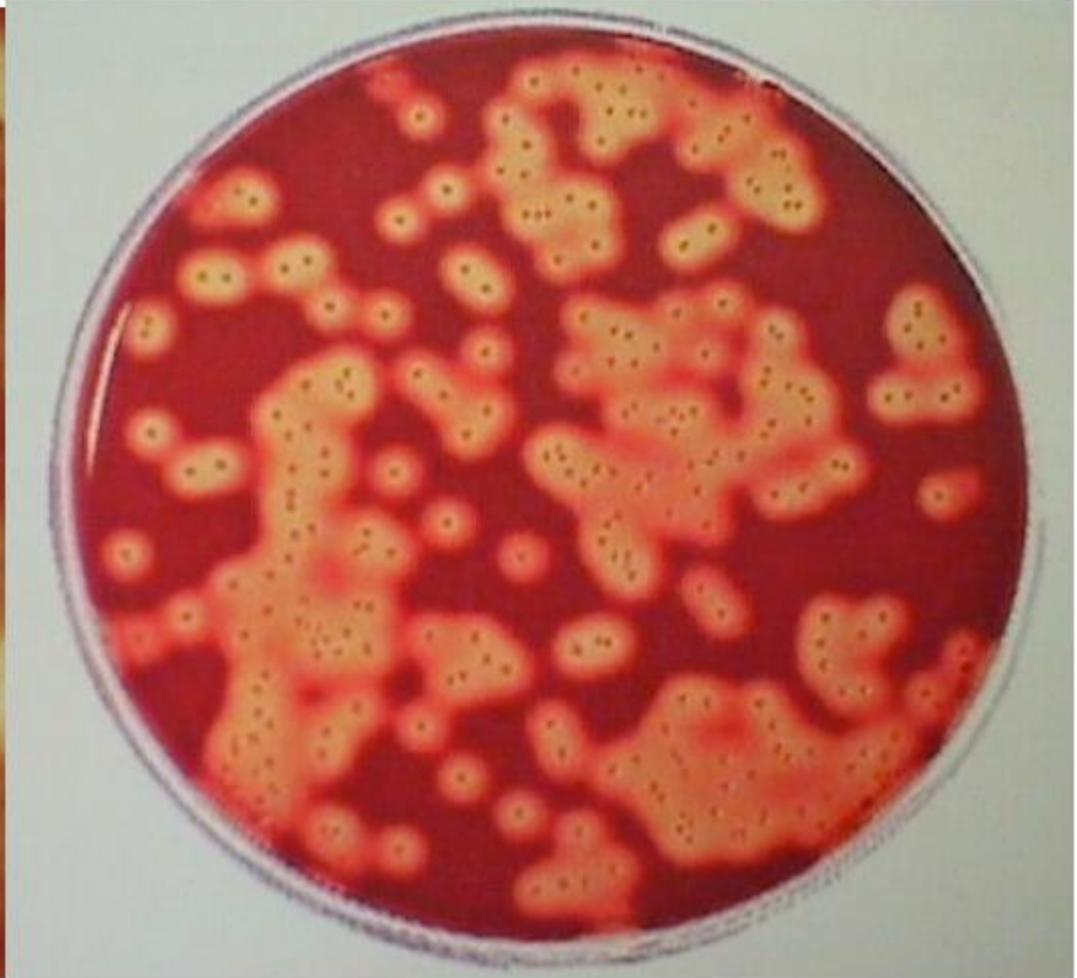
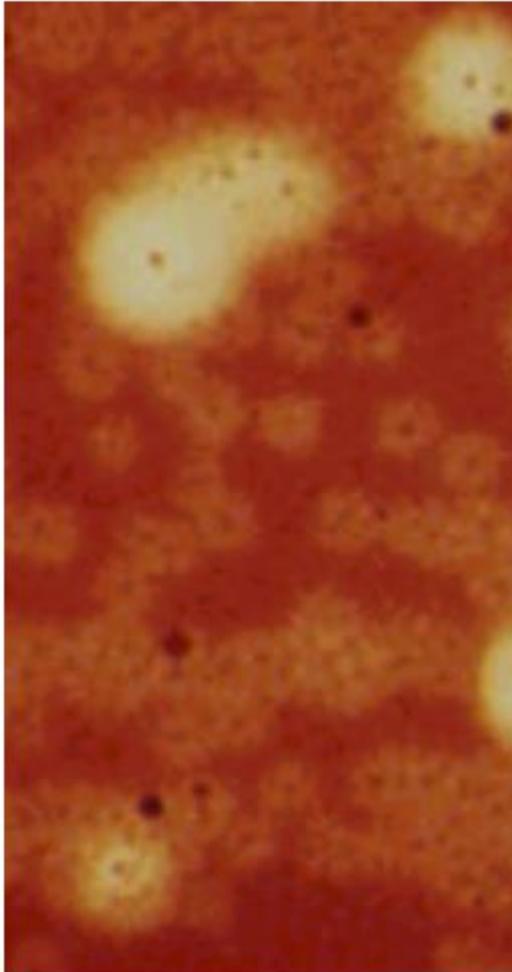


**Streptococoques: Coques en  
longue chaînette Gram +**

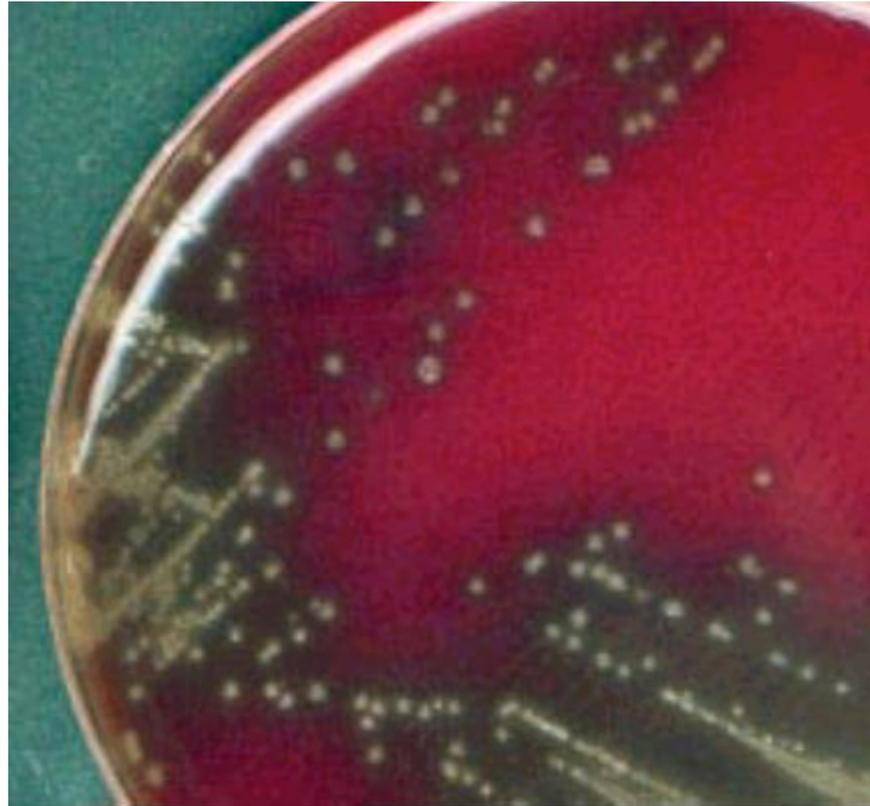
- Avant l'utilisation des techniques de biologie moléculaire, la classification des streptocoques reposait essentiellement sur trois types de caractères : **l'hémolyse entourant les colonies obtenues sur gélose au sang, le groupe de Lancefield et les propriétés physiologiques ou biochimiques.**
- Cette approche qui repose sur les caractères cultureux (aspect et taille de la colonie, aspect et taille de l'hémolyse et atmosphère de croissance) reste utilisée en pratique courante pour l'identification.
- L'hémolyse permet la distinction **des streptocoques  $\beta$ -hémolytiques,  $\alpha$ -hémolytiques et non hémolytiques.**
- Elle permet de distinguer rapidement les **streptocoques pyogenes**, le plus souvent  **$\beta$ -hémolytiques** (mis à part *S. pneumoniae* qui est  $\alpha$ -hémolytique et les streptocoques du groupe *anginosus* dont l'hémolyse est variable), pour lesquels l'identification repose sur le sérogroupage par une technique rapide d'agglutination sur lame.

streptocoques  $\beta$ -hémolytiques du groupe A

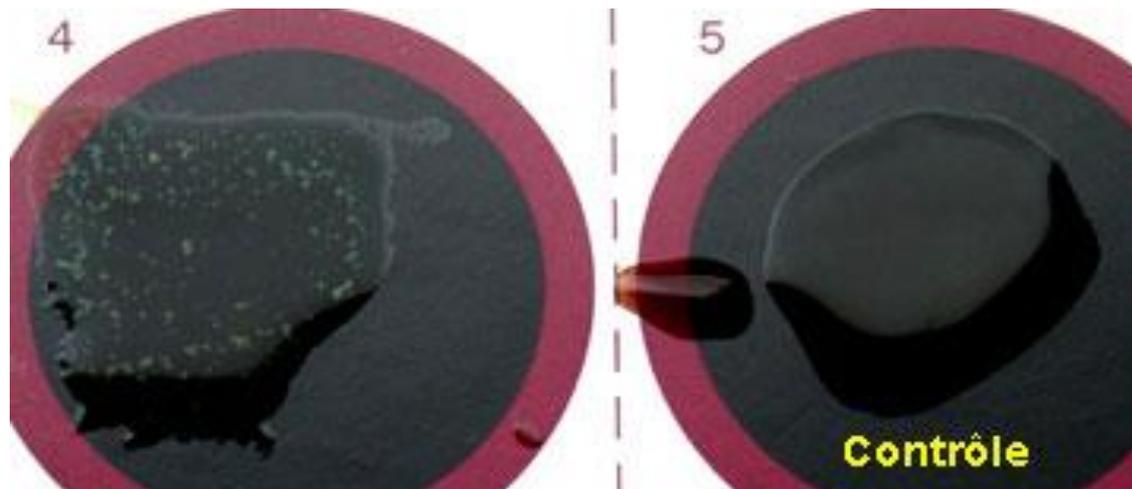
*Streptococcus pyogenes*



# streptocoques $\alpha$ -hémolytiques



- présence ou non d'un Antigène de paroi → le **polyoside C** sur lequel repose la classification de Lancefield :
  - définition de plusieurs groupes A à H, K à P, R à V et non groupable
  - groupage réalisé par coagglutination de particules de latex sensibilisées par des Ac spécifiques



# Sérogroupage

A

B

C, G

C, G, F

Colonies de taille normale

Colonies punctiformes

PYR +

CAMP test +  
Hip +

Streptocoque du  
groupe C ou G

Streptocoque du  
groupe *anginosus*

*S. pyogenes*

*S. agalactiae*  
*S. porcinus*

*S. dysgalactiae*  
*S. canis*  
*S. equi*

*S. anginosus*  
*S. constellatus*  
*S. intermedius*

Identification des streptocoques  $\beta$ -hémolytiques par sérogroupe de Lancefield (technique rapide d'agglutination sur lame).

- caractères biochimiques :

L'analyse des souches pathogènes est complétée par la réalisation de tests biochimiques révélant la production d'enzymes ou l'hydrolyse de différents substrats,

- rapid ID 32 Strept® → résultat en 4 heures
- Api 20 Strept® → résultat en 18 heures

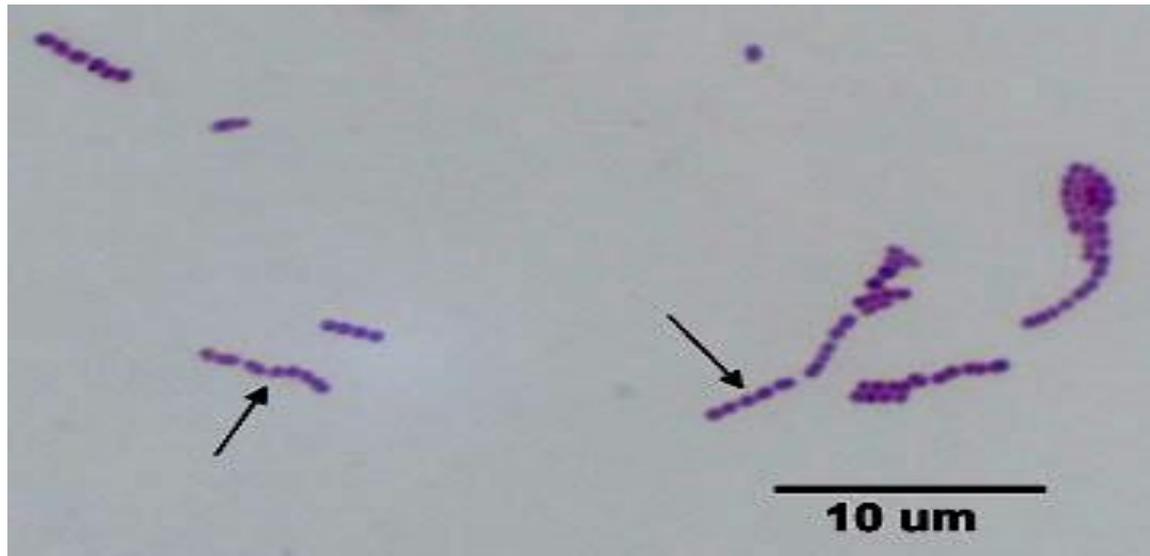


l'étude du profil de résistance aux antibiotiques et l'étude du profil protéique (spectrométrie de masse MALDI-TOF).

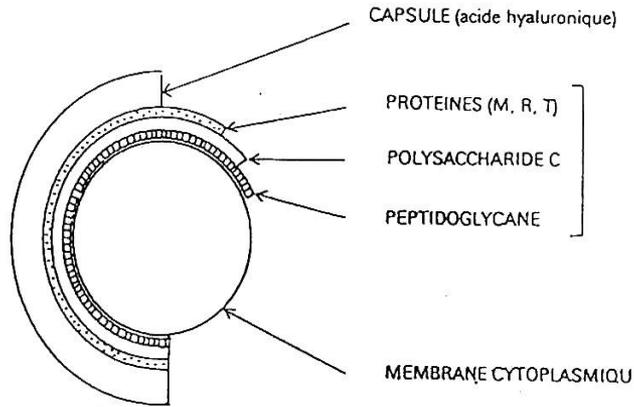
- **Streptocoque du groupe A : *Streptococcus pyogenes***
- Identification
- *S. pyogenes* est un streptocoque  $\beta$ -hémolytique qui possède l'antigène de groupe A.
- L'identification peut être confirmée par la recherche de **pyrrolidonyl arylamidase** absente de *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* et des souches  $\beta$ -hémolytiques de *S. anginosus* et *S. constellatus* qui présentent occasionnellement Ang A de Lancefield.
- Absence de production d'acétoïne ( VP négatif) permet aussi de distinguer *S. pyogenes* des souches  $\beta$ -hémolytiques des streptocoques du groupe *anginosus*.
- Enfin, la sensibilité à la bacitracine, autrefois utilisée, ne peut plus être considérée comme un test de confirmation de l'espèce *S. pyogenes* depuis la mise en évidence de souches résistantes.

■ **Morphologie et croissance :**

- cocci Gram + en longues chaînettes capsulées
- anaérobie tolérant O<sub>2</sub>, catalase et oxydase –
- exigeant donc culture sur gélose sang → hémolyse β
- germe très fragile survivant peu ou pas dans milieu extérieur



## STREPTOCOQUE A



Structure de la paroi du streptocoque A

EXTÉRIEUR

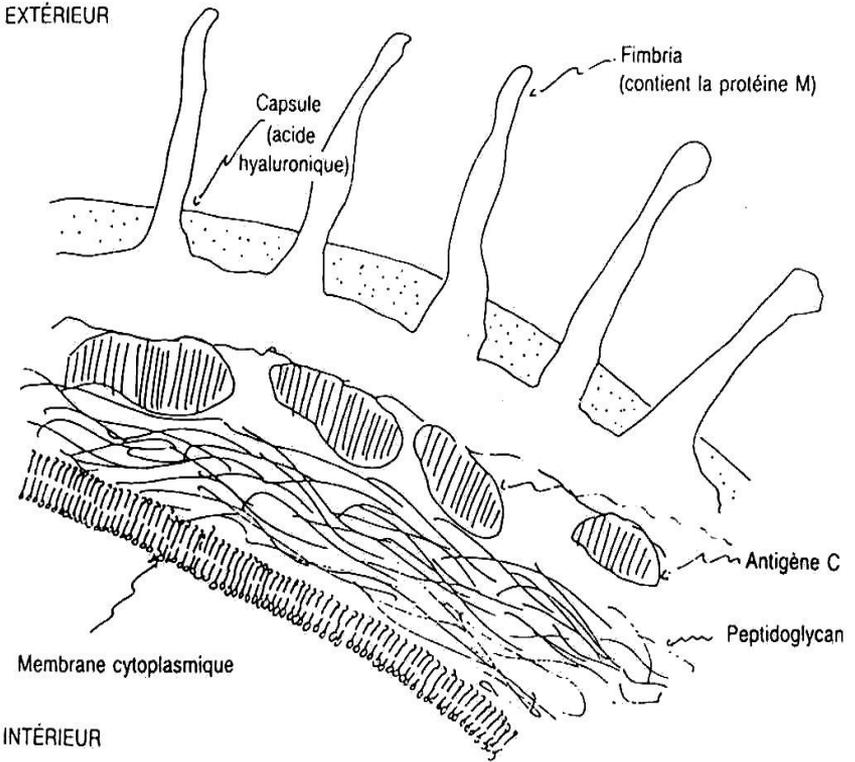


Figure 6-2. Représentation schématique de la paroi d'un streptocoque du groupe A, avec localisation des antigènes M et C

- **capsule** • élément le plus extérieur constitué d'acide hyaluronique mais n'est pas de nature antigénique responsable de l'inhibition de la phagocytose

- *protéine M* • associée aux pili (adhérence), on en connaît plus de 80 sérotypes
- *protéine R* • inconstant
- *protéine T* • 20 sérotypes différents
- *couche polysaccharidique* • polysaccharide C ou antigène de groupe
- *peptidoglycane*

■ substances élaborées :

- nombreuses et souvent antigéniques conduisant à la formation d'Ac pouvant servir au diagnostic sérologique

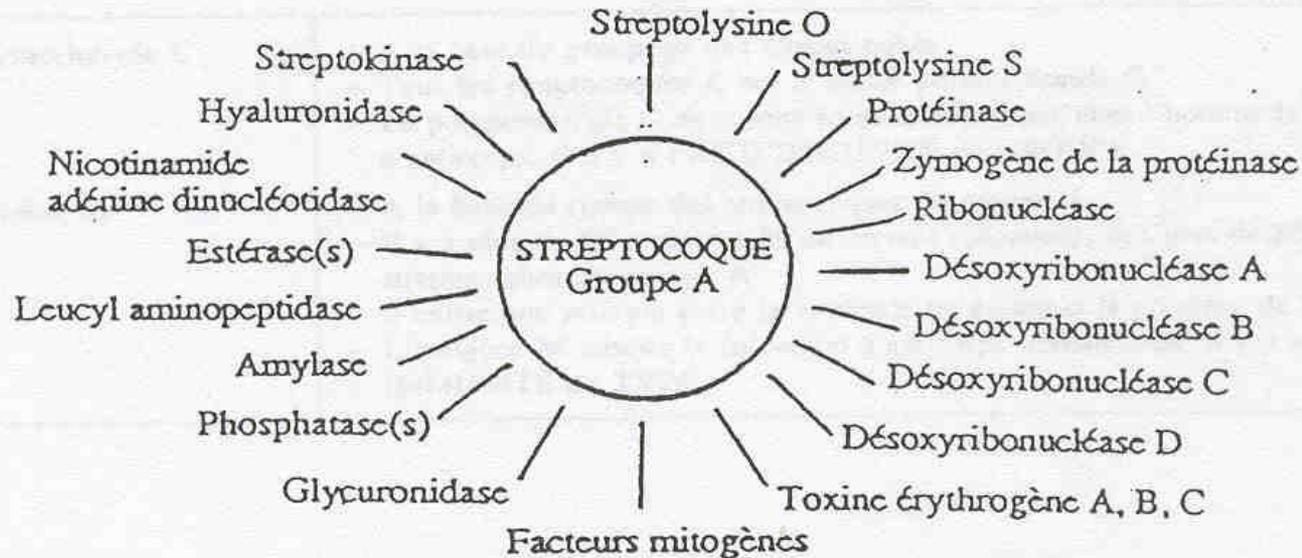


FIGURE 2  
COMPOSANTS EXTRACELLULAIRES LIBÉRÉS PAR LES STREPTOCOQUES  
DU GROUPE A

- Streptolysine O (SLO) hémolysine O<sub>2</sub> sensible, ne fonctionnant qu'en anaérobiose à activité cytotoxique / inhibition du chimiotactisme PN →

**ASLO**

- Streptolysine S (SLS) hémolysine O<sub>2</sub> stable également cytotoxique conduisant à l'hémolyse β

- Fibrinolysine ou Streptokinase (SK) active le plasminogène en plasmine →

**ASK**

- Hyalurodinase → **ASH**

- Désoxyribonucléases (DNases) de type A, B, C et D. La B étant toujours produite en grande quantité → **ADNase**

- Nicotinamide adénine nucléotidase → **ANADase**

- C<sub>5</sub>a-peptidase permet de cliver la fraction C<sub>5</sub>a du complément inhibant le chimiotactisme des PN

- Toxines érythrogyènes A, B et C exotoxines pyrogènes

- Habitat

- strictement humain

- Réservoir

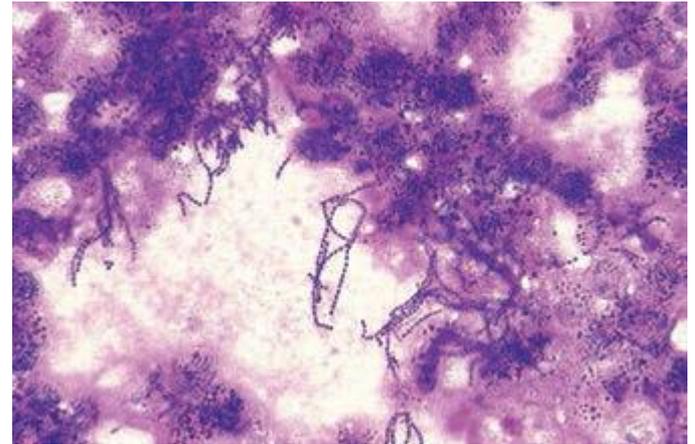
- pharynx de l'homme à partir duquel il peut coloniser la peau. Dans de rare cas, on a une colonisation du vagin

- les porteurs sains sont fréquents ~ 20 %

- transmission : strictement interhumaine

- directe essentiellement par gouttelettes provenant des voies aériennes supérieures et les lésions cutanées

- indirecte possible (aliment, air)



# Streptocoque A : pouvoir pathogène

- **Streptococcies cutanéomuqueuses**

- **muqueuses:**

*ORL* : angines érythémateuses

*Génitales* : vulvo-vaginites

- **cutanées:**

- *Scarlatine* : enfant de 5-10 ans, 2 à 3 jours après une infection aiguë comme une angine, fièvre élevée à 39-40°C avec éruption cutanéomuqueuse suivie d'une desquamation intense au bout d'une semaine. Symptômes régressent en 6 à 30 jours.



- érysipèle: dermo-épidermite aiguë consécutive à une infection localisée.

du **visage**

de la **jambe**



✓ non spécifique

- *Primaire* : • impétigo

• cellulites (hypoderme)

• fasciites nécrosantes



- *Secondaire* : surinfections de plaies, brûlures....

➤ **autres : rare**

- septicémies, suppurations profondes : pleuro-pulmonaires, ostéoarticulaires....

➤ **Syndrome de choc toxique streptococcique**

## ■ Complications post-streptococciques non suppurées

- 1 à 3 % des sujets non traités vont les présenter
- apparition 1 semaine à plusieurs mois après infection aiguë

### ➤ **Rhumatisme articulaire aiguë : le plus fréquent**

- 15 à 20 jours après une angine
- sérotype spécifique dits rhumatogènes
- antigénicité croisée entre les streptocoques A et des composants de l'endocarde et des synoviales

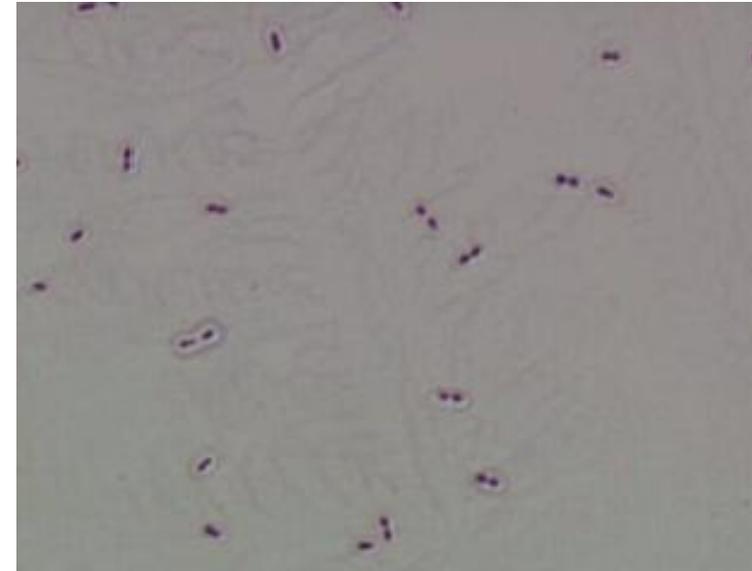
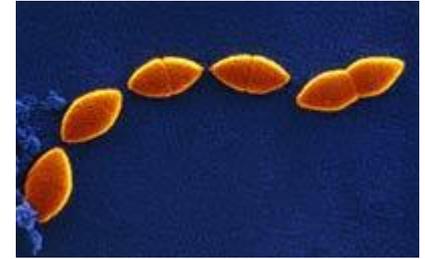
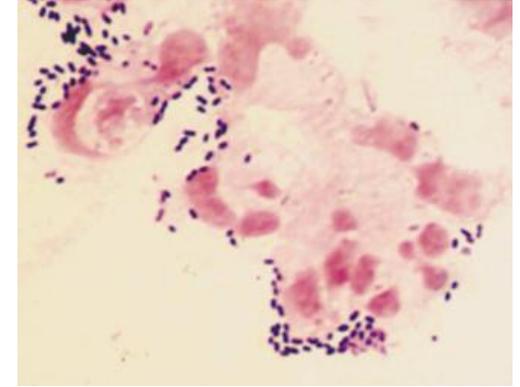
# *Streptococcus pneumoniae*

- *S. pneumoniae* appartient aux streptocoques du groupe *mitis* (Streptocoques oraux).
- *S. pneumoniae*, appelé pneumocoque, est une bactérie **capsulée**, commensale des voies aériennes supérieures.
- L'un des éléments majeurs de virulence du pneumocoque repose sur la **capsule**. Elle est constituée de macromolécules polyosidiques et, classiquement, seules les souches capsulées possèdent un pouvoir pathogène expérimental. La structure antigénique de la capsule permet un sérotypage des souches ; 93 sérotypes sont actuellement décrits.
- Le pneumocoque peut être responsable d'infections respiratoires hautes (otites moyennes aiguës, sinusites) ou basses (pneumonies), mais aussi d'infections invasives, bactériémies, pleurésies ou méningites. C'est la première cause de méningites en France.

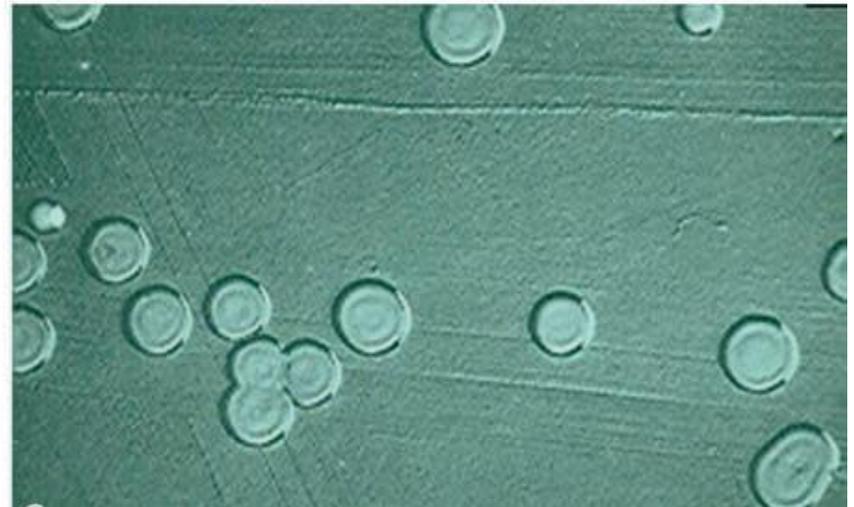
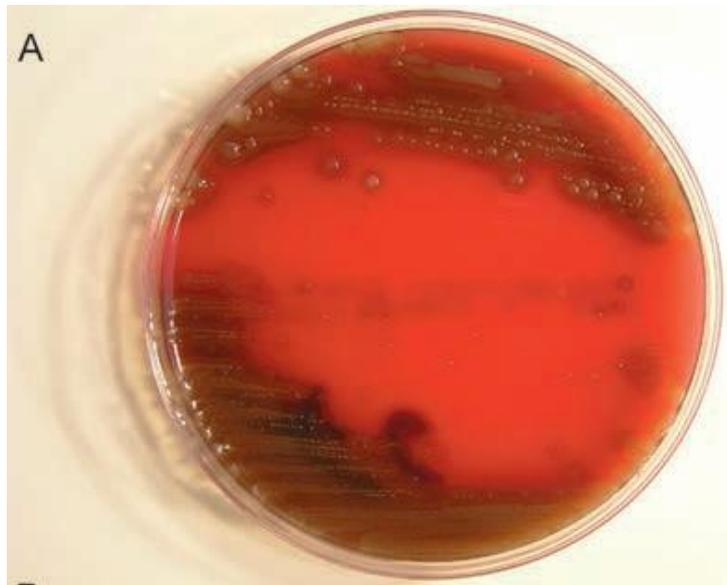
- **HABITAT**
- Commensal des voies aériennes supérieures (rhinopharynx)
- Germe essentiellement humain il est très rarement isolé chez les animaux.
- Colonisation: précoce : enfants < 2 ans
- Transmission aérienne, Il est fragile et survit peu dans le milieu extérieur

# • CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

- Cocci Gram positif (0.5 à 1  $\mu\text{m}$  )
- immobiles,
- en diplocoques
- ovoïdes, en flamme de bougie
- Capsulés
- anaérobie tolérant  $\text{O}_2$
- catalase / oxydase - ,  *$\alpha$ -hémolytique*
- Exigeant, fragile, sensible au froid et à la dessiccation



- Les colonies ont généralement une taille de 0,5 à 1,5 mm et sont entourées d'une  $\alpha$ -hémolyse ; elles sont opaques ou grisâtres, à bord régulier, et bombées.
- Les colonies en forme se creusent au centre sous l'action d'autolysines pour donner un aspect en anneau déprimé en son centre. Cette forme ombiliquée est spécifique du pneumocoque.
- Les souches de sérotype 3 donnent des colonies muqueuses du fait d'une exubérance de la capsule.



En bouillon nutritif, les pneumocoques ne peuvent survivre qu'en milieu glucosé tamponné ; sinon, la fermentation du glucose en acide lactique abaisse le pH, rendant le milieu hostile. La croissance du pneumocoque est granulaire, avec un surnageant limpide voire légèrement trouble.

culture à 37°C : • gélose sang → colonies « en roue de vélo »

• gélose chocolat → colonies verdâtres

• L'identification du pneumocoque repose sur la sensibilité à l'optochine (Ethyl hydrocupréine).

• Si une zone d'inhibition d'au moins 15 mm

• apparaît autour du disque, le test est alors

considéré comme positif (sensibilité).

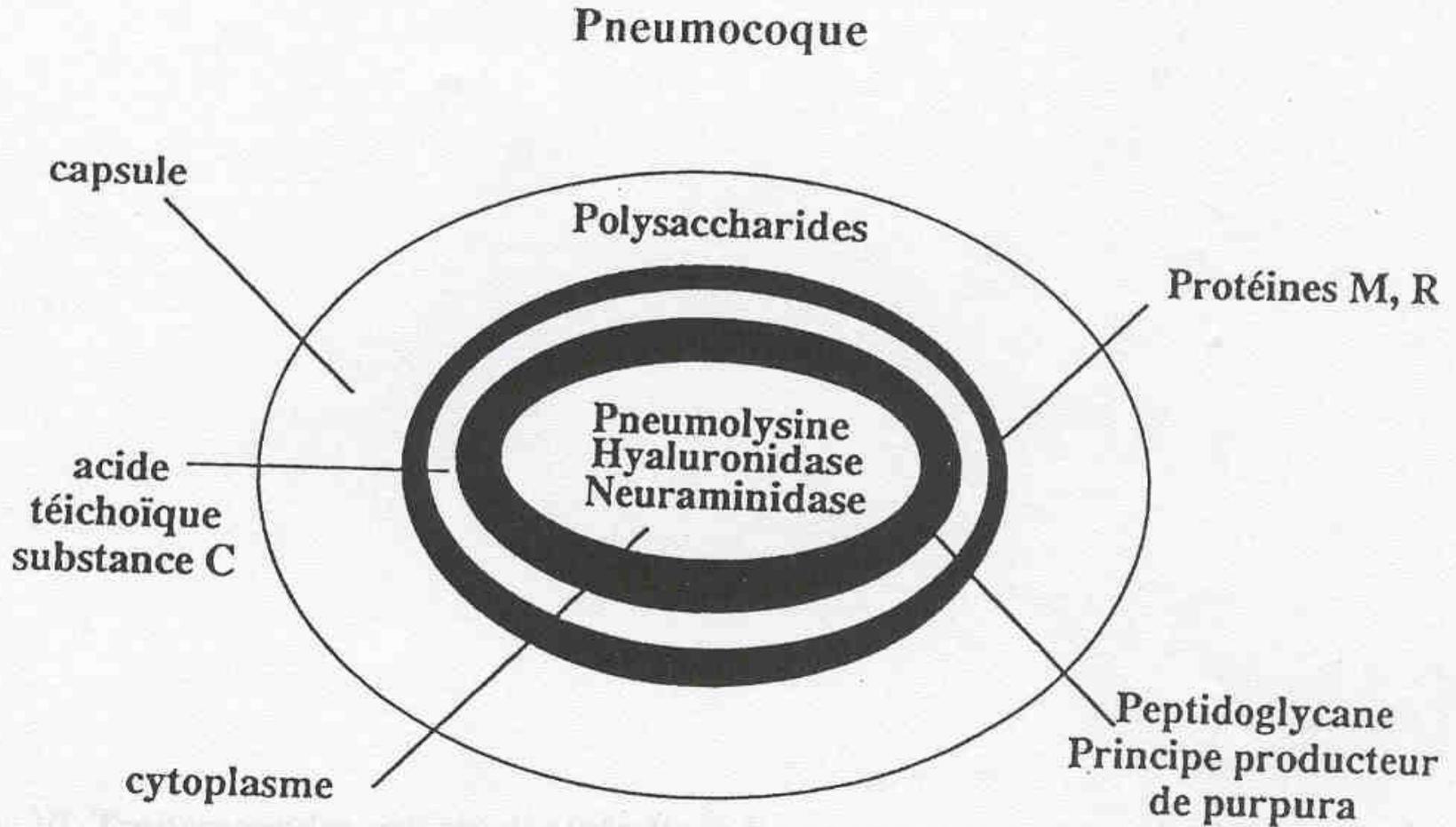
• Le pneumocoque est généralement sensible

à l'optochine, mais 5 % des souches peuvent être résistantes.



- Parmi les streptocoques, seuls les pneumocoques sont **solubles dans la bile**.
- Le test consiste à préparer une suspension dense à partir d'une culture pure de 18 heures sur gélose au sang. A 500 µl de cette suspension, ajouter deux gouttes d'une solution de desoxycholate de sodium à 10 %. Après 30 minutes à 37 °C, on note, en cas de positivité, un éclaircissement de la solution par comparaison avec une suspension témoin ou le desoxycholate de sodium est remplacé par une solution tampon (phosphate de potassium 1 M pH 8,0).
- En cas de doute, la biologie moléculaire peut permettre de confirmer rapidement l'identification de la souche. Les gènes cibles les plus usités sont le gène *lytA* de l'autolysine, le gène *pno* de la pneumolysine et le gène *capsA*.
- Après avoir porté le diagnostic d'espèce *S. pneumoniae*, on peut déterminer le sérotype selon la classification de Lund. Cela peut être effectué par agglutination avec des particules de latex sensibilisées avec des anticorps spécifiques de chaque sérotype ou par biologie moléculaire.

# Antigènes



# **Genre *Enterococcus***

# Caractères généraux

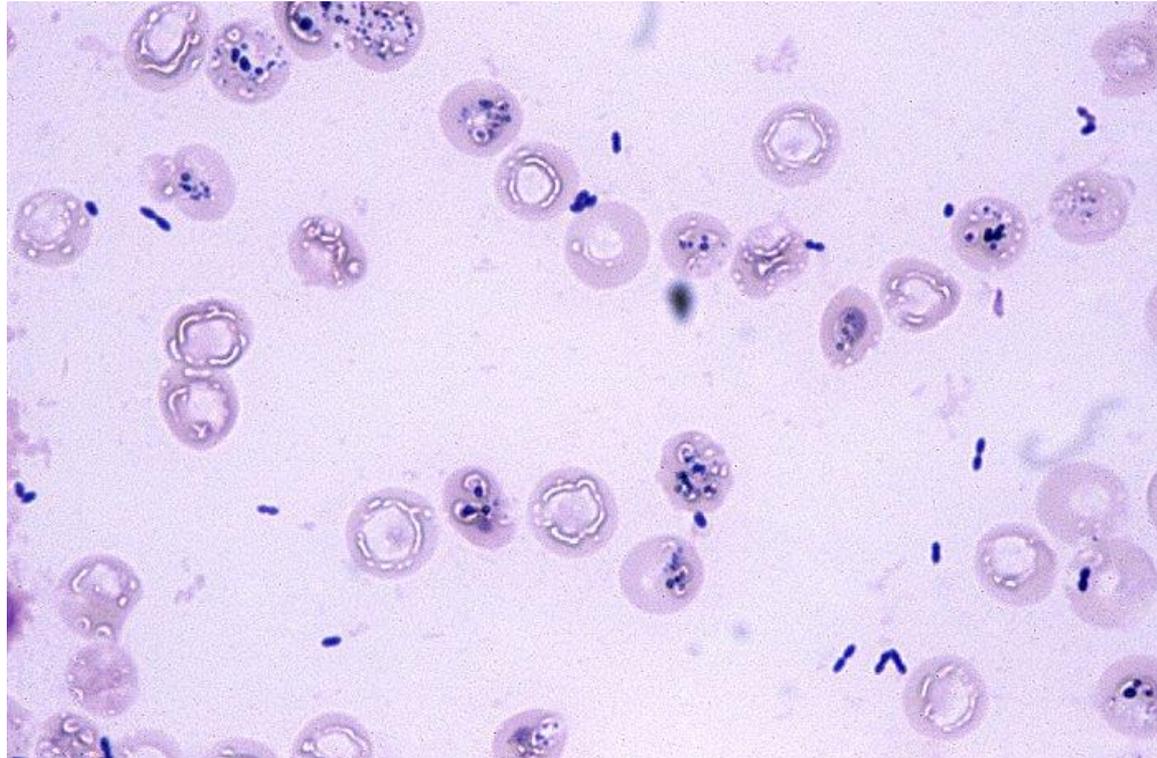
- **Bactérie ubiquitaire**
- **Commensaux de l'intestin Homme et animaux**
- **Cocci G+ ovoïdes, diplocoques, courtes chaînettes et plus gros que le pneumocoques**
- **Immobiles (sauf *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. flavescens*)**
- **Non sporulés**

- Anaérobie aéro-facultatif
- Catalase -
- Oxydase -
- Optimum thermique 35 °C
- Ag du groupe D de Lancefield (possède des acides lipotéichoïques dans le peptidoglycane qui donne une réaction croisée avec les Ag D);
- $\alpha$  ou non hémolytique, rarement  $\beta$ -hémolytique
  - *Gélose au sang mouton = jamais de  $\beta$ -hémolyse*
  - *Gélose au sang de cheval = possible  $\beta$ -hémolyse*

- Le genre *Enterococcus* comprend actuellement **54 espèces** (janvier 2016).
- Les principales espèces isolées chez l'homme sont *E. faecalis*, et *E. faecium*.
- Les entérocoques sont des **coccis à Gram positif**, un aspect ovoïde des cocci et une disposition préférentielle par paires ou courtes chainettes après 18 heures de culture en milieu liquide et une **catalase négative**.
- Ils se distinguent des streptocoques par leur croissance sur gélose ordinaire et dans des conditions hostiles : à **10 °C et à 45 °C, en milieu hypersalé, en présence de 40 % de bile et à pH 9,6**.
- Ils hydrolysent l'**esculine** en noircissant le milieu bile-esculine.
- La plupart des espèces produisent une **pyrrolidonyl arylamidase** et portent l'**antigène de groupe D** de la classification de Lancefield.
- Sur gélose au sang, les colonies sont le plus souvent larges (0,5 à 1,5 mm), blanches ou gris-blanc et non hémolytiques(Fig.).
- L'identification est fondée sur l'étude des caractères cultureux, biochimiques et antigéniques (Tableau 28.10).
- *E. faecalis* est caractérisé par sa **résistance au tellurite de potassium**.

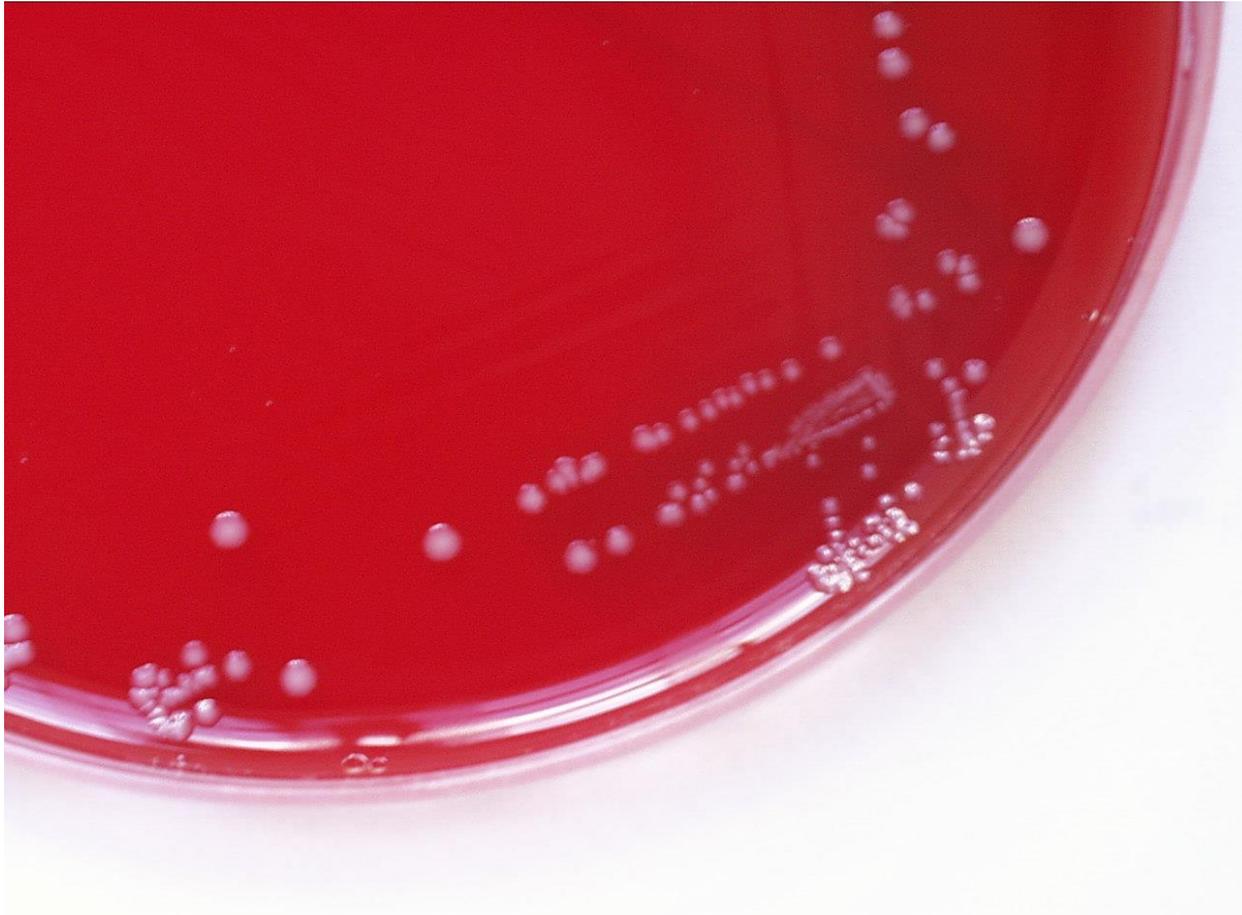
- **Habitat et pouvoir pathogène**
- Les entérocoques font partie de la flore normale de l'intestin de l'homme et des animaux.
- Ils peuvent, par contamination de voisinage, coloniser la peau, notamment la région périneale et le vagin.
- Les entérocoques sont également isolés de l'environnement (eaux et sol).
- Les entérocoques sont principalement responsables d'infections urinaires, d'infections intra-abdominales, de suppurations diverses (survenant après une exploration digestive, urologique, etc.).

- **Examen direct :**



- Culture :
  - milieux non sélectifs :
    - base Columbia 5% sang
    - parfois,  $\beta$ -hémolyse sur sang de cheval
    - **Colonies grises translucides**
  - milieux sélectifs :
    - bile esculine
    - bile esculine azide de Na
    - tellurite de K (*E. faecalis*) : colonies noires car résistant au tellurite de K

# Entérocoques sur gélose au sang



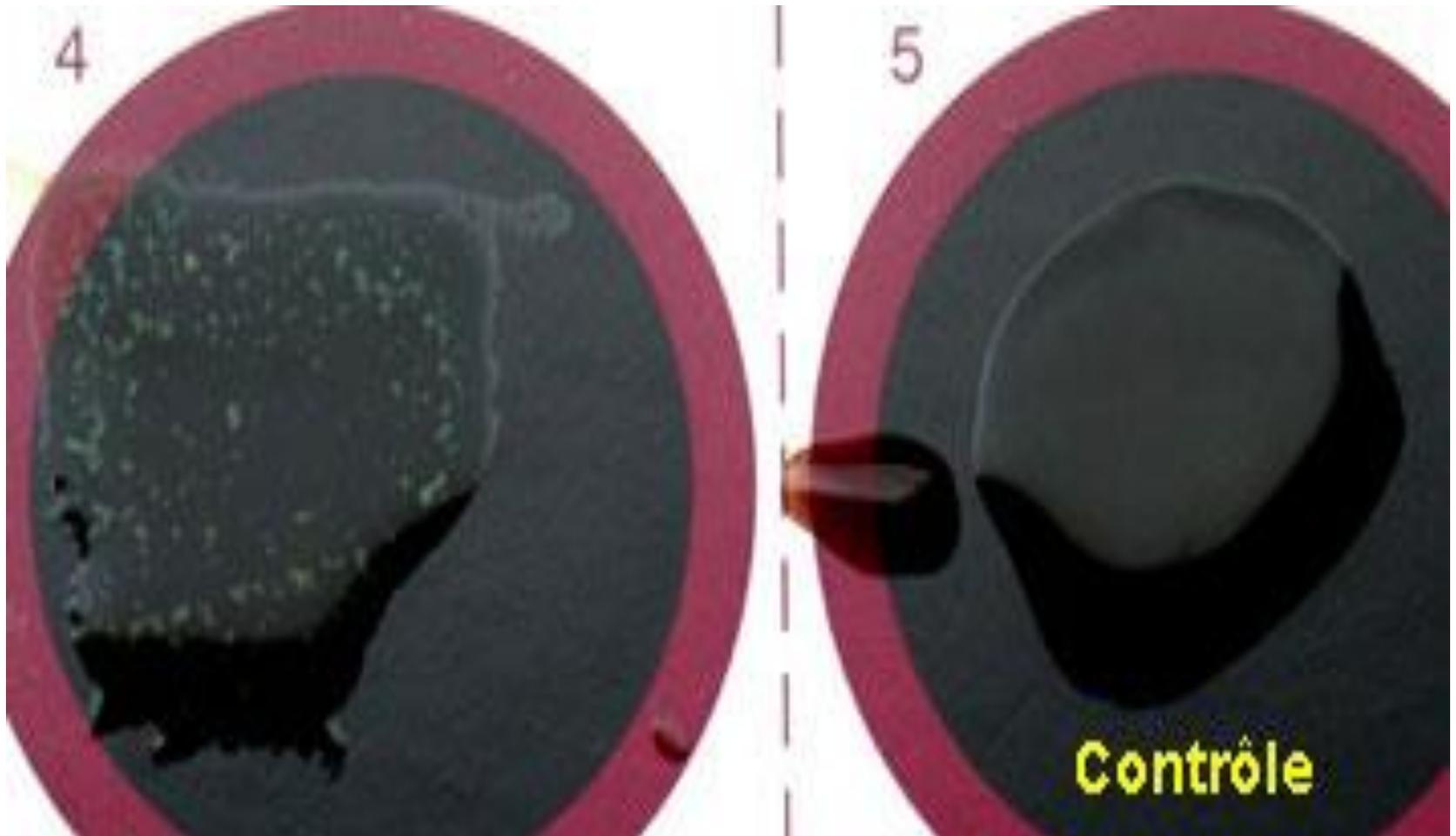
**Colonies grises translucides à bords + foncés**

# Entérocoques sur gélose TK



**Colonies noires résistantes au téllurite de K**

# GROUPAGE



- **Identification**

- groupe D de Lancefield

- biochimie :

- API Strep (24 h)

- ID32 Strep (4 h)

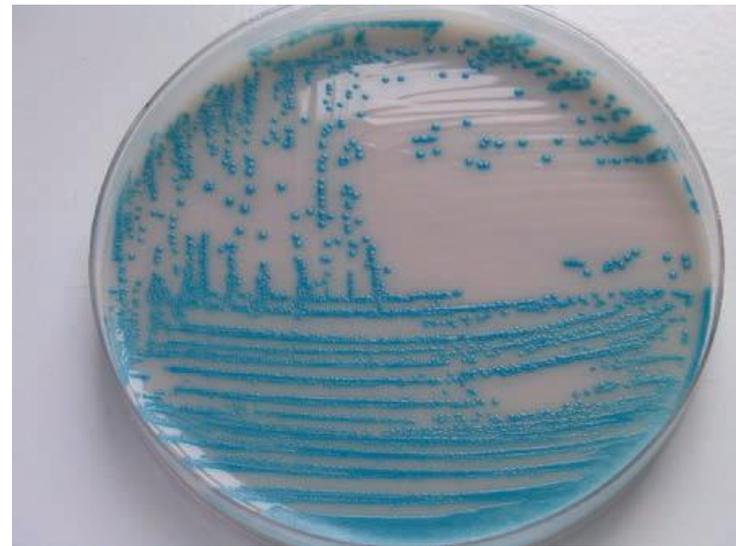
- Vitek 2

# Diagnostic différentiel avec Streptocoque du groupe D

## Streptocoques du groupe D

- Identification :
  - Petites colonies, non pigmentées,  $\alpha$  ou non hémolytique sur gélose au sang.
  - Ag du groupe D de Lancefield
  - Capacité de croissance sur milieu bile-esculine avec noircissement de la gélose:**idem** *entérocoque*
- Mais différence :
  - Streptocoques D on une **absence de croissance sur:**
    - **Milieu ordinaire**
    - **Milieu hypersalé au 10°C et 45°C.**
    - **Absence de production de PYRase**

	<b>CHROMagar Orientation® (BD)</b>	<b>CPS ID 3® (bioMérieux)</b>	<b>UriSelect 4® (Biorad)</b>	<b>(Biorad) UTI® (Oxoid)</b>
<i>Enterococcus</i> sp. (bêta-glucosidase +)	Colonies bleu-vert à turquoise de petite taille	Colonies bleu à turquoise de petite taille et l'examen microscopique montrant des cocci. N.B. : si une des conditions n'est pas remplie, identifier le germe par la méthode classique	Colonies bleu-turquoise franc, brillant, de petite taille, et l'examen microscopique montrant des cocci N.B. : si une des conditions n'est pas remplie, identifier le germe par la méthode classique	Colonies bleu turquoise



**Figuree1: Résultat d'une culture d'*Enterococcus faecalis* sur CHROMagar® Orientation (BD) à gauche et sur milieu Uriselect® (Biorad) à droite.**



**Colonies d'*Enterococcus faecalis* sur gélose au sang.**



**Résultats du milieu à l'esculine.**  
À gauche, tube ensemencé avec une bactérie esculine négative. À droite, tube ensemencé avec une souche esculine positive (*Enterococcus faecalis*).

# Demarche diagnostique

- **Prélèvements : sites d'isolement multiples**
  - urine, sang, plaies opératoires, liq. péritonéal,
- **Transport des prélèvements**
- Il est préférable d'acheminer le prélèvement au laboratoire le plus rapidement possible avec un délai ne dépassant pas 2 heures.

- **Diagnostic rapide directement à partir du prélèvement**
- la détection d'antigènes ou d'ADN bactérien directement sur le prélèvement biologique.
- Pour le diagnostic de l'angine à *S. pyogenes*, des tests de diagnostic rapide (TDR) sont commercialisés afin de rendre accessible le diagnostic au lit du patient. Le principe des TDR repose sur la détection directe du polyoside C de *S. pyogenes* à partir d'un écouvillonnage pharyngé par une technique d'immunochromatographie.
- Le temps global de réalisation d'un TDR varie de 5 à 7 minutes. La plupart des TDR permettent la détection de *S. pyogenes* à une concentration de  $10^6$  UFC/ml.
- Un test immunochromatographique pour la détection du polyoside C spécifique de *S. pneumoniae* a également été développé. Ce test est validé sur le LCR en cas de suspicion de méningite ou sur les urines.

- **Examen microscopique direct**
- Un examen cyto bactériologique, avant coloration, est réalisé sur des échantillons de LCR, d'urines, d'épanchement liquidien pleural, péritoneal, articulaire ou à partir des cultures positives en milieu liquide (flacons d'hémocultures, bouillon d'enrichissement).
- L'observation à l'état frais révélera alors la présence d'éléments sphériques ou coccoïdes immobiles et asporulés, de diamètre inférieur à 2  $\mu\text{m}$ , regroupés en diplocoques ou en chaînettes de longueur variable.
- En parallèle, des frottis des échantillons prélevés sont réalisés et colorés. Ils permettent d'observer la présence de cellules (polynucléaires neutrophiles et/ou cellules épithéliales) et de bactéries dont on apprécie l'abondance, l'aspect et la localisation intracellulaire éventuelle.
- La présence de cocci à Gram positif disposés en diplocoques ou en chaînettes plus ou moins longues évoque les streptocoques ou les entérocoques.
- Cet examen direct oriente le diagnostic étiologique et permet le choix de milieux de culture enrichis et de milieux sélectifs en cas d'une flore polymorphe associée.

- **Isolement et cultures**

- Milieux de culture

- A la différence des entérocoques, les streptocoques sont des bactéries relativement exigeantes sur le plan nutritif, se développant sur des milieux gélosés enrichis tels que les milieux Columbia au sang.
- Certains auteurs recommandent d'utiliser un milieu au sang de cheval qui permettrait une meilleure expression de l'hémolyse. La concentration en sang pouvant modifier l'expression et la qualité de l'hémolyse, une concentration de 5 % est donc recommandée.
- Certaines espèces sont sensibles aux variations de pH et nécessitent donc d'être cultivées dans des milieux tamponnés comme le bouillon glucosé tamponné ou le bouillon Todd-Hewitt.
- Il est parfois nécessaire d'avoir recours à des milieux sélectifs pour éliminer une flore associée non pathogène ou une flore altérant les caractéristiques culturales des streptocoques. Ainsi, le milieu ANC (type Columbia additionné d'acide nalidixique et de colimycine) inhibe la croissance des bactéries à Gram négatif et le milieu à l'azide de sodium et au cristal violet inhibe la croissance des bactéries à Gram négatif et des staphylocoques.

- Les streptocoques et les entérocoques ont un métabolisme anaérobie mais la plupart tolèrent l'O<sub>2</sub> et peuvent être cultivés en aérobiose in vitro.
- La croissance et l'expression du caractère hémolytique sont favorisées par une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> ou en anaérobiose à une température optimale de 35 à 37 °C.

- **Cultures et qualité de l'hémolyse**

- Après 24 heures d'incubation à 37 °C sur une gélose au sang, les streptocoques se présentent sous la forme de colonies rondes à bords nets, convexes, pouvant être entourées d'une zone hémolytique dont il existe trois aspects différents.

- **Les colonies  $\beta$ -hémolytiques** sont entourées d'une zone claire à bords nets correspondant à une **hémolyse totale**.

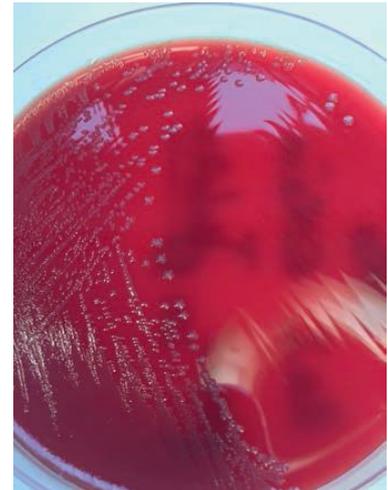


- Les colonies  **$\alpha$ -hemolytiques** sont entourées d'une zone verdâtre à bords mal limités, due à une dégradation incomplète de l'hémoglobine.

- Enfin, certaines espèces de streptocoques ne présentent aucun hémolyse sur gélose au sang ; on parle de streptocoques non hémolytiques.



- Les streptocoques oraux forment des colonies punctiformes de 0,1 a 0,5  $\mu\text{m}$  de diamètre, souvent entourées d'une  $\alpha$ -hémolyse.
- Les entérocoques forment des colonies blanches le plus souvent non hémolytiques sur gélose au sang. Ils cultivent également sur les milieux **non enrichis** (géloses ordinaires).



- **Tests d'identification**
- Détermination de l'antigène du groupe de Lancefield (sérogroupe) et sérotypage
- La classification de Lancefield repose sur les caractères antigéniques des polyosides de la paroi. Le « polyoside C » permet la caractérisation antigénique des streptocoques  $\beta$ -hémolytiques des groupes A, B, C, F et G par une technique rapide d'agglutination sur lame (voir Fig. 28.11).
- Différents kits sont commercialisés afin de déterminer le sérogroupe des principaux streptocoques rencontrés en pathologie humaine (A, B, C, D, F et G).
- L'existence d'une capsule ou la présence de résidus polyosidiques à la surface de la paroi bactérienne ont permis l'établissement d'une classification sérologique pour *S. pneumoniae*, *S. agalactiae* et *S. suis*.

- **Tests d'orientation**

- L'identification des streptocoques et des entérocoques repose sur la mise en évidence d'un ensemble de caractères physiologiques et biochimiques.

- **Recherche de la pyrrolidonyl arylamidase (PYR)**

- *S. pyogenes*, et les entérocoques possèdent une **pyrrolidonyl arylamidase** dont le principal substrat est le L-pyrrolidonyl- $\beta$ -naphthylamide (PYR). L'hydrolyse du PYR libère la  $\beta$ -naphthylamine qui peut être détectée par le N,N-diméthylaminocinnamaldehyde.

- Ces réactifs, commercialisés sous forme de kit, permettent en quelques minutes d'identifier une souche de streptocoque  $\beta$ -hémolytique comme *S. pyogenes*, de différencier une souche d'entérocoque d'une souche de streptocoque du complexe *S. bovis/S. equinus*.

- **Sensibilité à l'optochine et résistance à la vancomycine**
- L'étude de la sensibilité à l'optochine permet de différencier les pneumocoques (sensibles) des autres streptocoques oraux après incubation en atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>.
- La résistance à la vancomycine permet d'orienter l'identification vers les espèces des genres *Leuconostoc*, *Pediococcus* ou *Weissella*.

- **Tests de résistance à la bile et d'hydrolyse de l'esculine**
- Ce test permet essentiellement de reconnaître les streptocoques du complexe *S. bovis/S. equinus* et les entérocoques.
- L'obtention d'une culture sur milieu bile-esculine avec noircissement de la gélose met en évidence la positivité du test.
- **Tolérance au milieu hypersalé (NaCl à 6,5 %)**
- L'aptitude d'une souche de streptocoque à se développer sur milieu hypersalé (6,5 % de NaCl) permet essentiellement de différencier les entérocoques des streptocoques du complexe *S. bovis/S. equinus*. La plupart des entérocoques se développent facilement en 24 heures sur milieu hypersalé.