

INTRODUCTION

Les infections respiratoires aiguës (rhinopharyngites, sinusites, otites, angines, bronchites, pneumopathies) restent à l'heure actuelle les affections les plus fréquentes chez l'enfant de moins de 2 ans et les personnes âgées de plus de 60ans.[51]

Le pneumocoque constitue l'origine bactérienne majeur responsable de ces infections respiratoires aiguës, et serait dans les pays industrialisés la première cause de mortalité d'origine infectieuse (25% en cas de septicémie et 15% en cas de pneumopathie) ceci en dépit d'une antibiothérapie adaptée d'où la gravité de ces infections .[92,41,51]

Les infections respiratoires aiguës constituent un véritable problème de santé publique avec des retentissements sociaux individuels et collectifs importants . Elles sont la cause de 30 à 40% des hospitalisations et de 10% du taux de morbidité et de mortalité .[9]

Cependant, la fréquence, la gravité et /ou la mortalité de ces infections à pneumocoque (*Streptococcus pneumoniae*) traduisent des difficultés de prise en charge de ces infections. Ces difficultés sont liées à l'émergence et la propagation dans diverses régions du monde ces dernières années de souches multi résistantes de *Streptococcus pneumoniae* aux bêta-lactamines et aux macrolides du fait de l'utilisation croissante irrationnelle d'antibiotiques [39 ,58,42,75,80,110], mais sont liées également aux difficultés d'identification microbiologique formelle du germe incriminé du fait de l'existence dans les produits pathologiques (prélèvements rhinopharyngés et expectorations surtout) de germes semblables de la flore commensale.

De ce fait ,l'incidence croissante des souches multi résistantes limite de plus en plus les possibilités d'antibiothérapie,ce qui conduit à la recherche de nouvelles alternatives au traitement probabiliste .

Donc face à ces difficultés ,plusieurs études ont été menées ces dernières années afin de pouvoir surveiller l'évolution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques.

Notre étude s'inscrit dans ce cadre et avait pour objectifs spécifiques :

- d'identifier de façon formelle *Streptococcus pneumoniae*
- étudier le profil de sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* aux bêtalactamines et aux macrolides
- faire une étude comparative entre l'évolution des souches isolées à Dakar et celles isolées au Maroc.

PREMIERE PARTIE :ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I – RAPPELS SUR LES STREPTOCOQUES

I-1 - DEFINITION

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif groupés par paires, chaînettes ou tétrades. Ils sont immobiles, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, dépourvus de catalase et d'oxydase. Ils ne réduisent pas les nitrates et sont résistants aux aminosides.

Les diverses espèces de streptocoques sont regroupées dans la famille des *Streptococcaceae* qui comporte sept genres :

- ✚ *Streptococcus* (genre-type) et *Enterococcus*, fréquemment rencontrés en médecine humaine ;
- ✚ *Aerococcus*, *Gemella*, *Leuconostoc*, bactéries opportunistes rares en médecine humaine ;
- ✚ *Lactococcus* et *Pediococcus* non pathogènes.

Récemment (en 1995), le genre *Abiotrophia* a été décrit. Il regroupe deux espèces : *A. defectiva* et *A. adiacens*, antérieurement rangées avec les streptocoques.

I-2 - CLASSIFICATION DES STREPTOCOQUES

Les streptocoques ne sont pas classés sur des critères cliniques ou de pathogénicité, car la plupart des espèces (commensales ou pathogènes) peuvent être responsables d'infections réalisant des aspects cliniques très différents.

Par conséquent, la classification des streptocoques est basée sur des critères bactériologiques.

I-2-1 – Critères de classification

On distingue :

Le pouvoir hémolytique

- Hémolyse incomplète : streptocoques alpha-hémolytiques,
- Hémolyse complète : streptocoques bêta-hémolytiques,
- Pas d'hémolyse : streptocoques non hémolytiques.

L'équipement antigénique : classification de LANCEFIELD

Un antigène de la paroi, le polyside C, permet de définir plusieurs groupes : A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O, P, R, S, T, U, V.

Certains streptocoques dépourvus de polyside C sont dits "non groupables".

Les caractères biochimiques

Ils permettent d'individualiser les espèces dans le genre : *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus bovis*, etc...

Ces classifications ne sont pas superposables ; toutefois, les caractères phénotypiques peuvent permettre en routine de classer et d'identifier la plupart des streptocoques.

I-2-2 – Classification en ensembles et sous-ensembles

Actuellement, on classe les streptocoques en "**ensembles**" et "**sous-ensembles**", ce qui n'est guère en conformité avec les règles de la taxonomie bactérienne.

Ainsi, on distingue :

Les streptocoques pyogènes

Cet ensemble comprend plusieurs sous-ensembles :

- *Streptococcus pyogenes*, espèce-type du genre : c'est le streptocoque bêta-hémolytique du groupe A ;
- *Streptococcus agalactiae* : streptocoque bêta-hémolytique du groupe B ;
- les streptocoques bêta-hémolytiques des groupes C, G ou L ;
- les souches non hémolytiques d'origine animale.

Les streptocoques du groupe D

On retrouve dans cet ensemble trois espèces commensales du tube digestif de l'homme :

- *Streptococcus bovis*, le plus fréquemment isolé ;
- *Streptococcus equinus* ;
- *Streptococcus alactolyticus*.

Les streptocoques oraux

On y distingue six sous-ensembles. Ce sont ceux dénommés autrefois streptocoques *viridans*. Ils sont pour la plupart, alpha-hémolytiques, non hémolytiques ou non groupables. Parmi eux, *Streptococcus pneumoniae*.

Les streptocoques non classés.

Dépourvues d'antigène de groupe, ce sont des bactéries commensales de l'homme, présentes de façon prédominante dans la cavité buccale, jouant un rôle dans la genèse de la carie dentaire (*S.mutan*). Ils font aussi partie de la flore normale de l'intestin, de la peau et des voies génitales. On distingue comme espèce : *S.mitis* , *S.sanguis* et *S.milleri* .

II – *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

II-1 – HISTORIQUE [1]

Streptococcus pneumoniae fut isolé pour la première fois par Louis PASTEUR en 1881, de la salive d'un enfant mort de la rage ; il l'appela "microbe septique de la salive".

En 1883, TALAMON isola ce germe dans les crachats rouillés des pneumoniques et l'appela "coccus lancéolé de la pneumonie". La description de cette espèce fut réalisée par FRAENKEL et WEICHSELBAUM en 1886.

En 1910, différents types sérologiques furent découverts et permirent l'emploi d'antisérums spécifiques. Ces derniers constituent le premier traitement efficace de la pneumonie à pneumocoque.

En 1923, GRIFFITH observa que le pneumocoque virulent possédait une capsule donnant aux colonies un aspect lisse ou smooth (S) ; la perte héréditaire de la capsule entraînait la perte de la virulence et les colonies prenaient un aspect rugueux ou rough (R).

En 1928, ce même auteur montra qu'une souche R de *S. pneumoniae* non capsulée et non pathogène pour la souris, pourrait être transformée en une souche S capsulée et pathogène.

En 1944, MAC LEOD et MAC CARTHY montrèrent *in vitro* que l'ADN est le facteur transformant chez les pneumocoques.

La transformation de *S. pneumoniae* constitue la première description de transfert génétique chez les bactéries ; c'est ainsi que fut établi le rôle de l'ADN en tant que support chimique de l'hérédité, ouvrant ainsi la voie à la biologie moléculaire.

II-2 – CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

II-2-1 - Caractères morphologiques

A l'examen microscopique, le pneumocoque présente un aspect de diplocoque en flamme de bougie, en "8" ou en courtes chaînettes, Gram positif. Les formes virulentes sont capsulées.

Cependant, l'aspect n'est pas toujours évocateur. Par exemple, si l'environnement est carencé en magnésium ou en présence d'anticorps dirigés contre le sérotype capsulaire, on peut observer des chaînettes relativement longues. Dans certains cas, si le malade est sous traitement, les pneumocoques peuvent prendre un aspect pseudo-bacillaire.

Dans certains produits pathologiques fibrineux et dans les cultures anciennes, le pneumocoque prend mal le Gram et peut apparaître Gram négatif.

La capsule est généralement visible dans les produits pathologiques, mais elle est parfois plus discrète, et particulièrement belle après inoculation à l'animal sensible (souris).

II-2-2 - Caractères cultureux

Milieux de culture

On utilise des milieux nutritifs riches comme par exemple la gélose au sang de mouton ou de cheval à 5%.

L'addition de gentamicine à la concentration de 6 µg/ml rend le milieu sélectif au pneumocoque. [3]

Conditions de culture

La culture du pneumocoque peut être réalisée à une température comprise entre 25 et 42°C et à des pH situés entre 6,5 et 8,3. En routine, on cultive le germe en 24 à 48 heures, entre 35 et 37°C. Le pH optimal est de 7,8.

Ce germe nécessite des conditions d'anaérobiose ou tout au moins une atmosphère enrichie en CO₂ à 5%.

Aspect macroscopique des colonies

Les pneumocoques se présentent sous forme de petites colonies transparentes, rondes, de 0,5 à 1,5mm de diamètre. Ils développent une hémolyse de type alpha avec un verdissement du milieu, comme les streptocoques *viridans*.

Les pneumocoques en culture sont sujets à une autolyse spontanée ; une ombilication au centre de la colonie correspond à un début d'autolyse.

Les colonies ont un aspect muqueux lorsque la capsule est de grande taille. Des colonies rugueuses, d'aspect ridé, sont rarement observées ; elles sont formées par des souches non capsulées.

II-2-3 - Caractères biochimiques

Le pneumocoque ne possède ni catalase, ni peroxydase, ce qui induit l'accumulation de l'eau oxygénée responsable en partie de son autolyse.

La mise en évidence d'activités enzymatiques, de la fermentation de sucres et de la croissance en milieu hostile, à l'aide de microméthodes, permet l'identification de *Streptococcus pneumoniae* et le diagnostic différentiel avec d'autres espèces de streptocoques.

Les caractères biochimiques de *Streptococcus pneumoniae* sont présentés dans le tableau I.

Tableau I : Caractères biochimiques de *Streptococcus pneumoniae* [67]

Test	VP	ES C	ADH	BH S	ARA	MAN	SO R	TR E	RA F	SO S	IN U	LA C	RIB	AM I	GLY
Résultat	-	-	d	-	-	-	-	+	+	d	d	+	-	-	d

VP : réaction de Voges-Prokauer

RAF : Raffinose

ADH : Arginine dihydrolase

SOS : Sorbose

ESC : esculine

INU : Inuline

ARA : L-Arabinose

LAC : Lactose

BHS : bouillon hypersalé

RIB : Ribose

MAN : Mannitol

AMI : Amidon

SOR : Sorbitol

GLY : Glycérol

TRE : Tréhalose

(-) = Caractère négatif (0 – 25 % des souches)

(+) = Caractère positif (71 – 90 % des souches)

(d) = Caractère variable (26 – 70 % des souches).

II-2-4 - Identification formelle

L'identification formelle des pneumocoques repose sur trois critères :

- la sensibilité à l'optochine ;
- la lyse par la bile ;
- la mise en évidence d'une capsule.

L'inoculation à l'animal sensible permet également de mettre en évidence avec certitude *Streptococcus pneumoniae*.

Sensibilité à l'optochine (éthylhydrocupréine)

L'optochine est un dérivé proche de la quinine.

Des disques de 6mm de diamètre sont chargés de 5µg d'optochine, dose calculée pour provoquer sur une culture de pneumocoque sur gélose au sang, une zone d'inhibition dont le diamètre est compris entre 12 et 35mm.

Les autres streptocoques sont résistants à l'optochine et se multiplient jusqu'au contact du disque.

Cependant, 0,5 à 5% des pneumocoques sont résistants à l'optochine et quelques streptocoques viridans sont sensibles à l'optochine [1].

Il convient donc d'être nuancé et de tenir compte du diamètre de la zone d'inhibition : la plupart des pneumocoques en phase S (smooth) ou R (rough) ont un diamètre d'inhibition supérieur à 15-20mm. Pour un diamètre inférieur à 15mm, il est nécessaire de pratiquer des tests complémentaires.

La lyse par la bile ou phénomène de NEUFELD

A pH neutre, les pneumocoques provenant d'une culture en bouillon et mis en suspension dans de l'eau stérile, sont lysés par une solution de désoxycholate de sodium de 2 à 10%. La lyse se traduit par un éclaircissement du milieu en quelques minutes. Selon les auteurs, 86 à 100% des pneumocoques sont lysés par la bile.

La sensibilité à l'optochine et la lyse par les sels biliaires sont spécifiques des pneumocoques et peuvent être utilisées pour les colonies en forme lisse. Pour les souches rugueuses (dépourvues de capsule), le seul test utilisable est la sensibilité à l'optochine.

Mise en évidence de l'antigène capsulaire

Elle s'effectue à l'aide d'un sérum antipneumococcique polyvalent, dirigé contre tous les types capsulaires. La réaction peut s'effectuer, soit à partir de cultures, soit à partir de produits pathologiques.

Il existe plusieurs méthodes :

- réaction du "gonflement capsulaire" ou réaction de NEUFELD.
Cette technique est aussi la méthode de choix utilisée pour le sérotypage des pneumocoques.

- réactions d'agglutination :
 - * agglutination de particules de latex sensibilisés ;
 - * coagglutination (COA) avec des staphylocoques tués ; [18]
 - * contre-immuno-électrophorèse (CIE) . [22]

Inoculation à l'animal sensible

Les souris et les lapins sont hautement sensibles à l'infection par les pneumocoques. La méthode de choix utilise l'inoculation intra péritonéale à une souris jeune (12 à 14g). Celle-ci meurt en 24-48 heures à la suite d'une péritonite aiguë et bactériémie.

Cependant, 5% des souris inoculées survivent pendant une période plus longue, et dans ce cas, il faut les sacrifier au plus tard 96 heures après l'infection.

Les pneumocoques sont ainsi isolés en culture pure dans l'hémoculture.

II-3 – Facteurs de virulence et pouvoir pathogène

II-3-1 – Le portage asymptomatique

Les pneumocoques sont des commensaux des voies respiratoires supérieures (nasopharynx) de l'homme et des animaux.

Le portage est inversement proportionnel à l'âge et au titre des anticorps anticapsulaires de l'hôte. Le statut immunitaire de l'hôte est aussi un facteur important dans la prévalence et la durée du portage. [45]

II-3-2 – Facteurs de virulence

La capsule

La plupart des souches de *Streptococcus pneumoniae* possèdent des capsules recouvrant la paroi cellulaire, et constituées de polysides spécifiques de type. Ainsi, 84 sérotypes de pneumocoques ont pu être identifiés.

La capsule a été reconnue depuis longtemps comme le facteur de virulence des pneumocoques. En effet, elle agit par diminution de l'opsonisation et de l'ingestion des pneumocoques par les cellules phagocytaires : en recouvrant les structures pariétales capables de fixer les fragments C3b du complément, elle empêche ces derniers de se fixer sur les récepteurs (CR1 et CR3) des cellules phagocytaires.

Les formes rugueuses ne possèdent pas de capsule ; elles ne sont pas virulentes.

La pneumolysine

Hémolysine intracellulaire libérée par autolyse, la pneumolysine est responsable de l'hémolyse alpha observée sur gélose au sang. Elle est élaborée par toutes les souches isolées de pneumocoques [20]. C'est une toxine thiol-activable, produite au cours des infections pneumococques *in vivo*.

Sa pathogénicité et sa virulence ont été démontrées. [15 , 38]

Elle agit par deux modes d'action :

- par une activité toxique cellulaire liée à l'activation du complément [4]. Cette activation pourrait être associée à la libération de fragments anaphylactogènes (C3a et C5a) conduisant à l'influx, et à l'activation de polynucléaires sans capacité d'ingestion des pneumocoques ;
- par une modification de la fonction de certaines cellules du système immunitaire : phagocytes, lymphocytes T et B . [85]

La pneumolysine provoque également une diminution des battements ciliaires des cellules épithéliales.

La protéine A de surface

Elle est présente sur la majorité des souches de *Streptococcus pneumoniae*.

Le gène de cette protéine a été cloné, et l'injection des mutants entraîne une mortalité très retardée par rapport à celle des souches isogéniques sauvages.

La protéine A de surface lie le facteur H du système complémentaire, qui est une protéase active sur le composé C3 du complément.

II-3-3 – Pouvoir pathogène naturel

Les pneumocoques sont responsables d'infections très sévères à tous les âges, avec une incidence élevée chez les enfants de moins de deux ans et les sujets de plus de soixante ans.

La pneumonie franche lobaire aiguë est la plus classique des pneumococcies ; elle cède bien aux traitements antibiotiques mais reste redoutable chez le sujet âgé ou immunodéprimé.

Parfois l'infection respiratoire à pneumocoques est une bronchite catarrhale grave chez le nourrisson (bronchite capillaire), le vieillard ou l'immunodéprimé. Les séreuses peuvent être infectées : pleurésie avec risque d'empyème, péricardite, synovite ou péritonite.

Les pneumocoques sont également responsables d'infections ORL (otites, mastoïdites, sinusites) mais aussi d'angines, pharyngites ou laryngites. Ces infections sont plus fréquentes chez l'enfant.

La bactérie peut atteindre les méninges par contiguïté ou par voie hématogène provoquant une méningite purulente d'évolution souvent sévère ou compliquée par la survenue de cloisonnements de l'espace sous-arachnoïdien.

Le pouvoir pathogène des pneumocoques dépend de la présence de la capsule qui les rend résistants à la phagocytose.

III- Infections respiratoires aiguës à pneumocoques

III-1- L'appareil respiratoire [66]

L'appareil respiratoire est constitué des voies aériennes basses et celles hautes.

- Les voies aériennes hautes comprennent les fosses nasales, le larynx et la cavité oropharyngée. Elles sont en communication avec le sinus osseux du massif craniofacial, ainsi qu'avec l'oreille moyenne, par la trompe d'Eustache. L'ensemble est également désigné sous le terme de sphère Oto-Rhino-Laryngologique ou sphère O. R. L.
- Les voies aériennes basses sont formées par la trachée artère, les bronches et le parenchyme pulmonaire.

III-2- Les principales infections respiratoires aiguës

III.2.1. Les rhinopharyngites [5,65]

La rhinopharyngite se définit comme une atteinte inflammatoire de l'étage supérieur du pharynx avec participation nasale. Elle associe une rhinorrhée, de la fièvre et la toux. La rhinorrhée d'aspect purulente et la fièvre ne sont pas synonymes d'infection bactérienne. La rhinopharyngite aiguë est la pathologie infectieuse la plus fréquente du nourrisson et de l'enfant entre 6 mois et 8 ans. Les virus sont de loin les principaux agents pathogènes surtout rhinovirus (50%) et coronavirus (20%). Mais ceux-ci entraînent une diminution des mécanismes de défense locaux non spécifiques de l'appareil muco-ciliaire de la muqueuse respiratoire favorisant ainsi une prolifération bactérienne.

III.2.2. *Les angines* [19, 65,30]

Ce sont des infections fréquentes chez l'adulte et chez l'enfant. Elles sont dues à l'inflammation des amygdales palatines. Les amygdales constituent ainsi une zone de contact avec les germes du milieu extérieur, notamment chez l'enfant au cours de l'acquisition des défenses immunitaires. La survenue d'une angine correspond à une infection localisée aux amygdales. Elle peut être virale ou bactérienne.

L'angine streptococcique est particulièrement à craindre car elle peut être à l'origine de complications systémiques, notamment le rhumatisme articulaire aigu et de complications suppuratives loco-régionales.

Selon l'aspect clinique, on différencie les angines érythémateuses et érythématopultacées des angines ulcéreuses et pseudo-membraneuses. Ces différents aspects vont permettre d'orienter le diagnostic étiologique de l'infection.

III.2.3. *Les otites* [65,19,105,2]

C'est une pathologie inflammatoire ou infectieuse de l'oreille externe ou de l'oreille moyenne.

Si les otites externes surviennent à tout âge, les otites moyennes aiguës sont essentiellement observées chez l'enfant, en particulier avant l'âge de 3 ans.

Elles sont plus rares chez l'adulte mais les séquelles fonctionnelles auditives et/ou infectieuses d'otites de l'enfance peuvent persister à l'âge adulte sous la forme d'une otite chronique.

L'otite externe est une pathologie inflammatoire ou infectieuse de la peau du conduit auditif externe. Elle se manifeste par une douleur intense irradiant à la joue et au cou associé à un écoulement purulent.

L'otite moyenne aigue de l'enfant est la complication infectieuse la plus commune de l'enfance.

Environ 70% des enfants font une otite aiguë avant l'âge de 3 ans. La survenue d'un premier épisode avant l'âge de 3 mois est un facteur pronostic péjoratif en ce qui concerne le risque de récurrences et de survenue d'une otite chronique.

Le sexe mâle et la vie en collectivité sont des facteurs de risques reconnus de survenue et de récurrence des otites aiguës.

La survenue d'un épisode de rhinopharyngite virale et le dysfonctionnement de la trompe d'Eustache qui en résulte sont les facteurs déclenchant de l'infection de l'oreille moyenne.

Il est établi que ce sont les germes situés dans le rhinopharynx qui, en colonisant l'oreille moyenne, déterminent la survenue d'une otite.

III.2.4. Les sinusites [65,19, 105, 2]

Les sinus de la face sont tapissés d'une muqueuse de type respiratoire. Leur infection par des bactéries est responsable d'une sinusite.

Les rhinites virales ou coryza sont le phénomène initiateur le plus fréquent des sinusites aiguës. D'autres facteurs tels qu'une déviation de cloison, une infection dentaire ou une polypose naso-sinusienne prédisposent à l'infection des sinus.

Les sinusites aiguës sont une complication des rhinopharyngites virales. Il est probable que l'altération de la clairance muco-ciliaire et les lésions muqueuses secondaires à une infection virale favorisent la réplication bactérienne.

Une sinusite aiguë peut également être l'extension directe d'une infection dentaire ou chronique d'une molaire ou d'une prémolaire du maxillaire supérieur. La sinusite est alors dite unilatérale et s'accompagne d'une rhinorrhée fétide et parfois d'une inflammation cutanée en regard. En l'absence de soins dentaires, l'évolution de la sinusite se fait vers la chronicité.

Le développement d'une sinusite chronique est classiquement rapporté à la répétition et à l'insuffisance de traitements d'épisodes de sinusite aiguë. Il est bien entendu favorisé par des facteurs locaux (mycose, corps étrangers), régionaux (foyer infectieux dentaire) ou généraux (terrain immuno-déprimé).

Le diagnostic de sinusite chronique est difficile et est souvent rapporté à tort chez un patient présentant des céphalées ou des douleurs de la face.

Une sinusite chronique en dehors d'une poussée de réchauffement est soit asymptomatique, soit se manifeste par une rhinorrhée purulente antérieure et/ou postérieure, une obstruction nasale et parfois une sensation de plénitude de la face.

III.2.5.Trachéites

Elles sont souvent d'origine virale et sont associées à une laryngite et / ou à une bronchite aiguë.

III.2.6.Bronchite aiguë

C'est une inflammation aiguë des bronches et des bronchioles chez un sujet sain. Elle est souvent précédée d'une atteinte des voies aériennes supérieures.[108]

III.2.7.Pneumonie

C'est une inflammation aigues du poumon frappant un lobe par sa totalité et par la présence d'un exsudat fibrineux remplissant les alvéoles pulmonaires .L'évolution est cyclique depuis son début brusque et solennel, jusqu'à sa défervescence rapide, en une seule crise .[102]

III.2.8. *Les bactériémies et septicémies*

Elles sont souvent associées à des lésions tissulaires, en particulier pulmonaires. Cependant, elles peuvent exister en l'absence d'un foyer cliniquement patent. Elles sont toujours d'un mauvais facteur pronostic.

III.2.9. *Les méningites*

Elles sont mortelles dans 10 à 30% des cas.

III.2.10. *Les bronchites suppurées.*

III.2.11. *Les autres localisations :*

- Les péritonites primitives ou favorisées par le port d'un dispositif intra-utérin ;
- Les endocardites et péricardites ;
- Les arthrites.

III-3-Epidémiologie

Les infections respiratoires aigues représentent 30 à 50 % des consultations en médecine et 30 % des hospitalisations. Elles représentent également la troisième cause de mortalité chez les enfants après le paludisme et les maladies diarrhéiques. La majorité des infections respiratoires aigues sont communautaires. [102]

Le premier cas de résistance clinique a été signalée en Guinée en 1967 [74,97]. Entre 1967 et 1977 quelques rapports de par le monde commencent à

signaler l'apparition d'isolats cliniques de résistance à la pénicilline et le plus spectaculaire celui de 1977 signalant l'épidémie mortelle du pneumocoque en Afrique du Sud. [95,94].

Depuis cette date, la résistance à la pénicilline des isolats cliniques du pneumocoque s'est répandue largement dans le monde [46]. Dès le début des années 1980 plus de 10% de cas de résistance à la pénicilline observé chez des isolats prélevés dans différentes régions du monde notamment en Israël, la France, la Hongrie, la Pologne, l'Espagne, l'Afrique du Sud, la Nouvelle Guinée et les USA depuis Mexico à Alaska. En effet aux USA les études menées dans différents centres ont montré la prévalence de *S.pneumoniae* avec une diminution de la sensibilité à pénicilline autour de 4-5% et les bactéries ayant une résistance élevée ($\geq 4 \mu\text{g/ml}$) étaient rares [56,101].

Pendant la période de 1988-1989 une étude épidémiologique en Hongrie a révélé un taux de 58% de tous les isolats sont d'origine Pneumococcique dont 70% des isolats chez les enfants sont résistants à la Pénicilline[72]. Durant la dernière décade les régions de forte prévalence de pneumocoque résistant à la pénicilline sont : Afrique du Sud , Espagne, France ,Europe de l'Est ,Israël, Corée du Sud ;Japon ,Nouvelle Guinée ;et les régions sud de l'Amérique du Sud [8,11].

Aux USA la proportion de la résistance à la pénicilline augmente jusqu'à 25% dans certaines localités (11, 73, 49,34, 76) .

Dans certains pays comme Iceland la résistance à la pénicilline et aux multiples antibiotiques est apparue en 1990 atteignant rapidement les 20% chez les isolats de *S.pneumoniae* chez les enfants [61].

L'étiologie des pneumonies communautaires est multiple. Il peut s'agir des bactéries dans 70 à 80 % des cas, majoritairement *Streptococcus pneumoniae* et occasionnellement d'autres bactéries .

Les bactéries atypiques sont rencontrées dans 10 à 20 % des cas. Il s'agit de *Mycoplasma pneumoniae* , *Legionella pneumophila* et *Chlamydiae pneumoniae*.

Les virus sont impliqués dans 5 à 10 % des cas, il s'agit du virus respiratoire syncytial , du para influenzae , influenzae A et B et ceci essentiellement chez les enfants.

Les infections respiratoires aiguës constituent un véritable problème de santé publique , avec des retentissements sociaux individuels et collectifs important : 10 % du taux de morbidité et de mortalité [9].

III.3.1.Données épidémiologiques [9,104]

III.3.1.1. Morbidité et mortalité dues aux IRA

Le nombre de décès dus aux infections respiratoires aiguës chez les enfants de moins de 5 ans dans le monde est estimé actuellement à 1.900.000 /an. Les infections respiratoires aiguës sont les infections les plus fréquentes de l'enfant. Elles sont la cause de 30 à 40 % des hospitalisations d'enfants.

Dans les pays de l'Afrique subsaharienne , environ 1,2 millions d'enfants de moins de 5 ans meurent chaque année d'infections respiratoires aiguës, principalement de pneumonie, qui est l'infection respiratoire la plus meurtrière avec 80 % des décès . Dans ces pays , la mortalité par les IRA est amplifiée par d'autres problèmes de santé, tels que la malnutrition, la rougeole, l'infection à VIH , l'insuffisance pondérale à la naissance, la drépanocytose.

Les infections respiratoires aiguës occupent le deuxième rang par leur morbidité (35,5 %) après le paludisme (37,1 %) , ainsi que par leur taux de létalité qui est de l'ordre de (5,1 %) après le paludisme (5,5 %) .

III.3.1.2. Transmission

Les infections respiratoires aiguës sont transmises par contact direct avec les sécrétions respiratoires soit d'un sujet malade ou d'un porteur sain .

IV- Les antibiotiques

La classification des antibiotiques repose sur leur structure chimique et leur mécanisme d'action, lesquels conditionnent leur spectre d'activité.

IV-1-Les bêta-lactamines [16,99]

Les bêta-lactamines constituent la plus vaste et la plus prolifique famille d'antibiotiques utilisée en thérapeutique. Ces dernières années, la famille des bêta-lactamines s'est enrichie de nombreuses molécules particulièrement dans le groupe des céphalosporines. Cette croissance exponentielle constitue, avec la structure spéciale des molécules des bêta-lactamines, une des caractéristiques de ces antibiotiques.

Les bêta-lactamines sont caractérisées par leur structure et leur mécanisme d'action.

IV-1-1-Structure [100,25,36,87]

Les bêta-lactamines ont en commun le cycle bêta-lactame, support de l'activité antibactérienne dont l'ouverture conduit à des produits inactifs.

Les molécules de bêta-lactamines diffèrent, dans le cas des dérivés classiques, par la chaîne latérale substituant : l'acide 6-amino-pénicillanique (6 A.P.A.) dans le cas des pénicillines et l'acide 7-amino-céphalosporanique (7 A.C.A.) pour les céphalosporines.

Il existe des dérivés dits « non classiques » ayant un noyau central modifié mais possédant une structure apparentée.

Le représentant le plus ancien de cette famille est la pénicilline G.

Premier groupe

■ **Formule générale**

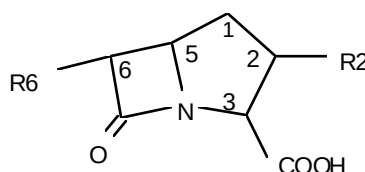


Figure 1 : Formule générale du 1^{er} groupe.

■ **Les pénams**

Leur noyau de base associe un cycle β -lactame à un cycle thiazolidine, correspondant aux pénicillines. Les molécules se distinguent par la nature du radical fixé sur le carbone 6 et se répartissent en cinq sous-groupes :

- Le sous-groupe de la pénicilline G (benzylpénicilline) a pour spectre d'action les bactéries à Gram positif et les cocci à Gram négatif, à l'exception des souches productrices de pénicillinases. Il comprend la pénicilline G, ses formes retard et quelques pénicillines orales (pénicilline V, phénéticilline, propicilline, clométhicilline);

- les pénicillines anti-staphylococciques, résistantes à la pénicillinase du staphylocoque : méthicilline et isoxazolyl - pénicillines (l'oxacilline, la cloxacilline, la dicloxacilline);

- les pénicillines à large spectre, actives aussi sur certains bacilles à Gram négatif mais sensibles à l'action de la pénicillinase du staphylocoque ou des β -lactamases des Gram négatifs;

- les aminopénicillines (l'ampicilline, l'amoxicilline, l'épicilline);
- les carboxypénicillines (la carbénicilline et la ticarcilline) et l'apalcilline;
- les amidinopénicillines (l'amidinocilline ou la mecillinam et la pivmécillinam) ne sont actives que sur les bacilles à Gram négatif;
- les inhibiteurs de β -lactamases, produits dont le radical R6 est un halogène (I ou Br) ou pénicillines-sulfones notamment le sulbactam.

▪ Les Pénems

Ils se distinguent des pénams par l'existence d'une double liaison.

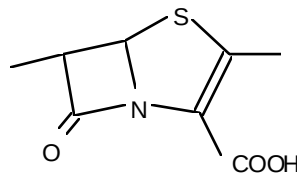


Figure 2 : Formule des pénems.

▪ Les Carbapénems

La N-formidoyl-thiénamycine ou imipénème est le seul produit actuellement utilisé. Doué d'un large spectre d'action, il est remarquable par sa grande stabilité vis à vis de diverses β -lactamases.

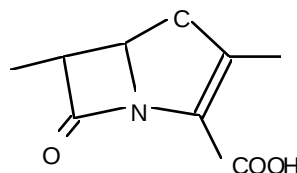


Figure 3 : Formule des carbapénems.

▪ Les Oxapénams ou clavams

Le représentant de ce groupe est l'acide clavulanique, d'activité antibactérienne très faible mais utilisé comme inhibiteur de β -lactamases en association avec l'amoxicilline ou la ticarcilline.

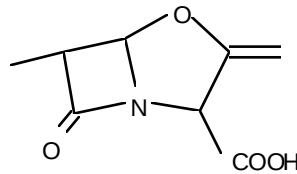


Figure 4 : Formule des oxapénams.

+ Deuxième groupe

■ Formule générale

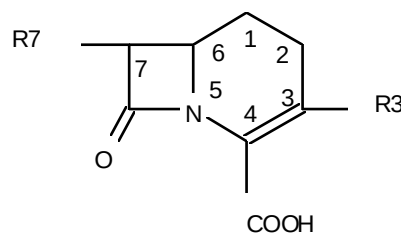


Figure 5 : Formule générale du 2^{ème} groupe.

■ Les Céphems

Ils correspondent aux céphalosporines au sens strict. Les produits utilisés sont des dérivés semi-synthétiques de la céphalosporine de 3^{ème} génération elle même produite par un champignon (*Cephalosporium*).

Certains céphems sont produits par des bactéries (*Streptomyces*). Ce sont les céphamycines (la céfoxitine, le céfotétan)

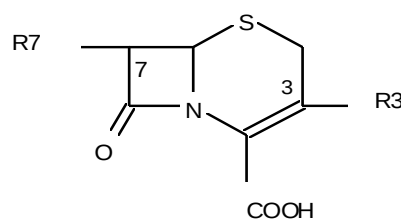


Figure 6 : Formule des céphems.

▪ Les Oxacéphems

Un seul produit de synthèse totale a été développé : le latamoxef.

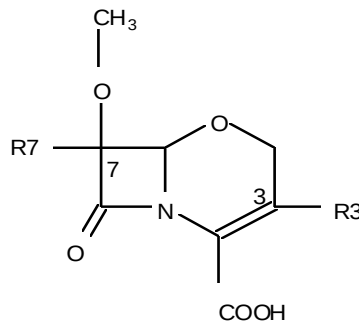


Figure 7 : Formule des oxacéphems.

Céphems, céphamycines et oxacéphems sont globalement désignés sous le terme de céphalosporines et classés, selon leurs propriétés antibactériennes, en quatre "générations".

Ce sont tous des produits à large spectre, mais dont l'intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif. De ce point de vue, les trois générations se distinguent par leur niveau d'activité intrinsèque et leur résistance à l'inactivation par les β -lactamases.

Les Céphalosporines de 1^{ère} génération

Elles peuvent être actives sur des souches résistantes aux pénicillines à large spectre. Elles sont par contre détruites par les céphalosporinases de nombreux bacilles à Gram négatif.

Les principaux produits sont les suivants : la céfalotine, la céfacétrile, la céfapirine, la céfaloridine, la céfazoline inactives par voie buccale ; la céfradine, la céfalexine, le céfadxil, le céfador, la céfatrizine, actifs par voie buccale.

Les Céphalosporines de 2^{ème} génération

Elles se distinguent des précédentes par une relative résistance à certaines céphalosporinases et un léger gain d'activité sur les souches sensibles. Ce sont les céfuroxime, céfamandole et céfoxitine.

Les Céphalosporines de 3^{ème} génération

Elles comprennent entre autres le céfotaxime, le latamoxef, la céftriaxone, la céftazidime, le céfménoxime et le céftizoxime.

Quelques molécules proches des céphalosporines de 3^{ème} génération, présentent des avantages particuliers relatifs à leurs propriétés antibactériennes ou pharmacologiques : céfopérazone, céfatiam, céfotétan, cefsulodine, céfixime.

Les Céphalosporines de 4^{ème} génération

Noyau de base

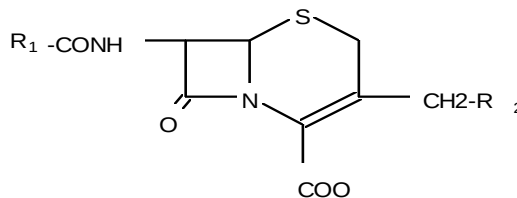


Figure 8 : Formule des céphalosporines de 4^{ème} génération.

Ce sont des 7-méthoxyimino céphalosporines zwitterioniques, caractérisées par la présence d'un ammonium quaternaire en position C₃. Elles montrent peu d'affinité pour les β -lactamases de classe I et pénètrent très rapidement au travers de la membrane extérieure des bacilles à Gram-négatif.

Elles comprennent au moins une demi-douzaine de produits incluant cefpirome, céfépime, cefclidine, céfzoprane.

Troisième groupe

■ Formule générale

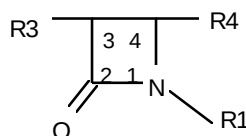


Figure 9 : Formule générale du 3^{ème} groupe.

Il correspond aux monobactams. Un produit est actuellement utilisé, l'azthréonam. Son spectre est limité aux bactéries à Gram négatif aérobies.

IV-1-2-MECANISME D'ACTION DES BETA-LACTAMINES [25,17]

Les bêta-lactamines appartiennent au groupe des antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne. Toutes les bêta-lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane ou mureïne, constituant de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif en inhibant la transpeptidase qui joue le rôle de régulateur dans la synthèse de celle-ci.

L'action des bêta-lactamines est liée à la structure de la paroi bactérienne.

En règle générale, la paroi des bactéries à Gram positif se laisse pénétrer sans difficulté par les bêta-lactamines, car le peptidoglycane ne s'oppose pas au passage des molécules d'aussi petite taille.

Cette règle ne s'applique pas aux bactéries à Gram négatif à cause de la structure particulière de la paroi de ces bactéries qui ne laissent passer les bêta-lactamines qu'à travers les porines. Les porines sont des protéines transmembranaires ayant la faculté de se regrouper pour des canaux, des pores remplis d'eau, permettant ainsi la diffusion à travers la membrane de différents solutés hydrophiles.

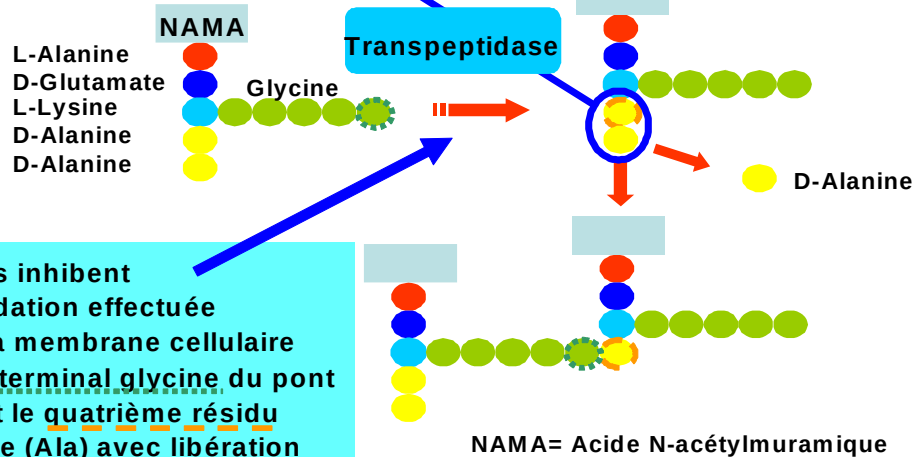
La figure 10 montre de façon schématique les mécanismes d'action des Bétalactamines.

β-lactames: pénicillines

Mécanismes d'action

1) Inhibition de la transpeptidase (ex. *S. aureus*) → bloque la synthèse du peptidoglycane

La conformation de la pénicilline est proche de celle de la D-alanyl-D-alanine



Les pénicillines inhibent une transpeptidation effectuée en dehors de la membrane cellulaire entre le résidu terminal glycine du pont pentaglycine et le quatrième résidu du pentapeptide (Ala) avec libération d'une Ala .

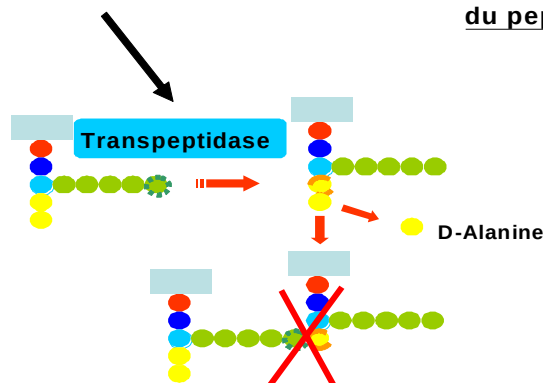
Figure 10 : Mécanisme d'action des bêta-lactamines [62]

La figure 11 montre de façon schématique les mécanismes d'action des Céphalosporines.

β -lactames : céphalosporines

Mécanismes d'action : identiques aux pénicillines

- 1) Inhibition de la transpeptidase → bloque la synthèse du peptidoglycane



liaison aux protéines fixant la pénicilline (PFP)

Figure 11 : Mécanisme d'action des Cephalosporines [62]

IV-2-Les macrolides

IV-2-1- Les macrolides vrais [10]

IV-2-1-1-Definition

Les macrolides vrais sont des molécules naturelles, lipophiles, hétérosidiques, possédant un noyau lactonique central, oxygéné, composé de 12 – 16 chaînons avec peu ou pas de doubles liaisons et pas d'atomes d'azote endocyclique. Un ou plusieurs sucres neutres ou aminés sont fixés sur le noyau lactonique, conférant à ces molécules leur caractère basique.

Les macrolides vrais sont des bases faibles peu solubles dans l'eau et solubles dans la plupart des solvants organiques à l'exception du chloroforme (CCl₄) et des alcanes. Ce sont des substances amères.

Les sels sont hydrosolubles. Le seul dosage microbiologique retenu par la pharmacopée française est la méthode par turbidimétrie ou diffusion.

IV-2-1-2-Classification

Les principaux macrolides naturels sont : l'érythromycine, l'oléandomycine, la spiramycine et la josamycine.

Erythromycine

L'érythromycine, obtenue par extraction biologique des cultures de *Streptomyces erythreus*, est en fait un mélange de plusieurs substances voisines dont une, largement majoritaire A, constitue le produit le plus utilisé en thérapeutique.

La formule chimique de l'érythromycine A comporte un cycle lactonique à 14 atomes appelé Erythronolide, un sucre, la cladinose et un sucre aminé, la désosamine.

Sur le plan pharmacologie, l'érythromycine présente une biodisponibilité très variable en raison de son instabilité en milieu acide, et ses taux sériques sont dès lors peu prédictibles lorsqu'elle est administrée par voie orale. Par ailleurs, elle présente une demi-vie sérique courte rendant nécessaire des administrations multiples si l'on veut maintenir le plus longtemps possible sa concentration sérique au-dessus de la CMI du germe en cause.

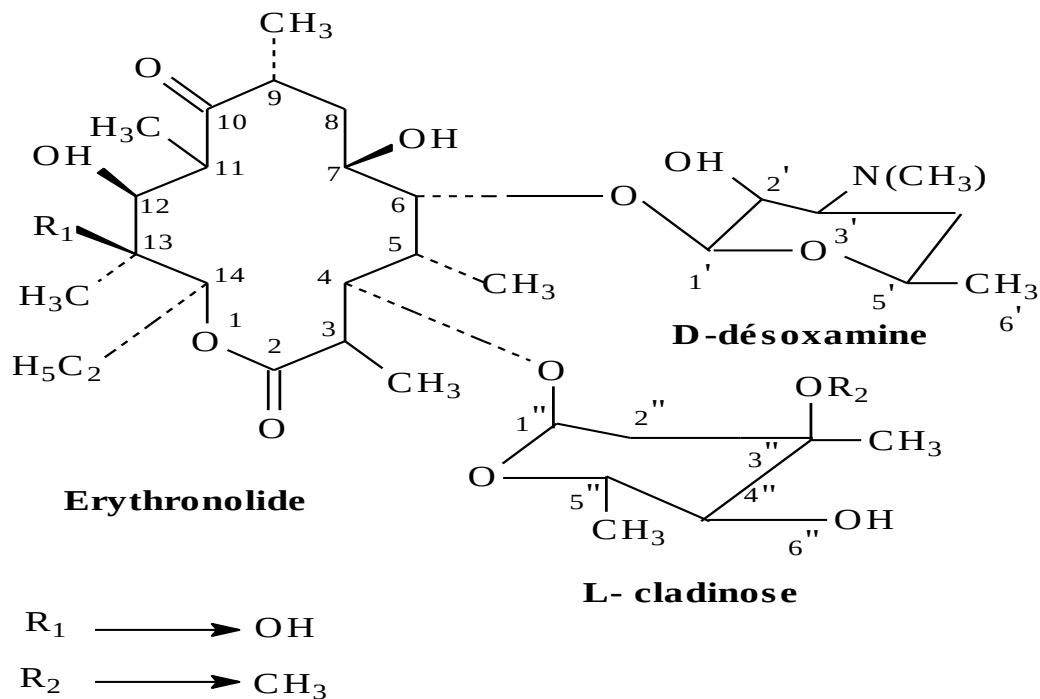
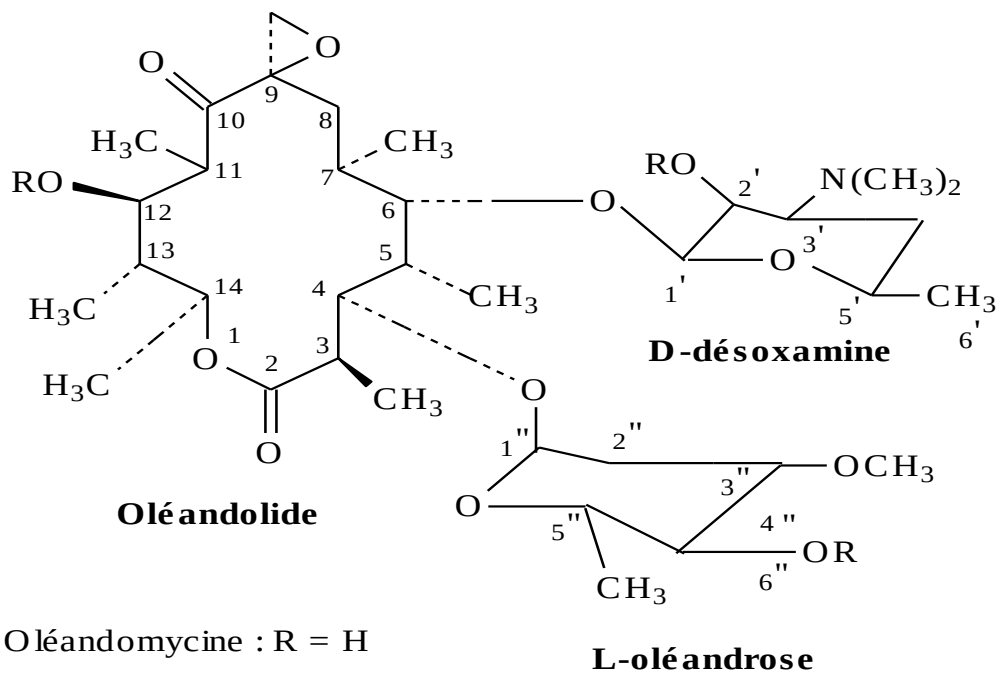


Figure 12 : Formule chimique de l'érythromycine A

 Oléandomycine

L'oléandomycine est obtenue par fermentation de *Streptomyces antibioticus* et purifiée par cristallisation du chlorhydrate. Sa formule chimique comporte un cycle à 14 atomes lactoniques appelé oléandolide, un sucre, l'oléandrose et un sucre aminé, la désosamine.



Oléandomycine : R = H

Troléandomycine : R = CH₃CO

Figure 13 : Formule chimique de l'oléandomycine

 Spiramycine

La spiramycine est un mélange de trois substances hétérosidiques très voisines, les spiramycines I (63 %), II (24 %) et III (13 %), extraites de *Streptomyces ambofaciens*.

La spiramycine I est un macrolide à 16 éléments formant la génine, substituée par trois sucres dont deux engagés dans un bioside. Les sucres fixés par le cycle par des liaisons osidiques sont identifiés à :

- un disaccharide constitué d'un aminosucre, la D-mycaminose et de la L-mycarose, unies par une liaison 1-4 ;
- un second aminosucre, l'isomycarnine fixée en 10.

Les spiramycines II et III sont respectivement des esters acétiques et propioniques de la spiramycine I en position 4. Le produit usuel est un mélange dosé en Unités Internationales.

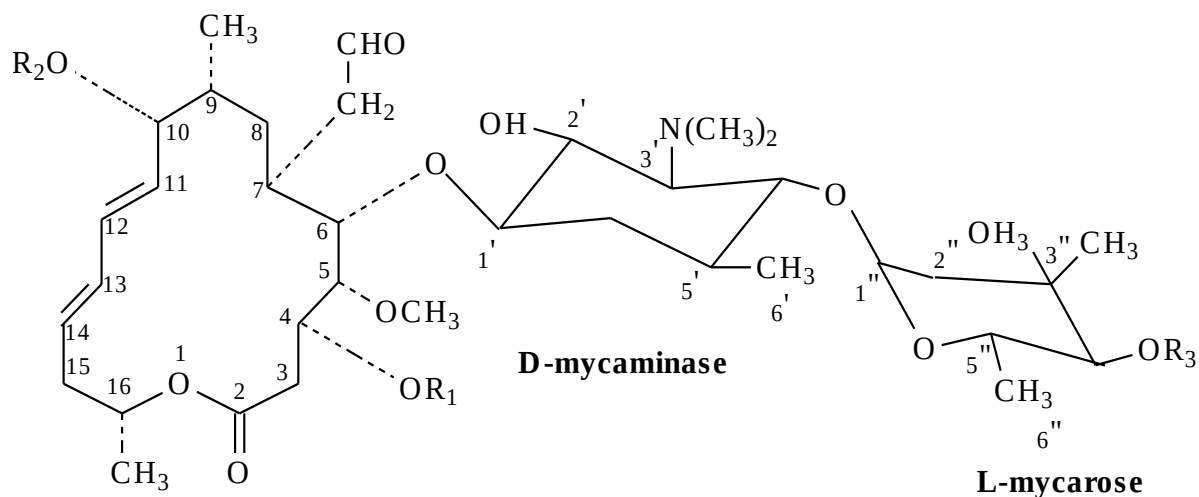


Figure 14 : Formules chimiques de la spiramycine et de la Josamycine

Spiramycine I	R ₁ = H	R ₂ = (H ₃ C) ₂ N	R ₃ =H
Spiramycine II	R ₁ = COCH ₃	R ₂ = id.	R ₃ =H
Spiramycine III	R ₁ = CO-CH ₂ -CH ₃	R ₂ = H	R ₃ = H
Josamycine	R ₁ = CO-CH ₃ C	R ₂ = H	R ₃ = (H ₃ C) ₂ CH-CH ₂ -COH

Josamycine

La josamycine est produite par *Streptomyces narbonensis* var *josamyceticus*.

Sa structure est proche de celle de la spiramycine avec une génine à 16 atomes et un disaccharide à deux sucres ; mais elle ne comporte pas d'aminosucres substitués en 10. Elle est basique.

IV-2-1-3-Mécanisme d'action des macrolides vrais [10,35,47]

Les macrolides doivent leur activité antibiotique à leur liaison à la sous-unité 50S du ribosome bactérien et plus précisément au niveau du complexe 23S du rRNA en établissant des contacts limités mais précis entre une zone du domaine II , et la boucle de la peptidyl-transférase dans le domaine V ; ces deux régions formant une poche adaptée aux macrolides et à d'autres antibiotiques.

La liaison des macrolides à ce site entraîne une inhibition de la synthèse protéique.

Ce mode d'action implique que les macrolides sont essentiellement bactériostatiques, sauf à concentration très élevée.

IV-2-2- Les lincosamides [93]

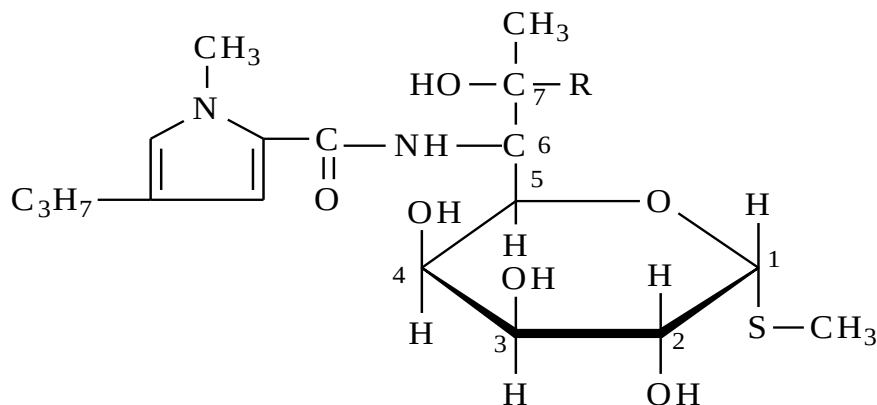
IV-2-2-1-Classification

La Lincomycine

Elle est obtenue par fermentation de *Streptomyces lincolnensis*. Elle résulte de l'acidification d'un amino-acide cyclique par un aminosucre soufré : la pyranose. La présence au niveau du radical amino-acide d'une fonction amine tertiaire confère à la molécule un caractère basique.

La Clindamycine

C'est un dérivé hémisynthétique chloré qui résulte de la chloration de l'hydroxyle en position 7 de la lincomycine par le chlorure de thionyle ou le chlore avec inversion de configuration du carbone porteur. Lincomycine et clindamycine ne contiennent pas de noyaux lactoniques comme les macrolides. Elles sont basiques.



R = H $\longrightarrow$ Lincomycine

R = Cl $\longrightarrow$ Clindamycine

Figure 15 : Formules chimiques de la Lincomycine et de la Clindamycine

IV-2-2-2-Mécanisme d'action des lincosamides

Le mécanisme d'action des lincosamides, comme pour les macrolides, implique des récepteurs ribosomaux de la fraction 50S avec inhibition de la phase initiale de la synthèse protéique.

Cette inhibition survient dans les premières étapes par impossibilité de fixation de l'amino-acyl-tRNA au site A et de formation de la liaison peptidique.

IV-2-3-Streptogramines ou synergistines [93]

IV-2-3-1-Classification

Les streptogramines comprennent deux antibiotiques commercialisés :

- la pristinamycine extraite de *Streptomyces pristinae spiralis* ;

- la virginiamycine isolée à partir de *Streptomyces virginiae*.

Pristinamycine

La pristinamycine est un mélange de deux groupes de constituants :

- le constituant du groupe I (ou B) est un cyclopeptide amphoter ;
- le constituant du groupe II (ou A) est un macrolide.

La Virginiamycine

La virginiamycine se compose de deux facteurs : le facteur I (ou S) est un depsipeptide ; le facteur II (ou M) est une lactose macrocyclique.

Tableau II : Constituants du groupe I dans la Structure des Streptogramines

Groupe I	R ₁	R ₂
Pristinamycine I _A	C ₂ H ₅	N(CH ₃) ₂
Pristinamycine I _B	C ₂ H ₅	NH(CH ₃)
Pristinamycine I _C	CH ₃	N(CH ₃) ₂
Virginiamycine S	C ₂ H ₅	H

Tableau III : Constituants du groupe II dans la Structure des Streptogramines

Groupe II	R ₂
Pristinamycine II _A = Virginiamycine M ₁	Δ ₂₂
Pristinamycine II _B = Virginiamycine M ₂	Δ ₂₂ saturée

Les structures des constituants du groupe I sont apparentées de même que celles du groupe II.

Les streptogramines ne contiennent pas de sucre.

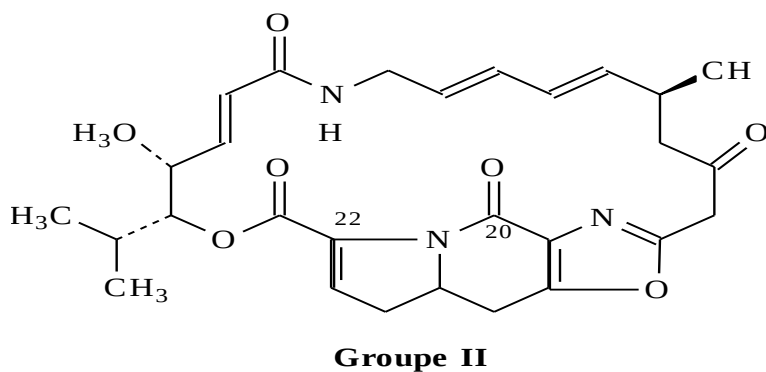
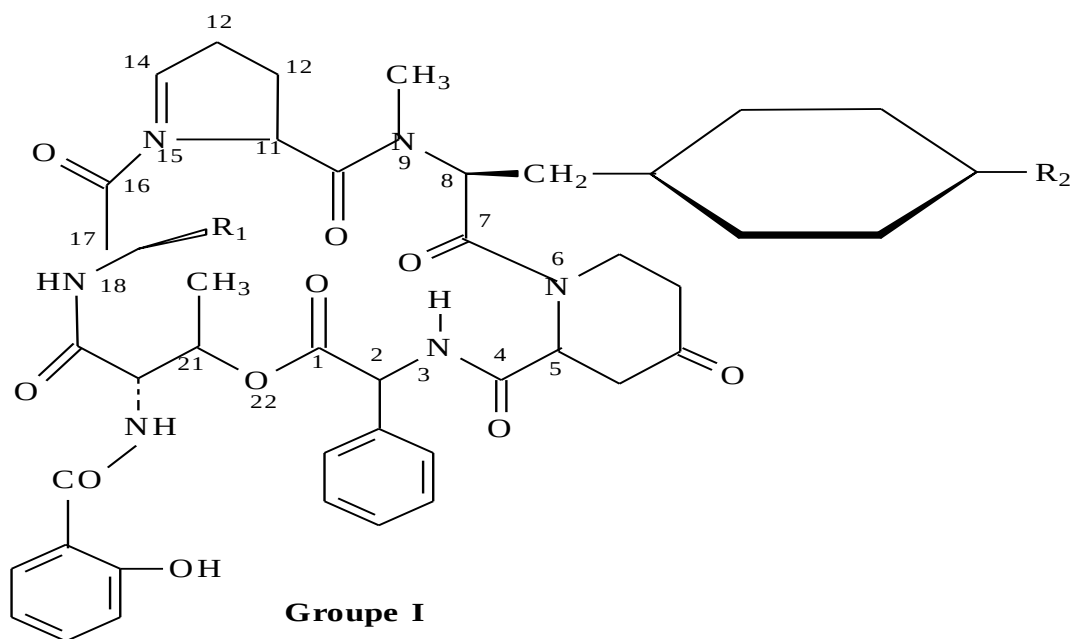


Figure 1 6 : Formules chimiques de la Pristinamycine et de la Virginiamycine

IV-2-4-Dérivés de l'erythromycine A

IV-2-4-1-Classification

 Roxithromycine

La roxithromycine est un dérivé hémisynthétique de l'érythromycine A possédant 14 atomes de carbone. Elle est obtenue par blocage de la cétone en position 10 de l'érythromycine A.

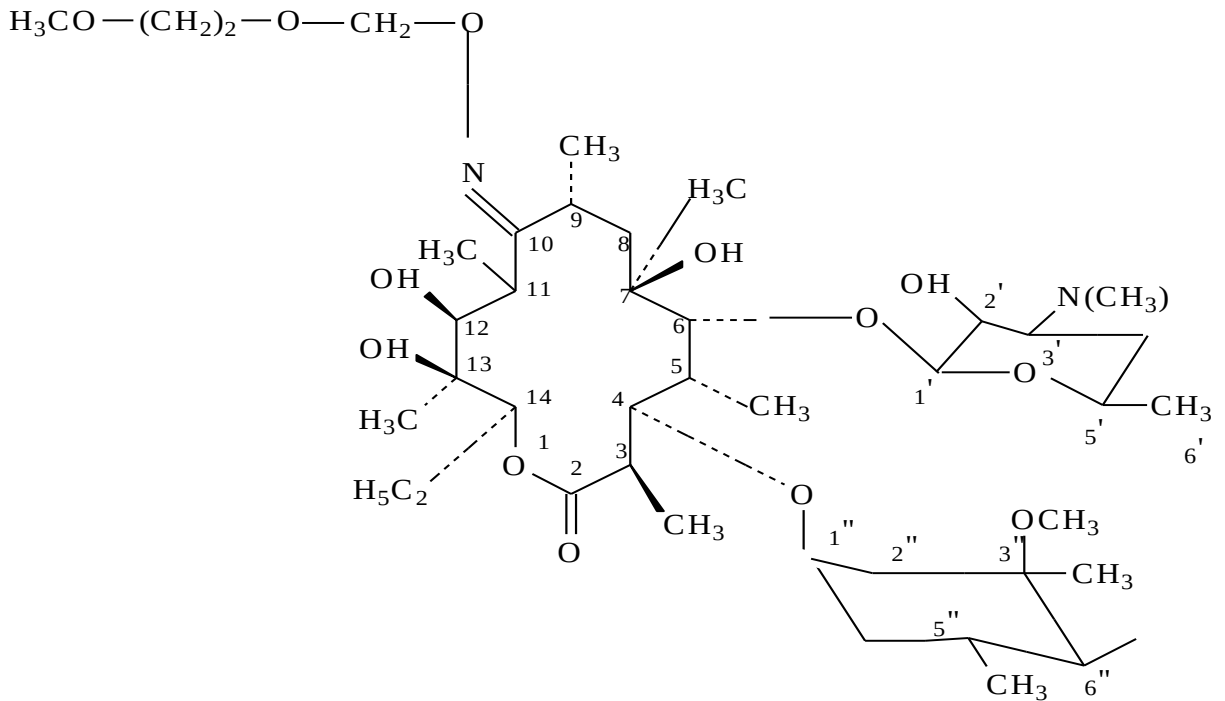


Figure 17 : Formule chimique de la Roxithromycine

Clarithromycine

La clarithromycine est un dérivé hémisynthétique de l'érythromycine A à 14 atomes de carbone comme la roxithromycine. Elle est obtenue en bloquant le point d'ancrage en position 7 par un méthyl.

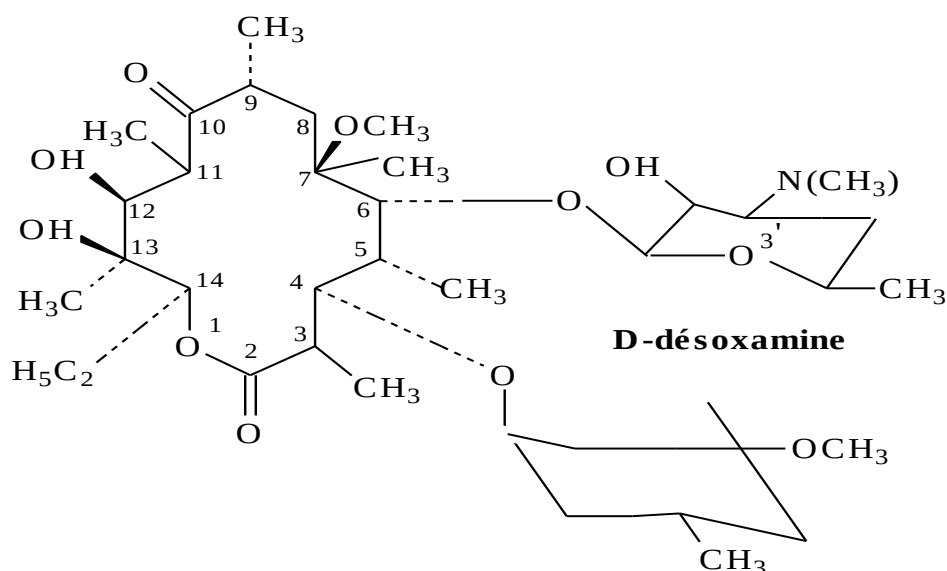


Figure 18 : Formule chimique de la Clarithromycine

IV-2-4-2-Mécanisme d'action des dérivés de l'érythromycineA

Le mécanisme d'action est le même que celui des macrolides vrais.

IV-2-5 - LES AZALIDES : L'AZITHROMYCINE

IV-2-5-1-Définition et structure

L'azithromycine est un antibiotique de la classe des Azalides (famille des macrolides).

C'est un méthyl-aza-11-désoxo-10-homoérythromycine A avec un azote inclus dans le macrocycle qui est agrandi à l'endroit du carbonyle. C'est une molécule à 15 atomes de carbone obtenue par une transposition de BECKMAN de l'oxime de l'érythromycine A à l'aide du chlorure de tosyle, avec formation d'un iminoéther, suivie d'une hydrogénation et d'une méthylation de l'azote du cycle.

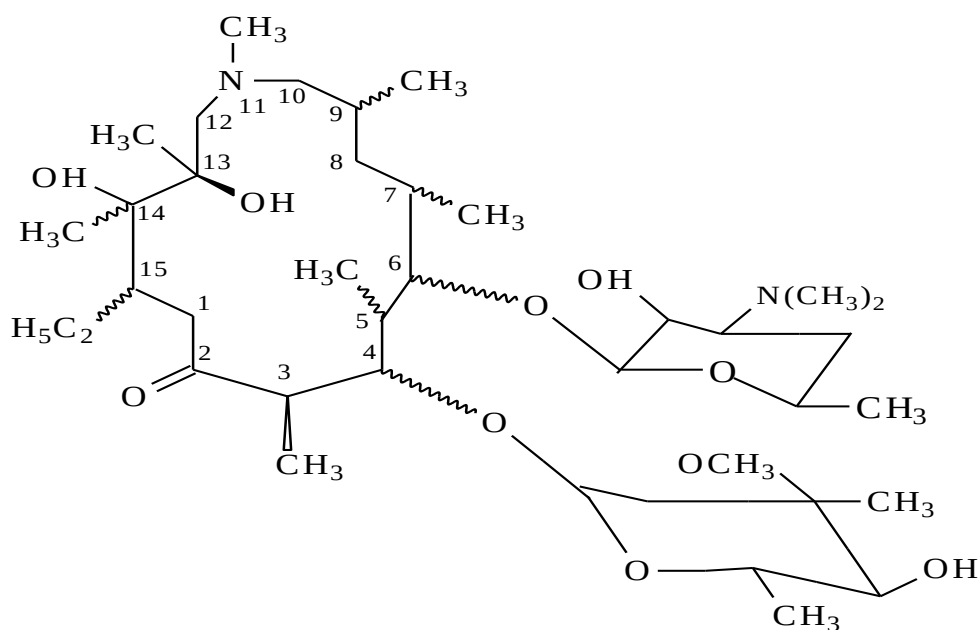


Figure 19 : Formule chimique de l’Azithromycine

IV-2-5-2-Mécanisme d’action

Dérivée structurellement de l’érythromycine, l’azithromycine présente un mécanisme d’action similaire. Elle exerce une action antibactérienne par inhibition de la synthèse des protéines microbiennes.

IV-2-6-Les kétolides

IV-2-6-1-Définition et structure

Quinupristine – Dalfoprystine est un nouvel antibiotique de la famille des Macrolides, groupe des Streptogramines, sous-groupe des Kétolides..

Comme son nom l’indique, elle est constituée d’un mélange de deux molécules, dérivés hémi synthétiques de la Pristinamycine solubles dans l’eau.

La Quinupristine (RP 57669), qui est une streptogramine du groupe B (I) représente 30% du mélange : c’est la quinuclidinylthiométhyl pristinamycine IA.

La Dalfopristine (RP 54476) est une streptogramine du groupe A (II) et présente 70% du mélange ; c'est la diéthyl amino éthyl-sulphonyl pristinamycine

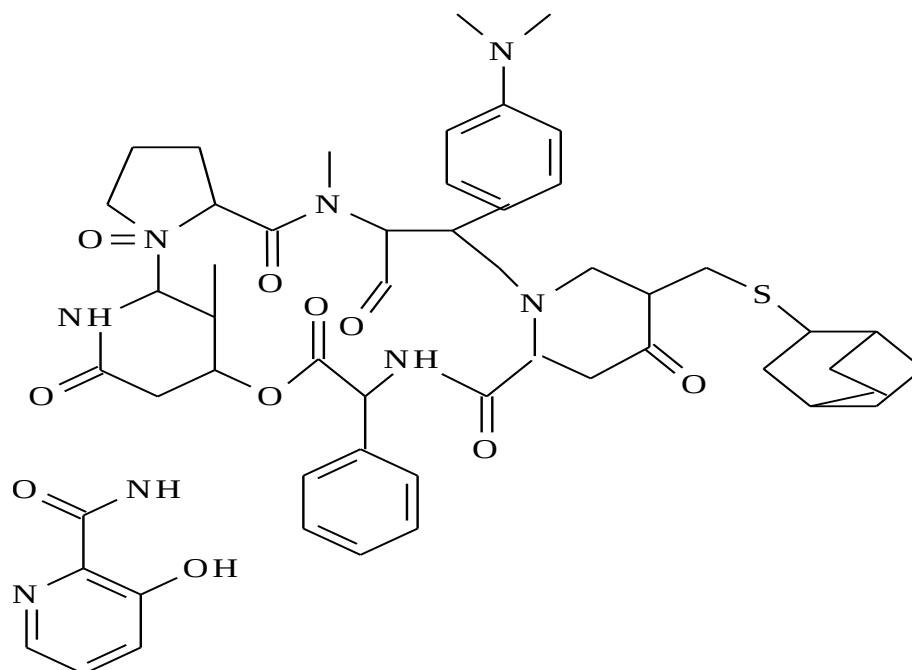


Figure 20 : Formule chimique de la Quinupristine (RP 57669)

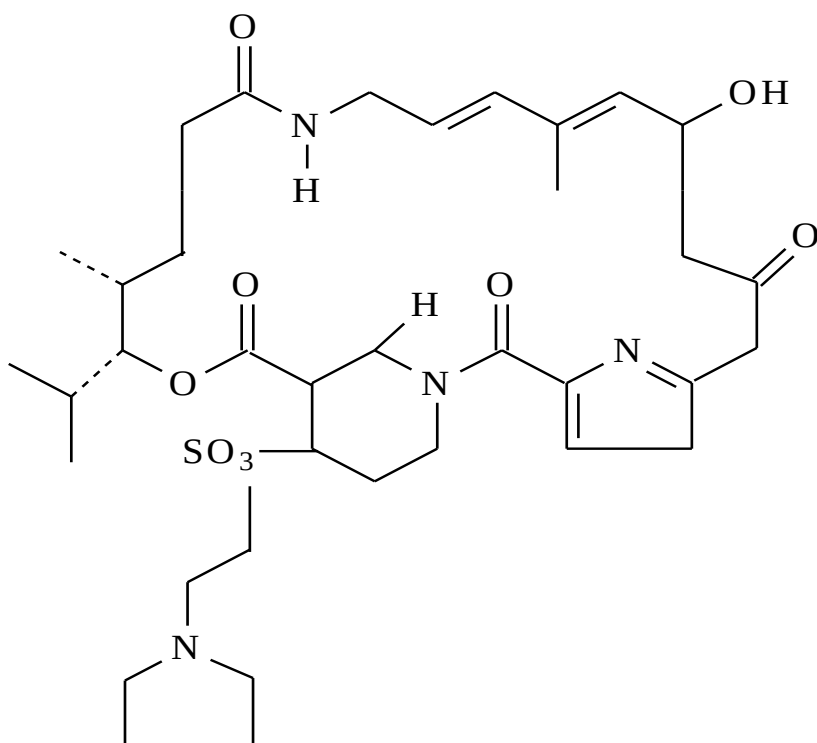


Figure 21 : Formule chimique de la Dalfopristine (RP 54476)

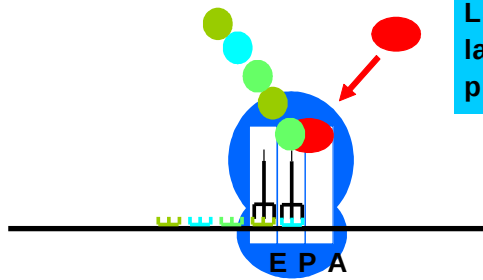
IV-2-6-2-Mécanisme d'action

SYNERCID possède une action en deux temps. La Dalfopristine, streptogramine A se fixe d'abord sur la sous-unité 50S du ribosome. La fixation de la Quinuprisine, streptogramine B verrouille ensuite celle de la Dalfopristine d'où une inhibition irréversible de la synthèse protéique et une bactéricidie.

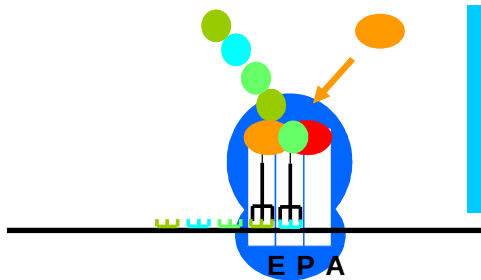
La figure 22 montre le mécanisme d'action de la Quinuprisine/dalfopristine.

Streptogramines (quinupristine/dalfopristine)

Mécanisme d'action:



La liaison de la dalfopristine change la conformation de la sous-unité 50S, permettant la liaison de la quinupristine.



La synthèse des protéines dans le complexe antibiotique/ribosome est inhibée par plusieurs mécanismes dont la formation de la chaîne peptidique et son extrusion du ribosome. Bactéricide chez de nombreuses espèces.

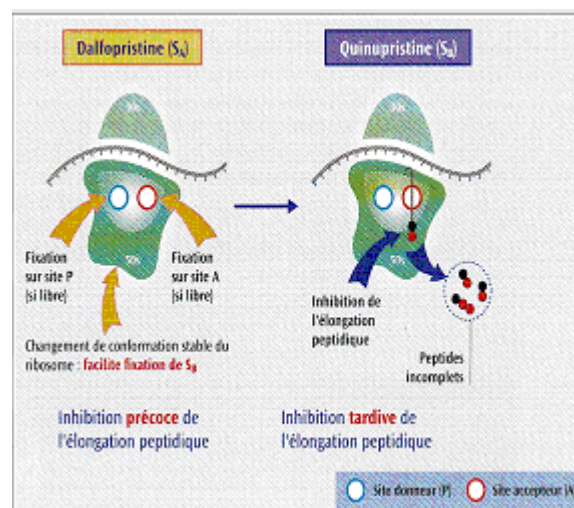


Figure 22 : Mécanisme d'action des streptogramines [62]

La Télithromycine

Son mécanisme d'action s'apparente à celui des macrolides bien que des différences au niveau moléculaire puissent exister : la Télithromycine agit par blocage de la traduction de l'ARN au niveau de la fraction ribosomale 23S et certaines données indiquent également qu'elle est capable de bloquer la formation de la sous-unité 30S.

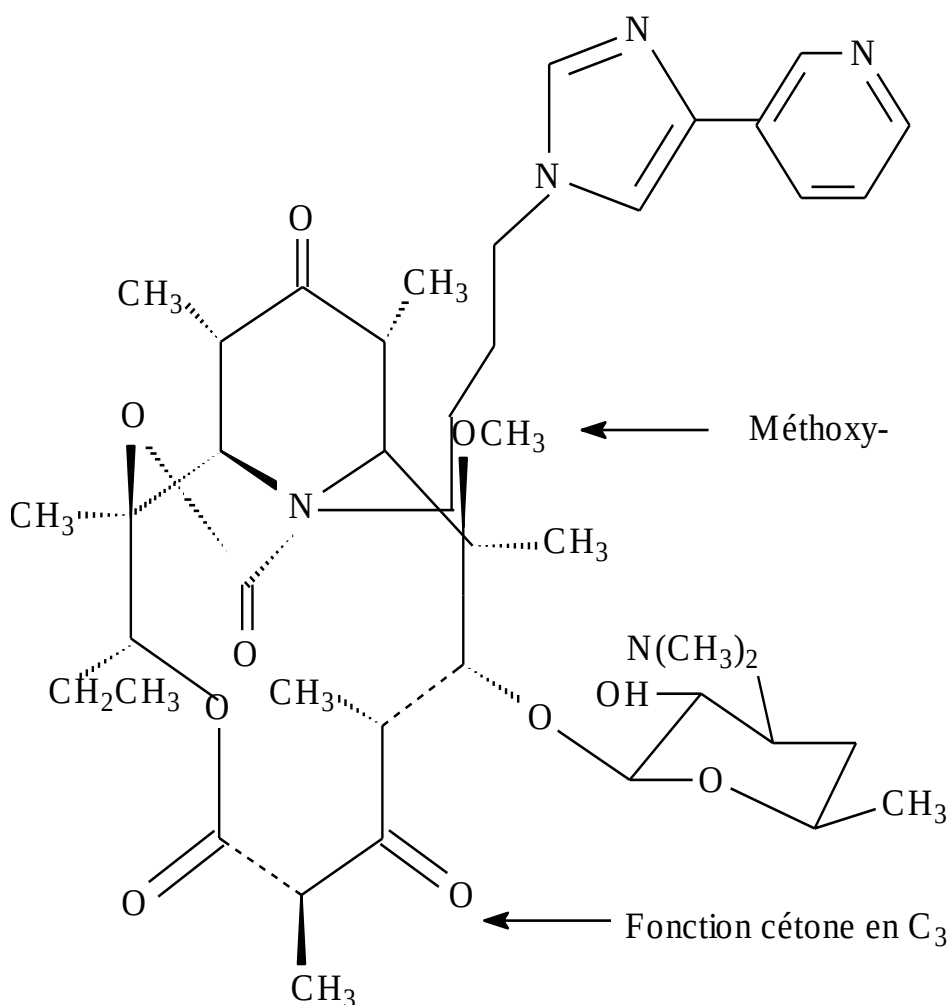


Figure 23 : Structure de la Télithromycine

V- Résistance bactérienne

V-1- Définition

Pour chaque antibiotique est défini un spectre d'activité. Ce spectre d'activité constitue l'éventail des espèces bactériennes « **sensibles** », susceptibles d'être inhibées par des concentrations de cet antibiotique (surtout *in vivo*, après utilisation d'une posologie standard).

Une espèce non sensible, qui n'entre pas dans le spectre d'activité d'un antibiotique est dite « **résistante** ».

Cependant, une souche est dite « **résistante** » lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (rapport technique n° 210 de l'organisation mondiale de la santé 1961) [50].

Cette résistance est liée à un ou plusieurs mécanismes biochimiques, qui impliquent l'étude des interactions entre l'antibiotique et les différentes voies métaboliques de la bactérie.

Il existe plusieurs types de résistance bactériennes aux antibiotiques .

V-2- Les différents types de résistance [21]

V-2-1- Résistance naturelle

La résistance naturelle d'une espèce ou d'un genre est :

- Une caractéristique propre , concernant l'ensemble des souches de l'espèce ou du genre.
- Portée par un chromosome donc toujours transmissible à la descendance : transmission verticale.
- Un caractère permettant de définir le phénotype sauvage ou sensible de l'espèce.
- Une aide à l'identification d'une espèce.

V-2-2- Résistance acquise

La résistance acquise correspond à l'acquisition d'une résistance à un antibiotique par une souche qui est normalement sensible. Et pour sa part, elle :

- Ne concerne qu'une proportion plus au moins importante, variable dans le temps, de souche d'une espèce .
- Résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de plasmides ou transposons (résistance extra chromosomique) transmissible horizontalement, parfois entre espèces différentes .
- Définit des phénotypes résistants .

V-2-3-Support génétique de la résistance bactérienne [70]

La cellule bactérienne contient un matériel génétique double :

- Un chromosome unique constitué par un long filament d' ADN Pelotonné qui porte un grand nombre d'informations génétique et qui est indispensable à la vie de la bactérie.
- La bactérie peut également contenir au niveau de son cytoplasme, un ou plusieurs **plasmides** .

Les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténaires circulaires, extra-chromosomiques douées d'une replication autonome et qui sont transmises de façon stable au cours des générations. En générale, les plasmides naturels des procaryotes ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie .

De ce fait, on peut dire qu'il existe deux supports essentiels :

- Le support chromosomique, ceci lorsque la résistance est codée par le Chromosome bactérien .
- Le support plasmidique, lorsque la résistance est codée par le plasmide.

V-2-3-1-Résistance chromosomique



Résistance chromosomique par mutation

La mutation correspond à une addition, une délétion ou une substitution de bases, dont la conséquence est une modification du code génétique . Cette modification entraîne une résistance soit :

- En rendant la cellule impénétrable à l'antibiotique.
- Soit en rendant les cibles pariétales (protéines de liaison à la pénicilline) ou intracellulaire (ADN gyrase, ARN polymérase, ribosomes) spécifiques de cet antibiotique indifférentes à la présence de ce dernier .
- Soit en codant pour la synthèse d'enzymes inactivantes .

Une mutation se caractérise par :

- la rareté ,
- la spontanéité,
- la discontinuité,
- la spécificité,
- l'indépendance,
- la stabilité .

Résistance chromosomique par remaniement

Il peut s'agir d'un remaniement du génome. A titre d'exemple, il peut s'agir de l'insertion de séquences apportant un promoteur permettant d'exprimer des gènes silencieux ou alors de l'acquisition de fragments de chromosomes étrangers par transformation .

V-2-3-2-Résistance extra chromosomique

L'acquisition d'une information génétique sous forme de plasmide entraîne la synthèse de protéines nouvelles par la bactérie réceptrice . Celle-ci initialement sensible devient résistante à un ou plusieurs antibiotiques. L'information génétique est portée par des plasmides transférables à d'autres bactéries par conjugaison, par traduction ou par transformation **[70]** . L'ensemble de ces gènes peuvent être sur des fragments d'ADN appelés transposons qui peuvent s'intégrer soit dans des plasmides, soit dans le chromosome en allant de l'un à l'autre .

V-3-Phénotypes de résistance

C'est un groupe, un ensemble d'antibiotique permettant au mieux, avec le plus de précision possible de préjuger des mécanismes de résistance dont dispose une bactérie donnée et notamment mais pas exclusivement de son équipement enzymatique [78].

Au sein de chaque espèce, on distingue le phénotype sauvage ou sensible, déterminé par les mécanismes naturels de résistance, et les phénotypes résistants déterminés par des mécanismes acquis de résistance [54] .

V-4- Les mécanismes de résistance

Trois mécanismes permettent d'expliquer la résistance aux antibiotiques:

-  *modification de la cible des antibiotiques* ; il peut s'agir de la :
 - substitution de la cible au profit d'une autre cible,
 - diminution de l'affinité de la cible pour l'antibiotique,
-  *synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques* ;
-  *diminution de la quantité d'antibiotique à l'intérieur de la bactérie* ; elle peut être due à :
 - une diminution de la perméabilité bactérienne vis-à-vis de l'antibiotique,
 - un efflux actif de l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie.

Plusieurs de ces mécanismes peuvent coexister chez une même bactérie et agir en «synergie», conférant une résistance plus élevée non seulement aux antibiotiques d'une même famille, mais également à des antibiotiques de familles différentes, surtout en cas de modification de la perméabilité.

V-5- La résistance de *Streptococcus pneumoniae*

Le pneumocoque était encore récemment reconnu sensible à la plupart des antibiotiques (à l'exception des aminosides). Mais des phénomènes de résistance acquise vis-à-vis de nombreux antibiotiques ne cessent d'émerger.

V-5-1- Résistance aux bêta-lactamines

La première description de pneumocoque à sensibilité diminuée à la Pénicilline G a été signalée en 1967 à Sydney en Australie [44] . En 1977, des souches possédant un haut niveau de résistance à la Pénicilline G et des souches multirésistantes sont décrites en Afrique du Sud [26] .

La résistance aux Céphalosporines de troisième génération est beaucoup plus récente [23].

Depuis, cette résistance est signalée dans de nombreux pays avec une fréquence croissante.

Ces résistances, d'origine chromosomique, ne sont pas dues à une production de bêta-lactamases ; elles résultent de modifications dans les protéines cibles de la bactérie : les protéines liant la Pénicilline (PLP) [69] .

Le pneumocoque possède six PLP dont cinq de haut poids moléculaire (PLP1a, PLP1b, PLP2x, PLP2a, PLP2b) et une de bas poids moléculaire (PLP3). Chaque bêta-lactamine semble agir par l'intermédiaire de plusieurs PLP préférentielles, différentes selon les molécules.

La résistance de bas niveau à la Pénicilline semble être due à la diminution de l'affinité de la PLP2x. Le haut niveau de résistance requiert une diminution de l'affinité de PLP supplémentaires : les PLP2b, 1a et 2a. La résistance aux Céphalosporines de troisième génération est liée à des modifications de deux PLP : les PLP2x et 1a [81].

L'étude des mécanismes de résistance a mis en évidence l'existence d'échanges génomiques entre les pneumocoques, entre les pneumocoques et certaines espèces de

streptocoques commensales du nasopharynx fréquemment exposées aux antibiotiques, auxquels pourraient s'ajouter des mutations ponctuelles, ce qui souligne le rôle des antibiotiques dans l'émergence de ces résistances [27,91,107] .

La résistance à la Pénicilline s'observe surtout dans les sérogroupes 23, 6, 19, 9 et le sérotype 14 [75].

V-5-2- Résistance aux *MLSB* [40,48,52,79,82]

Elle est apparue en 1967 et ne cesse de croître en fréquence et en prévalence dans de nombreux pays.

Deux principaux mécanismes sont à la base de cette résistance :

- *une modification de la cible* (sous-unité 50S du ribosome) par une méthylase ribosomale codée par le gène *ermB*. Ce gène est associé à la résistance de haut niveau aux Macrolides-Lincosamides-Streptogramines B. Les germes résistants par ce gène expriment le phénotype MLS_B constitutif ($cMLS_B$) ou inducible ($iMLS_B$) ;
- *un efflux actif de l'antibiotique vers l'extérieur de la bactérie*, lié au gène *mefA*. Ce gène est responsable de la résistance de bas niveau aux macrolides et détermine le phénotype M [103]. Ce mécanisme paraît comme le mécanisme prédominant de résistance à l'érythromycine chez les isolats cliniques de pneumocoques isolés dans beaucoup de pays [98].

Les germes résistants par ce gène sont sensibles à la clindamycine et aux streptogramines B.

D'autres mécanismes ont été récemment décrits. Il s'agit :

- d'un mécanisme de résistance médié par le gène *ermA* (*ermTR*) ;
- d'altérations des protéines ribosomales L4 et L22, et de mutations de l'ARN ribosomal 23S.

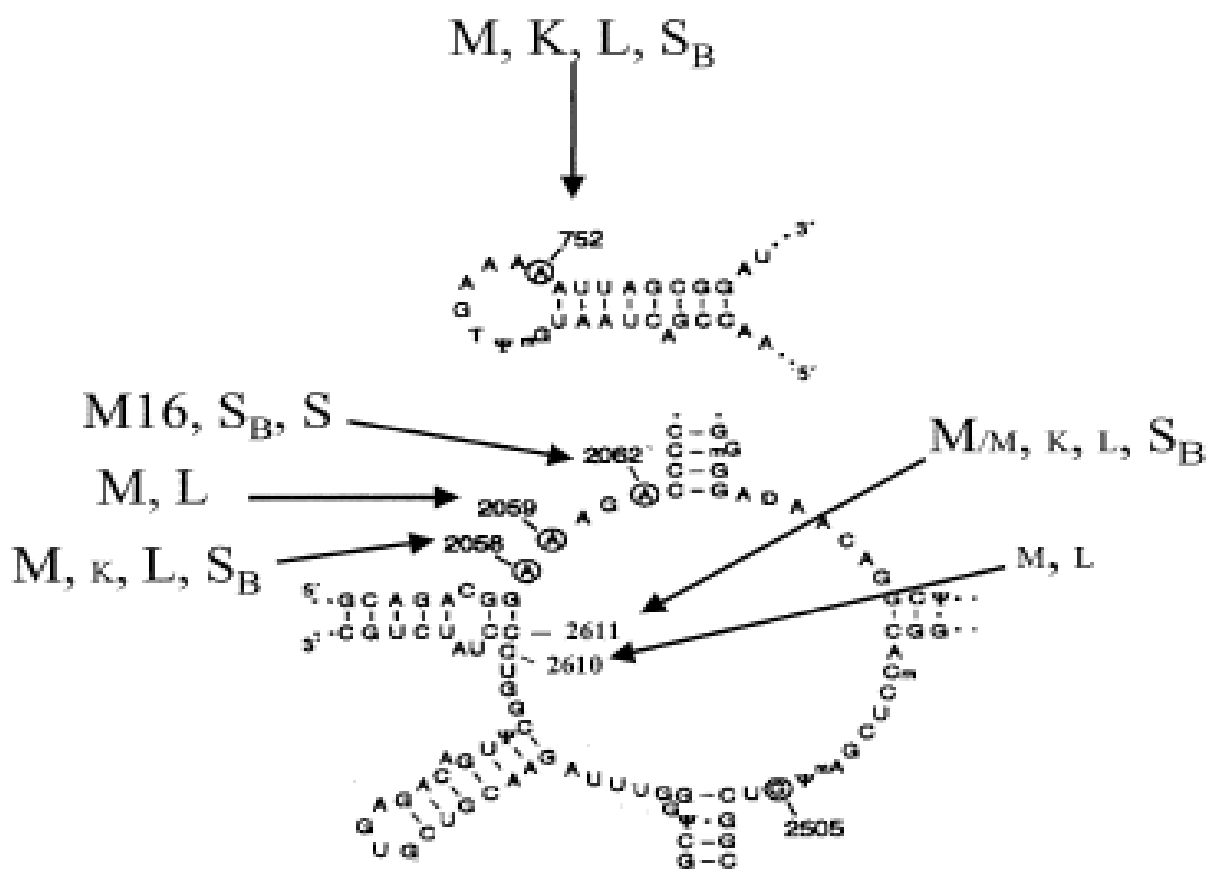


Figure 24 : Structure du domaine II et V de la sous unité 23S de l'ARNr de *E. coli* [64]

V-5- 3-Résistance aux kétolides

Les kétolides sont des dérivés hémisynthétiques de l'Erythromycine A, caractérisés par l'absence de L-cladinose en position 3 de l'aglycone, d'une fonction 3-céto et d'une chaîne latérale originale conférant une grande activité antibactérienne.

Ces molécules sont considérées comme une alternative face aux pneumocoques multirésistants. En effet, la littérature est unanime sur l'excellente activité des kétolides sur les pneumocoques sensibles et résistants à la Pénicilline et aux macrolides, indépendamment des mécanismes de résistance [82,24,112].

Cependant, on observe *in vitro* après une exposition répétée du germe à l'antibiotique, le développement d'une résistance à la télithromycine [33]. Le

mécanisme évoqué est une modification de la cible, notamment une diméthylation de l'ARNr par le gène *ermE* [68] .

VI- Prophylaxie (vaccination)

. VI-1- Vaccin polysaccharidique

L'existence des réactions croisées a permis la mise au point d'un vaccin antipneumococcique polyvalent : le Pneumo 23®, préparé à partir des polysides capsulaires des 23 sérotypes les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine. Depuis 1995, ce vaccin est recommandé en France dans les populations adultes à risque : les sujets splénectomisés, les drépanocytaires homozygotes, les patients atteints de syndrome néphrotique, les insuffisants respiratoires, les patients alcooliques atteints d'hépatopathie chronique, les insuffisants cardiaques et les sujets ayant des antécédents d'infection pulmonaire ou invasive à pneumocoque [31].

En 2006, cette recommandation a été étendue aux populations d'enfants âgés de plus de cinq ans qui présentent les mêmes risques [31]. Notons que la recommandation américaine est beaucoup plus large, puisqu'elle couvre également toutes les personnes âgées de plus de 65 ans, ainsi que celles en centres de soins tertiaires et les patients séropositifs. La couverture vaccinale en France est de l'ordre de 15–20 % des individus de plus de 65 ans institutionnalisés ; elle est probablement moins élevée au domicile [63]. Avec une recommandation beaucoup plus large, les États-Unis atteignent une couverture de l'ordre de 50 % des plus de 65 ans [77].

Ce vaccin s'administre en une seule dose et ne doit pas être renouvelé avant cinq ans.

L'efficacité obtenue est de 60 à 80% chez les adultes et les sujets âgés, qui produisent une augmentation de deux fois ou plus de leurs titres en anticorps spécifiques, deux ou trois semaines après la vaccination.

Du fait du développement tardif du répertoire des lymphocytes B produisant les anticorps antipolysaccharidiques chez l'enfant, la capacité de produire des

anticorps contre certains sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* n'apparaît pas avant l'âge de deux ou trois ans, ce qui explique l'inefficacité de ce vaccin chez l'enfant de moins de deux ans.

Cette mauvaise réponse aux problèmes pédiatriques est une préoccupation majeure, lorsqu'on sait que la plupart des bactériémies et méningites surviennent avant l'âge de deux ans.

VI-2 - Vaccins conjugués

Il s'agit d'un vaccin pneumococcique dans lequel l'antigène polysaccharidique est couplé à une protéine afin d'améliorer son immunogénicité. Il a été récemment mis sur le marché. Il couvre les sept sérosites les plus fréquemment associés à des infections invasives chez les enfants de moins de cinq. Ce vaccin offre l'avantage d'être immunogène chez les enfants de moins de deux ans, et de protéger contre la colonisation à pneumocoques, ce qui permet d'envisager un effet d'immunité de groupe. Il était recommandé en France, depuis 2002, pour les enfants de moins de deux ans présentant un risque élevé d'infection à pneumocoques, et est désormais recommandé à l'ensemble des enfants de moins de deux ans [31]. En 2003, environ 30 à 40 % des enfants de moins d'un an ont été vaccinés en France.

Ces vaccins sont immunogènes dès les premiers mois de la vie. Ils provoquent des séroconversions toujours supérieures aux vaccins polysaccharidiques classiques, et cela, quel que soit l'âge de la vaccination.

Le Prévenar®, un vaccin contenant les sept valences des sérotypes de pneumocoques les plus souvent en cause en pathologie est désormais disponible ; son efficacité est démontrée chez l'enfant, excepté dans le cadre de la prévention des otites, où son efficacité est médiocre.

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

I-MATERIEL

I-1- CADRE D'ETUDE

Ce travail a été réalisé à l'unité de recherche et de biotechnologie microbienne du laboratoire de Bactériologie-Virologie du Centre Hospitalier Universitaire Aristide Le Dantec pour les souches originaires de Dakar et au CHU Ibn Rochd de Casablanca pour les souches issues du Maroc.

I-2- ORIGINE DES SOUCHES

Les souches de *Streptococcus pneumoniae* originaires du Maroc(Casablanca) et du Sénégal (Dakar) ont été isolées entre janvier 2007 et Juin 2007 à partir des prélèvements effectués chez des patients souffrant d'infections respiratoires aiguës (otite, angine, sinusite, pneumonie, pharyngite, rhinite....

1-3-CONTROLE DE QUALITE DES TESTS EFFECTUES

- Le contrôle de qualité des tests a été effectué grâce à l'utilisation de souches de référence : *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

I-4- MATERIEL D'ETUDE

Matériel d'isolement

- Gélose Columbia
- Sang de cheval
- Sang de cheval lysé
- Anse de platine calibrée
- Jarre d'incubation
- Bougie
- Etuve à 37°C

- Autoclave



Matériel d'identification

- Peroxyde d'hydrogène
- Disque d'oxydase
- Lames porte-objets
- Bile esculine
- Sels biliaires
- Disques d'optochine
- Eau physiologique
- Eau distillée
- Bouillon trypticase soja
- Slidex STREPTO A
- Slidex PNEUMO



Évaluation de la sensibilité

- Pince
- Tube à échelle Mac Farland (0,5)
- Ecouvillon stérile
- Boîtes de pétri
- Sang de mouton
- Sang de cheval lysé
- Gélose Mueller – Hinton
- Eau physiologique
- Eau distillée stérile
- Pipettes graduées (1ml et 10ml)
- Tube à hémolyse
- Disques d'antibiotiques (tableau V)
- Bandes E-test® (AB BioDisk) (tableau VI)

Tableau IV : Disques d'antibiotiques

Antibiotiques	Charges (µg)
β-lactamines	
Amoxicilline	10
Ampicilline	10
Amoxicilline/ac.clavulanique	20 +10
Céfépime	30
Céfixime	5
Céfotaxime	30
Cefpodoxime	10
Ceftriaxone	30
Oxacilline	1
Pénicilline G	10
Macrolides	
Erythromycine	15
Azithromycine	15
Clarithromycine	15
Spiramycine	100
Pristinamycine	15
Clindamycine	2

Tableau V : Bandes **E-test[®]**

Antibiotiques	Gradients de concentration (µg/ml)
β-lactamines	
Amoxicilline	0.016 - 256
Ampicilline	0.016 - 256
Amoxicilline/acide clavulanique	0.016 - 256
Céfaclor	0.016 – 256
Céféprime	0.016 – 256
Céfixime	0.016 - 256
Céfotaxime	0.002 - 32
Cefpodoxime	0.016 - 256
Ceftriaxone	0.016 - 256
Céfuroxime	0.016 - 256
Oxacilline	0.016 - 256
Pénicilline G	0.002 - 32
Macrolides	
Erythromycine	0.016 - 256
Azithromycine	0.016 - 256
Clarithromycine	0.016 – 256
Spiramycine	0.016 – 256
Pristinamycine	0.016 – 256
Clindamycine	0.016 – 256



CONSERVATION

- Cryotube

- Sang de mouton
- Glycérol
- GSC
- Lait écrémé
- Bouillon MH
- Bouillon Schaedler
- Bouillon cœur cerveau.



EXPLOITATION DES RESULTATS

Les résultats ont été exploités à l'aide du logiciel : logiciel WHONETV

II- METHODES

II-1- ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SOUCHES

II-1-1 Contrôle de qualité

II-1-1-1- Stérilisation

Une fois que les milieux de culture sont préparés, ils ont été mis à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Les milieux qui ne présentent pas de culture après 24 heures prouvent ainsi leur stérilité.

II-1-1-2- Efficacité

L'efficacité des milieux et des tests a été contrôlée à l'aide de la souche de référence de *Streptococcus pneumoniae* : ATCC 49619.

II-1-2 Isolement et identification de *Streptococcus pneumoniae*

Les techniques d'isolement et d'identification suivies pour le *Streptococcus pneumoniae* sont décrites dans le schéma de la figure 25 .

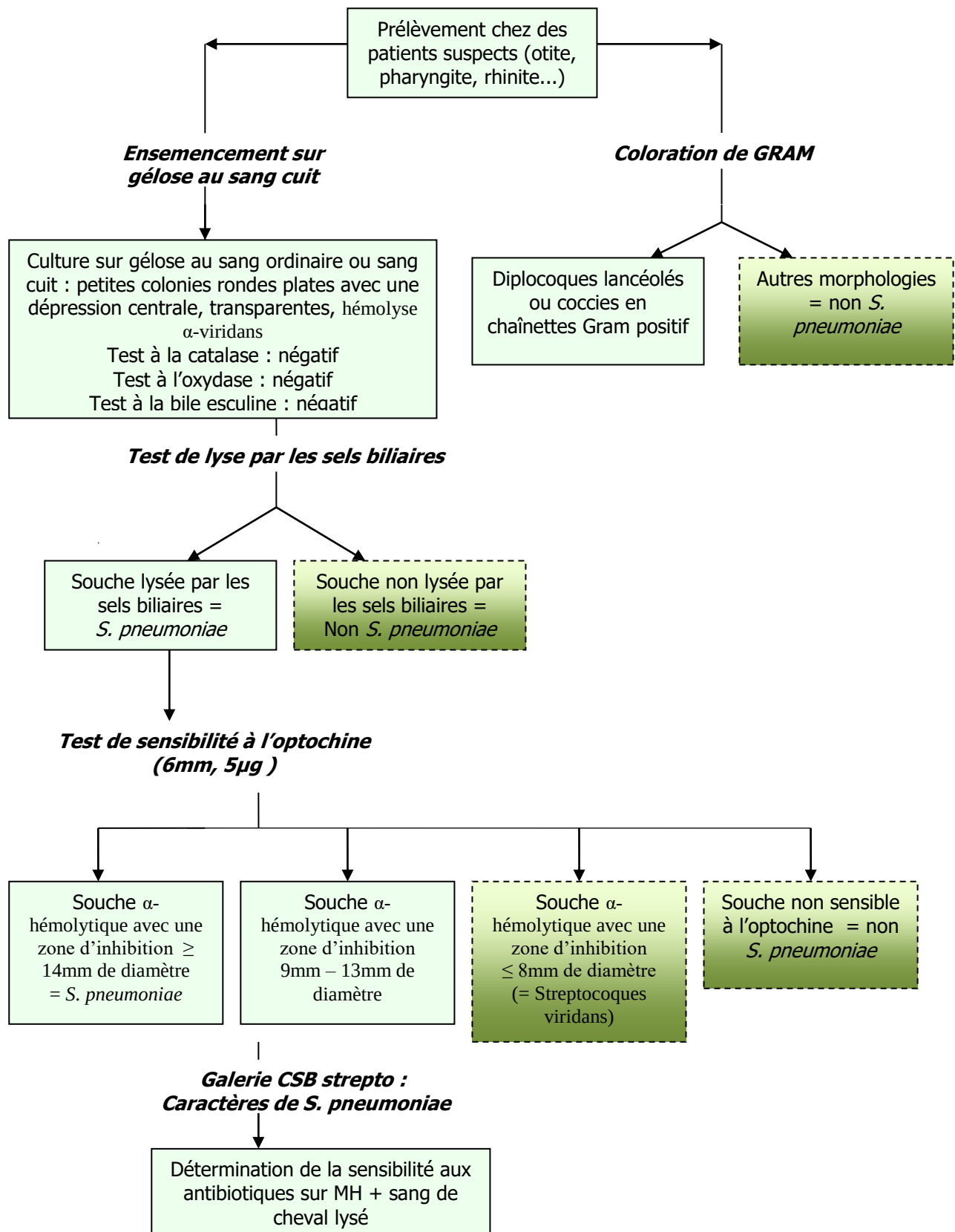


Figure 25: Isolement et identification de *Streptococcus pneumoniae* [88]

II-2- DETERMINATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est fondée sur la recherche des diamètres d'inhibition et sur la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).

Deux méthodes ont été utilisées :

- la diffusion en milieu gélosé
- Epsillometer-test (E-test)

II-2-1- Contrôle de qualité

Les méthodes d'étude de la sensibilité ont été validées à l'aide de la souche de référence suivant la procédure Four-day-run. Cette procédure se déroule pendant quatre jours successifs comme l'indique la figure ci-dessous.

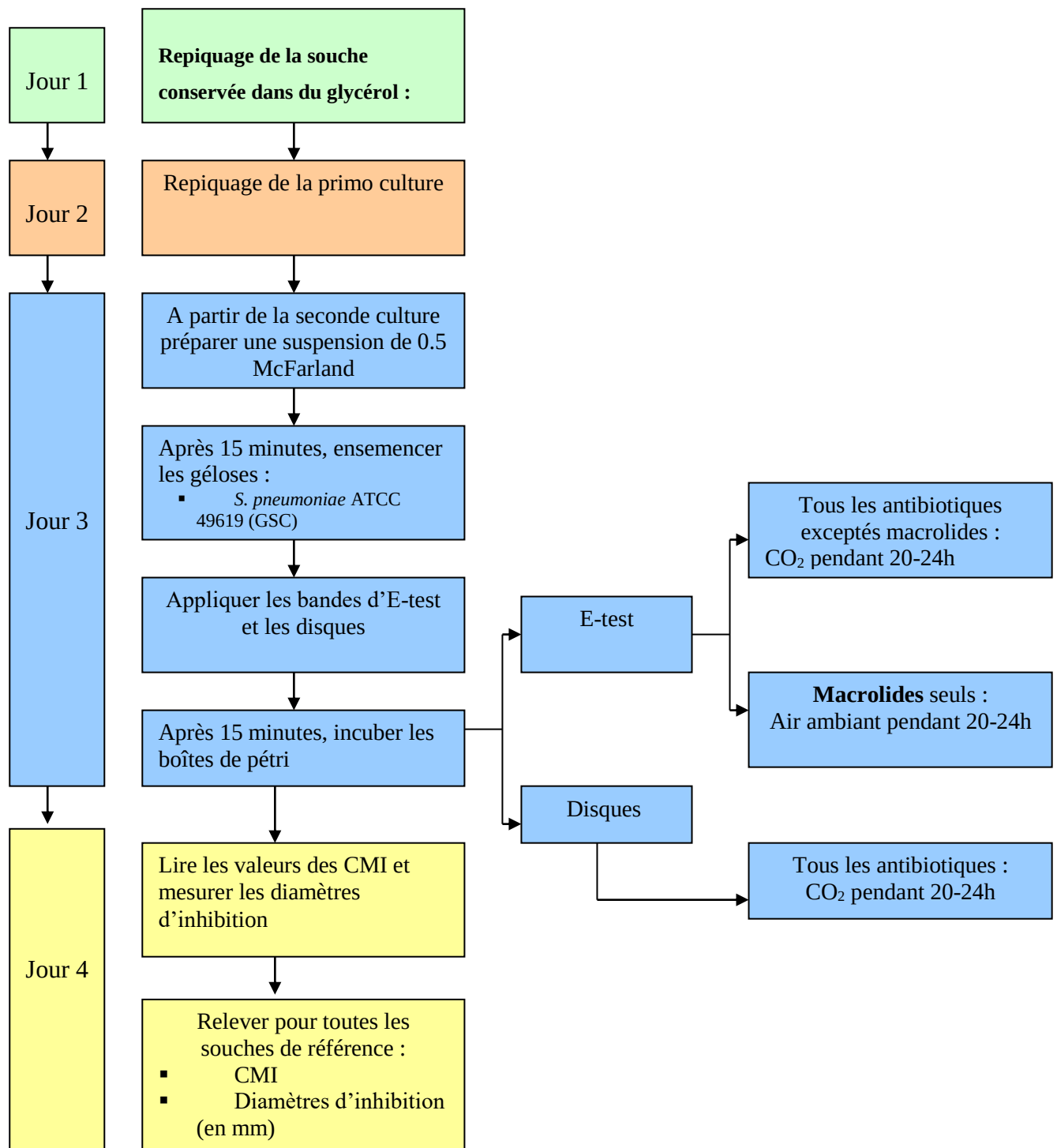


Figure 26 : Contrôle des méthodes d'étude de la sensibilité [83]

II-2-2- Détermination des diamètres d'inhibition : Antibiogramme standard par la méthode des disques

II-2-2-1- Principe

L'antibiogramme standard utilise la technique de la diffusion en milieu gélosé. Il permet d'apprécier la modification de la croissance d'une souche bactérienne en présence de l'antibiotique testé.

II-2-2-2- Méthode de réalisation

- Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune, un inoculum de 1 à 2 colonies a été préparé dans 10ml d'eau physiologique. L'opacité a été ajustée à celle produite par le tube 0.5 de la gamme de Mac Farland (concentration de 10^6 bactéries/ml ou 10^6 UFC/ml).

L'inoculum ainsi préparé a été dilué au $1/10^e$.

- Conditions

Tableau VI : Conditions de réalisation des antibiogrammes [59]

Caractéristiques	<i>S. pneumoniae</i>
Age de l'inoculum (h)	16 - 18
Milieux	MH + sang de cheval
Conditions d'incubation	35°C, 5%CO ₂ (Macrolides, air ambiant)
Temps d'incubation(h)	20 – 24
Souche de contrôle de qualité	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619

- Ensemencement et application des disques

L'ensemencement des souches a été effectué à l'aide des écouvillons alors que les disques d'antibiotiques ont été appliqués sur la gélose à l'aide d'une pince en appuyant légèrement.

- Lecture de l'antibiogramme

La lecture de l'antibiogramme est réalisée à partir des mesures effectuées à l'aide d'une règle à coulisse. Ces valeurs sont comparées aux valeurs critiques de l'antibiotique correspondant.

Le germe est qualifié de sensible (S), d'intermédiaire (I) ou de résistant (R) selon le degré de sensibilité des souches évalué par la mesure de la grandeur du diamètre de la zone d'inhibition. Les critères d'interprétation pour les germes sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau VII : Critères d'interprétation des diamètres d'inhibition pour
Streptococcus pneumoniae selon le NCCLS/CLSI [84]**

Antibiotiques	Diamètres critiques en mm		
Beta-lactamines	R	I	S
Amox/ac.clav	≤13	14 -17	≥18
Céfépime	≤14	15-17	≥18
Céfixime	≤15	16 -18	≥19
Céfotaxime	≤14	15 -22	≥23
Céfpodoxime	≤17	18 -20	≥21
Céftriaxone	≤13	14 -20	≥21
Oxacilline	≤19	-	≥20
Pénicilline G	≤13	14 -16	≥17
Macrolides			
Erythromycine	≤15	16 -20	≥21
Azithromycine	≤13	14 -17	≥18
Clarithromycine	≤16	17 -20	≥21
Spiramycine	≤19	20-23	≥24
Pristinamycine	≤19	20 -21	≥22
Clindamycine	≤15	16 -18	≥19

II-2-3- Détermination de la CMI par E-test®

II-2-3-1- Principe

Le principe du E-test® est basé sur la combinaison des deux concepts : dilution et diffusion.

Le système E-test® utilise une bande en plastique non poreuse calibrée par un gradient pré établi de concentrations d'antibiotiques couvrant 15 dilutions pour déterminer la CMI en µg/ml d'une souche testée en milieu gélosé.

Le gradient couvre une rangée de concentrations allant de 0,016 à 256 µg/ml ou 0,002 à 32 µg/ml selon l'antibiotique.

II-2-3-2- Méthodes de réalisation

- Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé en réalisant une suspension de colonies obtenues d'une culture pure de 20 à 24heures dans de l'eau physiologique.

La suspension a été calibrée à l'échelle 0.5 Mac Farland.

- Ensemencement

Le E-test® se fait de préférence dans des boîtes de pétri de 150mm de diamètre. Ce qui permet de déposer un maximum de 6 bandes.

La gélose MH a été coulée avec une épaisseur de 4.5 à 5mm. Une fois la gélose solidifiée, la boîte a été mise à l'étuve pour avoir une surface bien sèche.

L'ensemencement a été effectué par écouvillonnage, c'est la méthode de KIRBY-BAUER préconisée par le NCCLS qui consiste à imbiber un écouvillon stérile de la suspension bactérienne et essorer sur le rebord du tube. Effectuer un

passage de l'écouvillon sur toute la surface de la gélose par simple rotation de 120° tout en s'assurant que toute la boîte est bien ensemencée.

- Application des bandes E-test®

- Faire sortir le paquet de bandes à utiliser du congélateur (-20°C) et le laisser revenir à la température ambiante jusqu'à ce que toute l'humidité s'évapore avant de l'ouvrir.
- Vérifier l'absence de fentes et de trous sur les paquets de E-test ; si le paquet est endommagé, ne pas l'utiliser.
- Retirer les bandes avec une pince par la partie supérieure où il est marqué E.
- Eviter de toucher la zone chargée à la main.
- Placer les bandes dans la cassette d'insertion des bandes, chaque puits peut contenir 20 bandes.
- Mettre le même type d'antibiotique par puits.
- Remplir les puits de la cassette suivant l'antibiogramme de l'espèce à tester.
- Prélever bande par bande à l'aide de l'applicateur et les déposer à la surface de la gélose (après 50 bandes, changer la bande adhésive de l'applicateur.
- Incuber immédiatement les boîtes à 37°C sous une atmosphère enrichie à 5% de CO₂ pendant 20 à 24 heures.

Remarque

Ne pas déplacer une bande E-test® une fois déposée sur la gélose car la libération de l'antibiotique est instantanée.

- Lecture de la valeur de la CMI

L'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse. La valeur de la CMI correspond au point d'intersection entre la limite de la zone d'inhibition et la bande d'E-test®.

II-2-3-3- Stockage des bandes E-test®

Les paquets d'E-test® sont stockés au congélateur à -20°C.

Après l'ouverture d'un paquet, les bandes inutilisées doivent être gardées dans des tubes de stockage hermétique contenant un dessiccateur et placées à -20°C. Il faut toujours s'assurer que le dessiccateur est bleu avant l'utilisation de la bande.

Les tubes de stockage sont marqués avec une étiquette indiquant la date péremption, le numéro de lot et le code l'antibiotique.

II-2-3-4- Critères d'interprétation

- Calcul des CMI₅₀ et CMI₉₀

C'est la détermination de la médiane par la méthode d'extrapolation linéaire. Les CMI₅₀ et CMI₉₀ sont données par la formule suivante :

$$X = \frac{A-B}{C-B} \times (Z-Y) + Y$$

Si $X = \text{CMI}_{50}$

A = moitié des souches inhibées

B = effectifs cumulés immédiatement inférieurs à A

C = effectifs cumulés immédiatement supérieurs à A

$B < A < C$

Y = CMI de B

Z = CMI de C

Si $X = \text{CMI}_{90}$

A = 90% des souches inhibées

B = effectifs cumulés immédiatement inférieurs à A

C = effectifs cumulés immédiatement supérieurs à A

$B < A < C$

Y = CMI de B

Z = CMI de C

- Valeurs critiques des antibiotiques testés Interprétation standard (µg/ml) selon NCCLS et WHONET V

**Tableau VIII : Critères d'interprétation des concentrations minimales
inhibitrices (CMI) du *Streptococcus pneumoniae*
selon le NCCLS/CLSI [84]**

Antibiotiques	Concentrations critiques (µg/ml)		
	R	I	S
Beta-lactamines			
Amoxicilline	≥8	3 – 7	≤2
Amox/ac.clav	≥8/4	-	≤2/1
Cefaclor	≥4	2 – 3	≤1
Céfixime	≥4	2 - 3	≤1
Céfotaxime	≥4	2 - 3	≤1
Céfpodoxime	≥2	-	≤0.5
Céftriaxone	≥4	2 - 3	≤1
Cefuroxime	≥2	2 - 3	≤0.5
Oxacilline	≥0.5	-	≤0.25
Pénicilline G	≥2	0.12 - 1	≤0.064
Macrolides			
Erythromycine			
Azithromycine	≥2	-	≤0.5
Clarithromycine	≥1	-	≤0.25

II-3- CONSERVATION DES SOUCHES BACTERIENNES

- Conservation de courte durée à +4°C: GSC en pente.
- Conservation de longue durée : à -20°C et -70°C :
 - Sang de cheval (ou de mouton)
 - Bouillon MH + glycérol + sang de cheval
 - Bouillon Schaedler + glycérol + sang de cheval
 - Lait écrémé

II-4- EXPLOITATION DES RESULTATS

Le logiciel WHONET (World Health Organisation Network) est une série de programmes facilitant la gestion des résultats des tests de sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

TROISIEME PARTIE RESULTATS /DISCUSSION/CONCLUSION

I- LES PRELEVEMENTS

- Les souches de Dakar : 65 prélèvements ont été réalisés dans quatre structures différentes dont le service d'ORL de l'HALD, le service de Pédiatrie de l'HALD, le service de Pneumo-phtisiologie CHU FANN et un cabinet privé d'ORL
- Les souches de Casablanca 45 prélèvements effectués dans les services hospitaliers du CHU –Hôpital Ibn Rochd : ORL.Pneumologie ; Pédiatrie.

Les prélèvements réalisés à Casablanca se répartissent en 30,33 % d'enfants atteints de Rhinopharyngites et d'angines principalement et le reste d'adultes ayant des affections de Rhinopharyngites ; d'otites et de sinusites.

Pendant l'étude, les enfants souffraient surtout de rhinopharyngites ; les sinusites et les pneumopathies étaient rares. Les adultes ont été sujets dans la plupart des cas aux OMA et aux angines, aucune bronchite n'a été diagnostiquée.

Les prélèvements effectués à Dakar sont à effectifs très proches entre enfants et adultes. Les enfants présentent des affections de types Rhinopharyngites et angines dans la plupart des cas alors que les adultes présentaient des affections pulmonaires.

II- SOUCHES BACTERIENNES

Le travail a été réalisé sur un collectif de 75 souches de *S.pneumoniae* sur un total de 110 souches prélevées ; dont 40 souches originaires de Dakar et 35 souches de Casablanca.

Tableau IX : Répartition des souches selon le type de prélèvement

Souche/Lieu Prélèvement	<i>S. pneumoniae</i> Dakar	<i>S. pneumoniae</i> Casablanca
Otites moyennes aiguës	7	8
Sinusites	6	4
Rhinopharyngites	6	4
Angines	8	7
Bronchites	5	5
Pneumopathies	8	7
total	40	35

Les souches de *S.pneumoniae* proviennent des différentes infections basses et hautes.

III- RESULTATS DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

III-1- RESULTATS DU CONTROLE DES METHODES D'ETUDE DE LA SENSIBILITE

Les valeurs des diamètres d'inhibition et des CMI pour chaque souche de référence sont comprises dans les limites acceptables proposées par la NCCLS/CLSI [84].

Tableau X : Contrôle des disques d'antibiotiques (Diamètres en mm)

Antibiotiques	S. pneumoniae ATCC 49612	
Beta-lactamines	Valeurs Obtenues	Valeurs Acceptables
Céfotaxime	32	31-39
Céfpodoxime	30	28-34
Céftriaxone	32	30-35
Oxacilline	9	≤12
Pénicilline G	26	24-30
Macrolides		
Erythromycine	26	25-30
Azithromycine	21	19-25
Clarithromycine	27	25-31
Clindamycine	20	19-25

Tableau XI : Contrôle des bandes E-test (CMI en µg/ml)

Antibiotiques	S. pneumoniae ATCC 49619	
Beta-lactamines	Valeurs obtenues	Valeurs acceptables
Amoxicilline	.06	.03-.12
Céfaclor	1	1-4
Céfotaxime	.12	.03-.12
Céfepodoxime	.12	.03-.12
Céftriaxone	.06	.03-.12
Cefuroxime	1	.25-1
Pénicilline G	.5	.25-1
Macrolides		
Erythromycine	.06	.03-.12
Azithromycine	.12	.06-.25
Clarithromycine	.12	.03-.12

III-2- SENSIBILITE DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

Plusieurs antibiotiques de la famille des bétalactamines et des macrolides ont été testés vis-à-vis de *Streptococcus pneumoniae* . L'évaluation de la résistance a été déterminée par deux méthodes différentes. L'antibiogramme standard et par la méthode E-test qui nous a donné les pourcentages des souches sensibles, de sensibilités intermédiaires et résistantes par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). C'est ainsi que les pourcentages des souches sensibles (**S**), intermédiaires (**I**) et résistantes (**R**) ont été calculés.

III-2-1- Résultats de l'Antibiogramme standard des souches de Dakar

Tableau XII : Sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* par antibiogramme standard à Dakar

Antibiotiques	Diamètres critiques (mm)		Profil		
	R	S	% R	% I	% S
Beta-actamines					
Oxacilline	≤19	≥20	33,3	0	66,7
Pénicilline G	≤13	≥17	0	31,7	68,3
Amox/ac.clav	≤13	≥18	0	0	100
Céfépime	≤14	≥18	0	0	100
Céfotaxime	≤14	≥23	0	25	75
Céfixime	≤15	≥19	25	0	75
Ceftriaxone	≤13	≥21	0	0	100
Cefpodoxime	≤18	≥21	25	0	75
Macrolides					
Erythromycine	≤15	≥21	4,3	10	85,7
Azithromycine	≤13	≥18	1,5	0	98,5
Clarithromycine	≤16	≥21	5	5	90
Spiramycine	≤19	≥24	12,5	0	87,5
Pristinamycine	-	≥19	14,3	0	85,7
Clindamycine	≤15	≥19	2	0	98

III-2-2- Résultats de l'Antibiogramme par E-test souches de Dakar

Tableau XIII : Sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* par E-test à Dakar

Antibiotiques	Concentrations critiques (µg/ml)		Profil		
	R	S	%R	%I	%S
Beta-lactamines					
Pénicilline G	≥2	≤0.064	0	32,5	67,5
Oxacilline	≥0.5	≤0.25	35,5	0	64,5
Amox/ac.clav	≥8/4	≤2/1	0	1,6	98,4
Céfaclor	≥4	≤1	4,7	0	98
Céfixime	≥4	≤1	20	4	76
Céfotaxime	≥4	≤1	0	23	77
Ceftriaxone	≥4	≤1	0	0	100
Céfuroxime	≥4	≤1	0	10	100
Cefpodoxime	≥2	≤0.5	24	2	74
Macrolides					
Azithromycine	≥2	≤0.5	1	0	99,0
Clarithromycine	≥1	≤0.25	5,5	6	88,5

Les tests de sensibilité effectués par les deux techniques :l'antibiogramme standard et l'E-Test ont montré une concordance de leurs résultats.

Les bêta-lactamines testés ont été actifs sur plus de 66% des souches. La pénicilline G et l'oxacilline ont été les moins actives avec respectivement des taux d'inhibition de 67 et 68%. Une résistance notable variant de 25 à 33% s'est montrée donc chez l'oxacilline, la pénicilline G et les cephalosporines de 3ième génération : la cefpodoxime et la céfixime.

Les macrolides ont montré une efficacité plus élevée que les beta-lactamines. Plus de 85% des souches ont été sensibles à ces antibiotiques cependant avec des résistances notables de 12,5 et de 14,3% respectivement chez la Spiramycine et la Pristinamycine.

III-2-3- Résultats de l'Antibiogramme standard des souches de Casablanca

Tableau XIV: Sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* par antibiogramme standard à Casablanca

Antibiotiques	Diamètres critiques (mm)		Profil		
	R	S	% R	% I	% S
BétaLactamines					
Pénicilline G	≤13	≥17	8,6	11,3	80,1
Oxacilline	≤19	≥20	23,3	0	76,7
Amox/ac.clav	≤14	≥18	0	0	100
Céfépime	≤14	≥18	0	0	100
Céfotaxime	≤15	≥23	0	15	85
Céfixime	≤13	≥19	10	10	80
Ceftriaxone	≤18	≥21	0	0	100
Cefpodoxime		≥21	10	5	85
Macrolides					
Erythromycine	≤15	≥21	14,3	0	85,7
Azithromycine	≤13	≥18	11,5	0	88,5
Clarithromycine	≤16	≥21	9,3	3	87,7
Clindamycine	≤15	≥19	11,5	0	88,5
Pristinamycine	-	≥19	15	5	80
Spiramycine	≤19	≥24	12	6	82

III-2-4- Résultats de l'Antibiogramme par E-test des souches de Casablanca

Tableau XV: Sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* par E-test à Casablanca

Antibiotiques	Concentrations critiques (µg/ml)		<u>Profil</u>		
	R	S	%R	%I	%S
Beta-lactamines					
Pénicilline G	≥2	≤0.064	8	12	80
Oxacilline	≥0.5	≤0.25	23	0	77
Amox/ac.clav	≥8/4	≤2/1	1	0	99
Céfaclor	≥4	≤1	12	2	86
CEFIXIME	≥4	≤1	10	10	80
Céfotaxime	≥4	≤1	14	0	86
Ceftriaxone	≥4	≤1	0	0	100
Céfuroxime	≥4	≤1	9,5	2	88,5
Cefpodoxime	≥2	≤0.5	10	6	84
Macrolides					
Azithromycine	≥2	≤0.5	9	2	89
Clarithromycine	≥1	≤0.25	9,4	2	88,6

Les tests de sensibilité effectués par les deux techniques : l'antibiogramme standard et l'E-Test ont montré une concordance de leurs résultats.

Les bêta-lactamines ont montré une activité plus importante dans le cas des souches isolées de Casablanca. En effet plus de 76% des souches testées ont été sensibles. Cependant 8,6% des souches se sont montrées résistantes à la pénicilline G et 11,3% étaient intermédiaires. Des résistances notables ont été enregistrées chez l'oxacilline (23%), la cefaclor (12%) , la cefexime et la cefpodoxime (10%).Par contre l'amox /ac.clav , la cefepime et la ceftriaxone ont montré une efficacité très élevée (100%).

Les macrolides se sont montrés plus efficaces sur plus de 80% des souches. Cependant des taux de résistance importants allant de 9 à 15% apparaissent chez l'ensemble des macrolides notamment l'Erythromycine et la pristinamycine (14,3 et 15%).On note également l'absence de souches à résistance intermédiaire vis-à-vis de l'érythromycine.

III-2-5- Comparaison de la sensibilité des souches de *Streptococcus Pneumoniae* vis-à-vis des Bétalactamines et des Macrolides à Dakar et à Casablanca.

TableauVI : Comparaison des taux de sensibilité à Dakar et à Casablanca

Antibiotiques	Profil de sensibilité en%	
	Dakar	Casablanca
Beta-lactamines		
Pénicilline G	68, 3	80,1
Oxacilline	66,7	76,7
Amox/ac.clav	100	100
Céfaclor	98	85
CEFIXIME	75	80
Céfotaxime	75	85
Ceftriaxone	100	100
Céfuroxime	100	88,5
Cefpodoxime	75	85
Céfepime	100	100
Macrolides		
Erythromycine	85,7	85,7
Azithromycine	98,5	88,5
Clarithromycine	90	87,7
Spiramycine	87,5	82
Pristinamycine	85,7	80
Clindamycine	98	88,5

La comparaison de la variation de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* entre les villes de Dakar et de Casablanca montre une nette diminution de la sensibilité du *Streptococcus pneumoniae* aux Bétalactamines à Dakar par rapport à Casablanca. Cette baisse de sensibilité est de l'ordre de 5 à 13 % .

Il est à noter que dans les deux villes Dakar et Casablanca, certains antibiotiques comme l'Amox/ac.clav, la ceftriaxone et la cefépime restent encore parmi les plus efficaces avec des taux d'inhibition de 100%.

La pénicilline G et l'oxacilline sont les deux antibiotiques qui ont perdu plus de leur pouvoir inhibiteur dans les deux grandes villes de l'Afrique de l'ouest.

A l'inverse la sensibilité du *Streptococcus pneumoniae* aux Macrolides a enregistré une diminution de l'ordre de 3 à 10% à Casablanca par rapport à Dakar. Au niveau de ce groupe d'antibiotiques l'Azithromycine et la clindamycine sont les plus efficaces dans l'inhibition du *S. pneumoniae*. Toutefois on constate la progression de la résistance vis-à-vis des Macrolides.

III-2-6- Multirésistance

Au niveau des 40 souches étudiées à Dakar cinq souches de *S. pneumoniae* se sont montrées multirésistantes à tous les antibiotiques à l'exception de la Céfépime, la ceftriaxone et l'association Amoxicilline/Acide clavulanique. Ce qui a donné un taux de 12,5% de la multirésistance.

Concernant les 35 souches isolées à Casablanca 11,42% des souches de *S. pneumoniae* se sont montrées multirésistantes à tous les antibiotiques à l'exception de la céfépime, la ceftriaxone et l'association Amoxicilline/Acide clavulanique. Ce

qui a donné un taux de 11,42% de la multirésistance , taux qui est assez proche de celui retrouvé chez les souches de Dakar.

III-2-7- Phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches de *S. pneumoniae* isolées à DAKAR

Tableau XVII : Phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches de *S. pneumoniae* isolées à DAKAR

Phénotype de résistance	Mécanisme de résistance	Gènes produits	β -lactamines		N	%
			Pénicilline	C III G		
Péni G	Diminution de l'affinité de la PLP 2x et 2b	Mutation	r	S	5	12,5
PENI G	Diminution de l'affinité de la PLP 2x, 2b, 1a	Mutation	R	S	4	10
CIII R	Diminution de l'affinité de la PLP 1a et 2x	Mutation	S	R	0	0
CIII R	Diminution de l'affinité	Inconnu	R	R	3	7,5

12,5% des souches de pneumocoques ont exprimé le phénotype PénI R, 10% ont exprimé le phénotype PENI R et 7,5% des souches seulement ont exprimé le phénotype CIII R.

III-2-8-Phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches de *S. pneumoniae* isolées à Casablanca .

Tableau XVIII : Phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches de *S.pneumoniae* isolées à Casablanca.

Phénotype de résistance	Mécanisme de résistance	Gènes produits	β -lactamines		N	%
			Pénicilline	C III G		
PénI G	Diminution de l'affinité de la PLP 2x et 2b	Mutation	r	S	4	11,42
PENI G	Diminution de l'affinité de la PLP 2x, 2b, 1a	Mutation	R	S	2	5,71
CIII R	Diminution de l'affinité de la PLP 1a et 2x	Mutation	S	R	0	0
CIII R	Diminution de l'affinité	Inconnu	R	R	1	2,85

11,42% des souches de pneumocoques ont exprimé le phénotype pén R . Le phénotype PENI R a été exprimé par deux souches, alors qu'une seule souche avait exprimé le phénotype CIII R .

III-2-9 Phénotypes de résistance aux macrolides des souches de *S. pneumoniae* isolées à Casablanca .

Tableau XIX : Phénotypes de résistance aux macrolides des souches de *S. pneumoniae* isolées à Dakar

Phénotypes de résistance	Gènes produits	Profil de résistance					n	%
		M14-15	M16	L	S _B	K		
MLS _B	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr)	R	R	r ou R	r ou R	S	2	5
ML	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr)	R	R	R	S	S	0	0
ML (bas niveau)	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr)	R	S	R	S	S	0	0
MS _B	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr) rplD (protéine L4)	R	S	S	R	S	0	0
MLS _B	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr)	R	R	R	R	R	0	0
MS	rplV(protéine L22)	R	R	S	S	S	0	0

Le seul phénotype de résistance aux macrolides a été le phénotype MLS_B inductible exprimé par une souche soit 5% de l'ensemble des souches de pneumocoques. Le mécanisme développé a été la méthylation ribosomale codée par le gène *erm(B)*.

III-2-10 Phénotypes de résistance aux macrolides des souches de *S. pneumoniae* isolées à Casablanca.

Tableau XX : Phénotypes de résistance aux macrolides des souches de *S.*

Phénotypes de résistance	Gènes produits	Profil de résistance					n	%
		M14-15	M16	L	S _B	K		
MLS _B	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr)	R	R	r ou R	r ou R	S	3	8,57
ML	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr)	R	R	R	S	S	0	0
ML (bas niveau)	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr)	R	S	R	S	S	0	0
MS _B	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr) rplD (protéine L4)	R	S	S	R	S	0	0
MLS _B	rrl (domaine V de la sous unité 23S de l'ARNr)	R	R	R	R	R	0	0
MS	rplV(protéine L22)	R	R	S	S	S	0	0

pneumoniae* isolées à Casablanca.*M16 =** Macrolides à 16 atomes**L =** Lincosamides

M14-15 = Macrolides à 14 et 15 atomes

S_B = streptogramine B

Le seul phénotype de résistance aux macrolides a été le phénotype **MLS_B** inductible exprimé par 3 souches soit 8,57% de l'ensemble des souches de pneumocoque . Le mécanisme développé a été également la méthylation ribosomale codée par le gène *erm(B)*.

IV-Discussion

IV-1- APPROCHE METHODOLOGIQUE

IV-1-1- PRELEVEMENTS

Les prélèvements ont été effectués dans de bonnes conditions afin d'éviter les contaminations. Pour cela un nettoyage préalable des orifices était fait lors des écouvillonnages des otites moyennes aiguës et des rhino-sinusites. La ponction des sinus plus indiquée était rarement effectuée à cause de la délicatesse de l'opération.

Les difficultés rencontrées lors du prélèvement du pus d'origine auriculaire étaient dues à l'épaisseur de l'écouvillon. Les prélèvements étaient donc sujets à des contaminations. Certains auteurs préconisent l'utilisation d'écouvillon en alginate monté sur tige métallique [6].

Les prélèvements des voies respiratoires basses étaient plus difficiles à réaliser car désagréables pour le patient et source de contaminants salivaires. Ceci explique le nombre important de prélèvements inexploitable dans cette étude.

Le transport des prélèvements :

Le transport des prélèvements a été réalisé dans des glacières à 4°C .Une fois arrivé au laboratoire les prélèvements ont été traités dans les deux heures qui suivent à cause de la fragilité des germes *Streptococcus pneumoniae* très sensibles à la prolifération des autres bactéries.

IV-1-2-EXAMEN MICROSCOPIQUE APRES COLORATION

La coloration de Gram a permis d'exclure les autres germes non concernés par l'étude.

Bien que l'examen microscopique est très indicateur pour les Pneumocoques qui ont une morphologie bien spécifique, il n'est pas suffisant pour la suspicion des autres germes.

IV-1-3- ISOLEMENT

Le milieu de culture utilisé est la GSC simple constitué du milieu de base gélosé Trypticase de soja. Le sang est d'origine équine.

La primo culture génère la croissance d'une multitude de bactéries ce qui a entraîné la difficulté de distinguer et de sélectionner les colonies étudiées. Ce qui nous a obligé d' isoler les colonies suspectes pour l'identification.

Le milieu GSC simple présente les pneumocoques en colonies α -viridans plates avec une dépression centrale qui les distinguent des autres germes Entérocoques non hémolytiques et des streptocoques α -viridans blanchâtres et bombées. Toutefois leur distinction n'était pas simple.

IV-1-4- IDENTIFICATION DE *Streptococcus Pneumoniae*

L'identification des souches de *Streptococcus pneumoniae* a été effectuée par le test de lyse avec les sels biliaries qui est très spécifique des Pneumocoques. La sensibilité à l'optochine et la galerie CSB a confirmé l'authenticité des souches.

IV-1-5- CONSERVATION

La conservation des souches de *Streptococcus pneumoniae* n'a pas été très efficace ce qui a entraîné la perte de certaines souches.

Trois milieux de conservation ont été utilisés. Il s'agissait du sang frais de mouton ou de cheval, du lait écrémé, du bouillon de MH additionné de glycérol et de sang de mouton.

La conservation a été meilleure avec la méthode au sang frais de mouton ou de cheval.

IV-1-6- TESTS DE SENSIBILITE

Antibiotiques

Le choix des antibiotiques a été porté sur les deux grandes familles d'antibiotiques : les bêta-lactamines et les macrolides qui sont les plus prescrits au Maroc et Sénégal pour mieux évaluer la résistance bactérienne.

Milieu

Le milieu utilisé est la GSC simple qui présente la contrainte de ne pas favoriser une croissance importante des colonies. La lecture des CMI et des diamètres d'inhibition a été possible par l'utilisation d'un fond noir sous les boîtes de petri.

Techniques

L'étude de tests de sensibilité a utilisé la combinaison de deux techniques : l'antibiogramme standard et la détermination des CMI.

- *Antibiogramme standard*

La technique de l'antibiogramme standard est facile à réaliser et moins onéreuse toutefois il est nécessaire de respecter les normes NCCLS .

- *Détermination de la CMI*

La méthode de détermination de la CMI par E-test est onéreuse et plus explicite quant à l'efficacité des antibiotiques mais difficile à réaliser. Cette difficulté a souvent été la cause de contaminations et de résultats incohérents, ce qui nécessitait la reprise des tests. De plus la lecture des CMI n'a pas été facile.

IV-2-SENSIBILITE DES SOUCHES DE *S. pneumoniae*

IV-2-1 *Sensibilité aux β -lactamines*

Les bêta-lactamines testés sur les souches isolées de Dakar ont été actifs sur plus de 66% des souches. La pénicilline G et l'oxacilline ont été les moins actives avec respectivement des taux d'inhibition de 67 et 68%. Une résistance notable variant de 25 à 33% s'est montrée chez les cephalosporines de 3^{ème} génération (la cefpodoxime et la céfixime)et l'oxacilline. Concernant la pénicilline G, 31,7% des souches ont été de sensibilité intermédiaire.

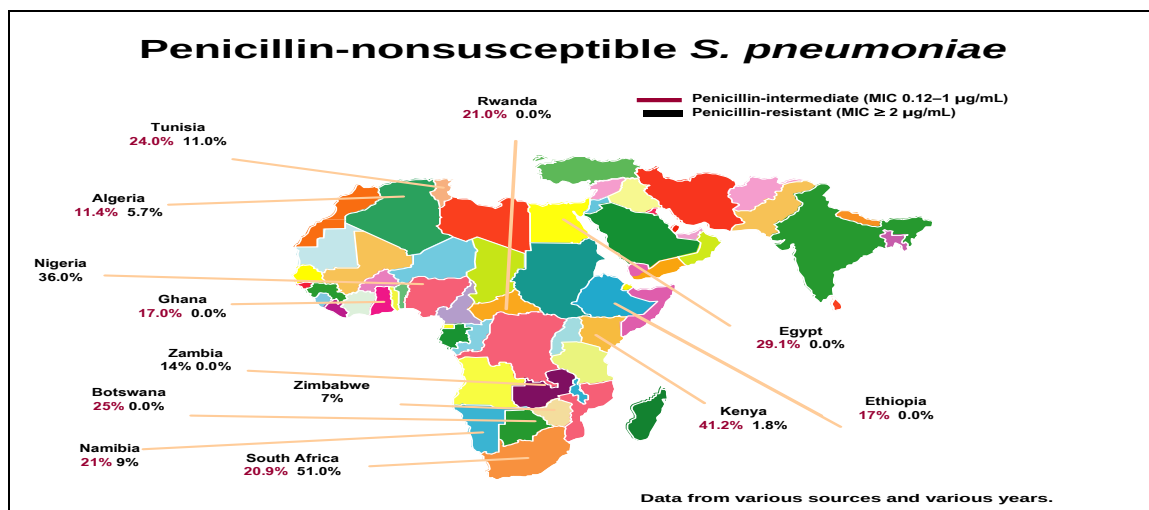
Dans le cas des souches originaires de Casablanca, les bêta-lactamines ont montré une activité plus importante. En effet plus de 75% des souches testées ont été sensibles.

La sensibilité de *S.pneumoniae* à la Penicilline G a enregistré le taux de 68,3% à Dakar. Ce taux a nettement diminué par rapport aux années précédentes selon les travaux réalisés à Dakar. En effet en 1998 la sensibilité a enregistré un taux de 100%, en 2003 le taux a baissé à 91%, en 2004 le taux était de 94% et en 2006 il a baissé à 80% [50,71,111,106].

Par contre la sensibilité des souches de Casablanca de *S. pneumoniae* à la pénicilline G a enregistré un taux de 80,1%. Ce taux bien qu'il est supérieur à celui trouvé à Dakar, il a connu lui aussi une baisse relativement aux taux enregistrés les années précédentes à Casablanca. En effet ce taux était de 99.5% entre 1994-1997, puis il a baissé à 96.6% entre 1998-2001 pour atteindre le taux 91.7% entre 2002-2005 [37].

Ceci confirme une fois de plus l'existence de souches de *Streptococcus pneumoniae* à sensibilité diminuée à la pénicilline à Dakar mais également à Casablanca.

La figure ci-dessous qui est la synthèse de plusieurs sources bibliographiques de part le monde montre la large diffusion des souches résistantes aux Bétalactamines avec des taux très variables entre pays et entre régions.



En Afrique, particulièrement à Abidjan le taux de résistance de *S. pneumoniae* à la pénicilline G a évolué de 8,5 % en 1997 à des valeurs respectives de 20,7 % en 1998, de 16 % en 1999 et de 23,5 % en 2001 [57].

En France, la fréquence des pneumocoques de sensibilité diminuée aux Bêta-lactamines est passée de 7% à 42% entre 1989 et 1999 [100].

La comparaison de la variation de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* vis-à-vis des Bêta-lactamines, entre les villes de Dakar et de Casablanca, montre une nette diminution de la sensibilité de 5 à 13% à Dakar par rapport à Casablanca.

Les variations considérables des modèles de la résistance aux antibiotiques ont été observées dans des pays de la même région [7, 90,96], entre régions du même pays [34, 28], ou même entre hôpitaux dans une région [28] .

L'Amox/ac.clav et la céphalosporine de 3^{ème} génération : ceftriaxone et la cefepime , ont été très efficaces sur la totalité des souches testées à Dakar comme à Casablanca.

La sensibilité aux Céphalosporines de 3^{ème} génération a varié entre 75 et 100% à Dakar comme à Casablanca, résultat semblable à ceux obtenus en Allemagne et en Suisse en ce qui concerne la Ceftriaxone [13]. Ceci confirme la recommandation de la Ceftriaxone dans le traitement d'une OMA purulente en cas d'échec avec la Pénicilline G [89].

Toutefois , la diffusion des pneumocoques à bas ou à haut niveau de résistance , crée une situation préoccupante dans le monde . L'augmentation des taux de résistance est le plus souvent engendré par l'utilisation irrationnelle des différents antibiotiques par les populations.

IV-2-2- Sensibilité aux Macrolides

Les macrolides ont montré une efficacité plus élevée que les beta-lactamines à la fois sur les souches de Dakar que sur les souches de Casablanca. Plus de 80% des souches ont été sensibles à ces antibiotiques.

Les souches de *S.pneumoniae* isolées à Dakar se sont montrées sensibles vis-à-vis des Macrolides notamment l’Azithromycine et la clindamycine. Alors qu’à Casablanca la sensibilité est plus faible qu’à Dakar. En effet la sensibilité du *Streptococcus pneumoniae* aux Macrolides a enregistré une diminution de l’ordre de 3 à 10% à Casablanca par rapport à Dakar.

Toutefois les résultats trouvés à Dakar il y a 7ans [29] montrent que la résistance aux macrolides évolue dans le sens de l’augmentation. Cette augmentation de la résistance est liée probablement à la présence d’une souche développant une résistance croisée aux M.L.SB qui s’est révélée cette année comme il a été rapporté l’année dernière(73). Dans d’autres pays la résistance est restée à un bas niveau comme le cas de Kenya(Nairobi) (53) et de la Suisse [53, 53] où cet antibiotique a été rarement utilisé. En revanche la Belgique qui utilise fréquemment cet antibiotique a vu sa résistance augmenter (109).

La résistance a été due à l’expression du phénotype MLS_B inducible codé par le gène *erm* (B) signalée par d’autres auteurs avec une fréquence de 89,9% du phénotype MLS_B contre 9,7% du phénotype M [109]. Le phénotype M codé par le gène *mef* (A) s’est manifesté à Dakar en 2004 par une seule souche résistante à l’Erythromycine [71].

Les différences de comportement de *Streptococcus pneumoniae* vis-à-vis des Bétalactamines et des Macrolides enregistrées à Dakar et à Casablanca ne peuvent être expliquées que par les différences de comportement des différents acteurs de la stratégie sanitaire appliquée dans chaque pays pour combattre les maladies provoquées par cet agent bactérien. En effet une thérapie raisonnée

peut réduire considérablement ou éradiquer les bactéries[32].Le traitement inapproprié entraîne la sélection de bactéries résistantes, leurs dissémination et par conséquent l'augmentation de la résistance et des infections[32].D'autre part le coût d'une thérapie inappropriée est deux fois plus cher que celui d'une thérapie appropriée [2].

Le danger de la résistance plane sur nos pays , et bientôt , à défaut de prendre les mesures adéquates , nous allons nous retrouver incapables de faire face à des infections bactériennes qui étaient au par avant contrôlables.

Donc , la compréhension de l'impact du développement de la résistance aux antibiotiques par les populations devient une nécessité . Ceci impose l'éducation non seulement des différentes populations, mais aussi de tout le corps de la santé .

IV-3- Multirésistance

Cinq souches de *S. pneumoniae* se sont montrées multirésistantes à tous les antibiotiques à l'exception de la Céfépime et l'association Amoxicilline/Acide clavulanique. Elle a concerné la Pénicilline, les Céphalosporines,et les MLS_B. Ce phénomène de multirésistance s'est manifesté avec un taux de 12,5% à Dakar cette année comme il a été rapporté avec un taux de 10% en 2004[32] et en 2006[106]. Le même résultat a été signalé en Croatie avec un taux de 10%, en Suède et en Hollande mais avec un taux plus faible de 1% [13].

A Casablanca le taux de multirésistance a été de 11,42%, taux qui est très proche de celui retrouvé à Dakar.

V- CONCLUSION

Les infections respiratoires aiguës (rhinopharyngites, sinusites, otites, angines, bronchites, pneumopathies) restent à l'heure actuelle les affections les plus fréquentes chez l'enfant de moins de 2 ans et les personnes âgées de plus de 60ans.

Le pneumocoque constitue l'origine bactérienne majeure responsable de ces infections respiratoires aiguës. Il représente la première cause de mortalité d'origine infectieuse dans les pays industrialisés. En dépit d'une antibiothérapie adaptée la gravité de ces infections reste des plus graves .En effet les prescriptions médicales excessives d'antibiotiques sans une identification formelle de l'agent bactérien responsable sont souvent injustifiées lorsque on connaît que 70% des cas traités ont une origine virale. Les bactéries vu leur multiplication rapide et exponentielle développent des mécanismes de résistance très diversifiés allant jusqu'à la modification de leur patrimoine génétique ou la mutation. L'évolution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux Bêtalactamines et aux Macrolides a atteint dans certains pays des fréquences élevées qui nécessite une surveillance continue que ce soit dans les pays développés que dans les pays en voie de développement. Donc face à ces difficultés, plusieurs études ont été menées ces dernières années afin de pouvoir surveiller l'évolution de la résistance de *S.pneumoniae* aux antibiotiques.

Notre étude s'inscrit dans ce cadre et avait pour objectifs spécifiques d'identifier de façon formelle le *Streptococcus pneumoniae*, d'étudier son profil de sensibilité aux betalactamines et aux macrolides, et de faire une étude comparative entre l'évolution de la sensibilité des souches isolées à Dakar et celles isolées au Maroc.

Cette étude est réalisée entre Janvier 2007 et Juin 2007 à l'Unité de Bactériologie- Virologie du CHU Le Dantec .

Le travail a été réalisé sur un collectif de 75 souches de *S.pneumoniae* dont 40 souches originaires de Dakar et 35 souches de Casablanca .

Les prélèvements des souches de Dakar ont été réalisés dans quatre structures différentes dont le service d'ORL de l'HALD, le service de Pédiatrie de l'HALD, le service de Pneumo-phtisiologie CHU FANN et un cabinet privé d'ORL. Les souches de Casablanca ont été prélevées dans les services hospitaliers du CHU –Hôpital Ibn Rochd : ORL ,Pneumologie. Pédiatrie .

Le choix des antibiotiques a porté sur deux familles : les β -lactamines et les Macrolides qui sont les plus utilisés au Maroc et au Sénégal.

Ces derniers ont été testés par deux techniques de détermination de la sensibilité à savoir l'antibiogramme standard et la détermination de la CMI.

Les résultats de notre travail ont confirmé encore une fois la diminution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques des deux grandes familles betalactamines et Macrolides. Bien que les résultats des tests ont montré une différence relative entre l'état de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux beta-lactamines et aux Macrolides entre les deux villes africaines (Dakar et Casablanca) ; on peut considérer que le risque de résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques plane sur les pays du nord et de l'Ouest d'Afrique.

L'étude comparative de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* aux Betalactamines a montré que la sensibilité a diminué de 5 à 13% à Dakar par rapport à Casablanca.En effet la sensibilité a atteint des niveaux plus bas respectivement 66 et 75% alors qu'elle était de 100% il y a une dizaine d'années. Cependant la résistance aux Macrolides a diminuée à Casablanca de 3

à 10% par rapport à Dakar. Cette différence peut être expliquée par la différence des stratégies thérapeutiques adoptées au niveau de chaque pays.

Certains antibiotiques appartenant aux beta-lactamines (la ceftriaxone et l'association Amoxicilline/Acide clavulanique) et aux Macrolides (Azithromycine et la Clindamycine) se montrent encore assez virulents et efficaces. Toutefois ce ne serait pas pour longtemps car l'apparition de souches multi résistantes peut rendre la situation plus inquiétante. Les infections dues au *Streptococcus pneumoniae* peuvent être mortelles chez les petits enfants et les personnes âgées si leurs prise en charge est défectueuse. Une thérapie raisonnée peut réduire considérablement ou réduire la prolifération des bactéries. Le traitement inapproprié entraîne la sélection de bactéries résistantes, leur prolifération, l'augmentation de la résistance et par conséquent le nombre d'infections. Les efforts devraient se concentrer aussi sur le sérotypage des souches de bactéries isolées au niveau d'une région ou du pays. Ce ci permettra de sélectionner le traitement adéquat en temps opportun. L 'emplois des méthodes de caractérisation des souches résistantes par les techniques de biologie moléculaires peuvent être de grande utilité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Actualités bactériologiques et épidémiologiques du pneumocoque. Le Pharm. Biol. 1988;64:63-70.
2. Adrian Brink .Current resistance prevalence in respiratory tract pathogens in the African region. Inspiration, Consensus Forum.1-3 February 2006-Cairo-Egypt.
3. Albert B, William JH, Kenneth LH, Henry DI, Shadomy HJ.Manual of clinical microbiology.5th edition, ASM 1991:243-244.
4. Alouf JE. Streptococcal toxins (streptolysin O, streptolysin S, erythrogenic toxin). Pharmacol. Therap. 1980;11:661-717.
5. Anane T., Baough L., Bencharif N., Berkani A. Guide des infections respiratoires aiguës .Directives techniques, Alger, Algérie, 2002.
6. Antibiothérapie par voie générale en pratique courante
Otitite moyenne aiguë Méd. Mal. Infect., 2001, 31, Suppl. Novembre.
7. Appelbaum, P. C. 1996. Epidemiology and in vitro susceptibility of drugresistant Streptococcus pneumoniae. Pediatr. Infect. Dis. J. 15:932–939.
8. Appelbaum P.C., Antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae: an overview. Clin. Infect. Dis. 15 (1992), pp. 77–83. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus. Consulté le 24/04/07.

9. Ball P. and al. Antibiotic therapy of community respiratory tract infections. Strategic for optimal outcomes and minimized resistance emergence
Journal of antimicrobial therapy 2002 ; 49 : 31-40/.
10. Bambeke F.V, Verhagen J., Tyteca D., Auckenthaler R.,
Tulkens P.M. Erythromycine et néomacrolides actuels, usages cliniques et perspectives. Louvain Med 2000 ; 119 : 259- 286./109
11. Baquero F. Pneumococcal resistance to beta-lactam antibiotics: a global geographic overview. Microb. Drug Resist. 1 (1995), pp. 115–120. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus). Consulté le 24/04/07.
12. Be´dos, J. P., S. Chevret, C. Chastang, P. Geslin, B. Re´gnier, and the French Cooperative Pneumococcus Study Group. 1996. Epidemiological features of and risk factors for infection by Streptococcus pneumoniae isolates with diminished susceptibility to penicillin: findings of a French survey. Clin. Infect. Dis. 22:63–72.
13. Beekmann S. E., Heilmann K. P., Richter S. S., Garcia-de-Lomas J., Doern G. V. and the GRASP study group Antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis and group A β -haemolytic streptococci in 2002-2003. Results of the multinational GRASP Surveillance program. Int. J. Antimicrob. Agents, 2005, 25: 148-156.
14. Benbachir M., Benredjed S., Boye C. S., Dosso M., Belabres H., Kamoun A. and al. Two-Year Surveillance of Antibiotic Resistance in Streptococcus pneumoniae in four African Cities. Antimicrob. Agents Chemother., 2001, 45 (2) : 627-629.
15. Berry AM, Yother J, Briles DE et al. Reduced virulence of a defined pneumolysin. Negative mutant of Streptococcus pneumoniae. Infect. Immun. 1989;57:2037-42.
16. Bingen E. Classification structurale des bêta-lactamines et relation structure activité. In " Mécanismes d'action des bêta-lactamines : de la structure bactérienne à la structure de la molécule " Roussel, Nice, 1986 : 47 - 62.

17. Bingen E. Mécanismes d'action des bêta-lactamines. In " Mécanismes d'action des bêta-lactamines : de la structure bactérienne à la structure de la molécule " Roussel, Nice, 1986 : 7-30.
18. Birgert T, Lard B, Eva D, Julian L, Ragnar N. Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* strains by coagglutination and counter immunoelectrophoresis. J. Clin. Microbiol. 1983;978-980.
19. Bonfils P. Pathologie ORL et cervico-faciale. Comprendre Agir Traiter Ellipses/Édition Marketing, Paris, 1996 : 384 p.
20. Boulivois GJ. Pneumococcal proteins and the pathogenesis of disease caused by *Streptococcus pneumoniae*. J. Gen. Microbiol. 1992;138:249-59.
21. Burnichon N., Texier A. L'antibiogramme : La détermination des sensibilités aux antibiotiques . DES Bactériologie, semestre été 2003, exposé du 20/06/2003.
22. Bussard A. Description d'une technique combinant simultanément l'électrophorèse et la précipitation immunologique dans un gel : l'électrosynérèse. Biochem. Biophys. Actual. 1959;34:258-263.
23. Bradley JS, Connor JD. Ceftriaxone failure in meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* with reduced susceptibility to beta-lactam antibiotic. Pediatr. Infect. Dis. 1991;10:871-3.
24. Brueggemann A.B., Doern G.V., Huynh H.K., Wingert EM, Rhomberg P.R. In vitro activity of ABT-773, a new ketolide, against recent clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*. Antimicrob. Agents. Chemother. 2000;44(2):447-449./65
25. Cavallo J-D., Fabre F., Jehl C., Rapp E., Garrbé EMC-Maladies Infectueuses 1(2004) 129-202 www.elsevier.com/locate/emcmi. Consulté le 24/04/07.
26. Center of Disease Control. Follow-up on multiple antibiotic-resistant pneumococci, South Africa. Morbid. Mortal. Week Rep. 1978;27:1-2.

27. Chambers HF. Penicillin-binding protein-mediated resistance in pneumococci and staphylococci. *J Infect Dis* 1999; 179(suppl2):S353–S359.
28. Centers for Disease Control and Prevention. 1999. Geographic variation in penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae*—selected sites, United States, 1997. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 48:656–661.
29. Clegbaza F. *S. Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae et Moraxella catarrhalis dans les infections respiratoires basses communautaires à Dakar. Isolement bactérien et sensibilité aux antibiotiques.* Thèse Pharm., Dakar 2000, n°81.
30. Cohen R. Otite de l'enfant : quelle antibiothérapie ?
La revue du praticien, médecine générale, 1999, 13, 476 : 1737-1740.
31. Conseil Supérieur d'hygiène publique de France. Calendrier vaccinal 2006. *BEH* 2006;29–30:211–7.
32. Dagan et al. *Pediatr.infect.Dis.J* 1998. 17:776-782.
33. Davies T.A., Dewasse B.E., Jacobs M.R., Appelbaum P.C. In vitro development of resistance to Telithromycin (HMR 3647), four macrolides, clindamycin and pristinamycin in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2000;44(2):414-417.
34. Doern G.V., A. Brueggemann, H.P. Holley, Jr and A.M. Rauch, Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* recovered from outpatients in the United States during the winter months of 1994 to 1995: results of a 30-center national surveillance study. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40 (1996), pp. 1208–1213. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus. Consulté le 24/04/07
35. Douthwaite S., Champey W.S. Structures of ketolides and macrolides determine their mode of interaction with the ribosomal target site. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2001; 48 Suppl T1: 1-8.
36. Duval J. Classification et mécanisme d'action des agents antibactériens.

In : Le Minor L, Veron M, eds. Bactériologie Médicale, Flammarion, Paris, 1989 ; 2ème édit. : 273-96.

- 37.Elmdaghri N. Laboratoire de Microbiologie – CHU -IbnRochd – Casablanca ALMI – 21 avril 2007.
- 38.Feldman C, Munro NC, Jeffrey RK et al. Pneumolysin induces the salient histological features of pneumococcal infection in the rat lung in vivo. Am. J. Resp.Cell. Molecul. Biol. 1991;5:416-423.
- 39.Felmingham D, Reinert RR, Hirakata Y, Rodloff A. Increasing prevalence of antimicrobial résistance among isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT surveillance study, and comparative in vitro activity of the ketolide, telithromycin. J Antimicrob Chemother 2002; 50(Suppl S1):25–37.
- 40.Fitoussi F, Doit C, Geslin P, Brahimi N, Bingen E. Mechanisms of macrolide resistance in clinical pneumococcal isolates in France. Antimicrob. Agents. Chemother. 2001;45(2):636-638.
- 41.Gaillat J. Épidémiologie des infections systémiques à *Streptococcus pneumoniae*. Presse Med 1998;27(Suppl 1):9–16).
- 42.Gamboa L, Camou T, Hortal M, Castaneda E, Sireva-Virgia working group. Dissemination of *Streptococcus pneumoniae* clone Colombia (5)-19 in Latin America. J. Clin. Microbiol. 2002;40(11):3942-50.
- 43.Gehanno P. Sinusites aiguës de l'adulte. Diagnostic - Prise en charge. La lettre de l'infectiologue, 2003, 18, 1 : 11-16.
- 44.Gunnison JB, Fraber MA, Pelcher EA et al. Penicillin-resistant variants of pneumococci. Appl. Microbiol. 1968;16:311-314.
- 45.Gwaltney GS, Sande MA, Austrian R. Spread of *Streptococcus pneumoniae* in families. II- relation of transfer of *Streptococcus pneumoniae* to incidence of colds and serum antibody. J. Infect. Dis. 1975;132:62.

46. Ho P.L., W.S. Tse, K.W.T. Tsang . Risk factors for acquisition of levofloxacin-resistant *Streptococcus pneumoniae*: a case-control study. Clin Infect Dis 32 (2001), pp. 701–707. Full Text via CrossRef | Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus). Consulté le 24/04/07.
47. Hoban D.J, Wierzbowski A.K., Nichol K., Zhanel G.G. Macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Canada during 1998-1999: Prevalence of *mef*(A) and *erm*(B) and susceptibilities to ketolides. Antimicrob Agents Chemother., 2001; 45 : 2147-2150.
48. Hoban DJ. Prevalence and characterization of macrolide resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* from North America. J. Chemother. 2002;14 suppl 3:25-30.
49. Hofmann J. , M.S. Cetron, M.M. Farley, W.S. Baughman, R.R. Facklam, J.A. Elliott, K.A. Deaver and R.F. Breiman. The prevalence of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Atlanta. N. Engl. J. M 333 (1995), pp. 481–486. Full Text via CrossRef | Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus. Consulté le 20/03/07.
50. Houpkounou E. Etude comparée de l'identification et de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes* isolées d'infections humaines. (Données prospectives à Dakar) Thèse Pharm., Dakar, 2003, n° 43.
51. Horaud T, Le Bouguénec C. Streptococcaceae. In : Le Minor L, Veron M, eds. Bactériologie médicale 2ème ed. Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 1990:795-834.
52. Ip M., Lyon D.J, Yung R.W.H., Chan C., Cheng AFB. Macrolide resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Hong-Kong. Antimicrob. Agents. Chemother. 2001;45(5):1578-1580.
53. Jaecklin T., Robner P., Jacomo V., Schmidheiny K., Gervais A.

Trends in antibiotic resistance of respiratory tract pathogens in children in Geneva, Switzerland. *Eur. J. Pediatr.*, 2006, 165: 3-8.

54. Jarlier V. Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines. Description et fréquence, place d'E. cloacae. *Med. Mal. Infect* ; 1988, hors serie : 30-40.
55. Jones ME, Blosser RS, Karlowsky JA, Critchley IA, Thornsberry C, Sahm DF. The activity of levofloxacin against 1999-2000 isolates of *Streptococcus pneumoniae* isolated from patients in 12 countries distributed across 5 continents. seventh International symposium on new quinolones, Edinburgh, UK. 2001 [Abstract P12]).
56. Jorgensen J.H., G.V. Doern, L.A. Maher, A.W. Howell and J.S. Redding, Antimicrobial resistance among respiratory isolates of *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, and *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34 (1990), pp. 2075–2080. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus. Consulté le 24/04/07.
57. Kacou-N'douba A., N. Guessennd-Kouadio, A. Kouassi-M'bengue, M. Dosso ,2003). Évolution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques à Abidjan : enquêtes de portage nasopharyngé de 1997 à 2001. *Médecine et maladies infectieuses* 34 (2004) 83–85.
58. Karlowsky JA, Thornsberry C, Jones ME, Evangelista AT, Critchley IA, Sahm DF. Factors associated with relative rates of antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* in the United States: results from the TRUST Surveillance Program (1998–2002). *Clin. Infect. Dis.* 2003;36:963–70.
59. Kielbauch J. A., Hannett G. E., Salfinger M., Archival W., Monserrat C., CarlynC. Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards Guidelines dor Disk Diffusion Susceptibility Testing in New York State Laboratories. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, 38 (9): 3341-3348.
60. Kitzis MD, Varon E, Gutmann L, Goldstein FW. Comparative in vitro Activity of Gemifloxacin against Multiple Resistant Strains of *Streptococcus pneumoniae* 39th ICAAC, 1999 Sept. 26-29, San Francisco, États-Unis [Abstract 2301].

- 61.Kristinsson K.G., M.A. Hjalmarsson and O. Steingrimsdottir, Increasing penicillin resistance in pneumococci in Iceland. *Lancet* 339 (1992), pp. 1606–1607. Abstract | Full Text + Links | PDF (352 K) | Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus) . Consulté le 24/04/07.
- 62.Lemonier M. Notes de pharmacologie: Antibiotiques et Antibiorésistance *Pharmacology* 1999 ; 5 : 225-233 .
- 63.Lesourd B. Les vaccinations en pédiatrie. *Rev Med Intern* 2004;25 (Suppl 4):S342–4.
- 64.Leclerc R. and Courvalin P. Resistance to macrolides and related antibiotics in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Sept 2002; 46 : 2727-2734.
- 65.Legent F., Fleury P., Narcy., Beauvillain C. *Pathologie cervico-faciale. Abrégé d'oto-rhino-laryngologie* Masson, Paris, 1999, 5e édition : 386 p /28
- 66.Legent F.; Fleury P. ; Narcy P. ; Beauvillon C. *Manuel pratique d'O. R. L*
Masson 3ème édition, Paris, 1990.
- 67.Lemozy J. ; Suc C. *Actualité sur les streptocoques et entérocoques (Données taxonomiques et identification)* Feuille de biologie, 1997, 37 (215) : 15-22.
- 68.Liu M, Douthwaite S. Activity of the ketolide telithromycin is refractory to Erm monomethylation of bacterial rRNA. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2002;46(6):1629-33.
- 69.Livermore D, Williams JD. b-lactams: Mode of action and mechanisms of bacterial resistance. In: Lorian V, editor. *Antibiotics in laboratory medicine*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1996. p. 502–578.

70. Mainardi J.L. ; Goldstein F.W. ; Cutmann L. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses, 8-006 N-10,996 : 8p.
71. Mangane M. Sensibilité aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* isolées d'infections respiratoires aiguës. Thèse Pharm., 2004, n°74.
72. Marton A., Pneumococcal antimicrobial resistance: the problem in Hungary. Clin. Infect. Dis. 15 (1992), pp. 106–111. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus). Consulté le 24/04/07.
73. Mason E.O. , Jr, S.L. Kaplan, L.B. Lamberth and J. Tillman, Increased rate of isolation of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a children's hospital and in vitro susceptibilities to antibiotics of potential therapeutic use. Antimicrob. Agents Chemother. 36 (1992), pp. 1703–1707.
74. Mandell L.A., Community-acquired pneumonia: etiology, epidemiology, and treatment. Chest 108 suppl 2 (1995), pp. 35S–42S. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus ; 56. D.R. Park, V.L. Consulté le 24/04/07.
75. McGee L, McDougal L, Zhou J et al. Nomenclature of major antimicrobial-resistant clones of *Streptococcus pneumoniae* defined by the Pneumococcal Molecular Epidemiology Network. J. Clin. Microbiol. 2001;39(7):2565-2571.
76. McLinn S. and D. Williams, Incidence of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* and beta-lactamase-positive *Haemophilus influenzae* in clinical isolates from patients with otitis media. Pediatr. Infect. Dis. J. 15 (1996), pp. S3–S9. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus. Consulté le 24/04/07.

77. Mieczkowski T.A, Wilson S.A. Adult pneumococcal vaccination: a review of physician and patient barriers. *Vaccine* 2002;20:1383–92.
78. Moittie D. Les phénotypes de résistance des bactéries aux antibiotiques.
Option Biologie.
79. Montanari MP., Mingoia M., Giovanetti E., Varaldo PE. Differentiation of resistance phenotypes among Erythromycin-resistant *Pneumococci*. *J. Clin. Microbiol.* 2001;39(4):1311-1315.
80. Morosini M, Canton R, Loza E et al. In vitro activity of Telithromycin against Spanish *Streptococcus pneumoniae* isolates with characterized macrolide resistance mechanisms. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2001;45(9):2427-2431.
81. Munoz R, Dowson CG, Daniels M et al. Genetics of resistance to third generation cephalosporins in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol. Microbiol.* 1992;6:2461-2465.
82. Nagai K., Davies T.A., Ednie L.M. Activities of a new fluoroketolide, HMR-3787, and its (des)-fluor derivative RU-64399 compared to those of telithromycin, erythromycin A, azithromycin, clarithromycin and clindamycin against macrolide-susceptible or macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2001;45(11):3242-3245.
83. National Committee for Clinical Laboratory Standards Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Informational Supplement-ISBN 1-56238-516-X. NCCLS M100-S14: Fourteenth Edition, 2004/74.
84. National Committee for Clinical Laboratory Standards Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standards-ISBN 1-56238-485-6. NCCLS M2-A8: Eighth Edition, 2003.

85. Paton JC. Pathogenesis of pneumococcal disease. *Curr. Op. Infect. Dis.* 1993;6:363-8.
86. Paul, J., J. P. Bates, J. Kimari, and C. Gilks. 1996. Serotypes and antibiotic susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* in Nairobi, Kenya. *J. Infect.* 32:139–142.
87. Pechere J.C. Les spécificités de l'action antibactérienne des 7-méthoxy imino céphalosporines zwitterioniques (céphalosporines de 4^{ème} génération). *Path. biol.*, 1996 ; 2 : 99-105.
88. Perilla M. J., Ajello G., Bopp C., Elliott J., Faeklam R., Knapp J. S. and al. Manual for Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in the Developing World. WHO/CDS/CSR/RMD/2003.6.
89. Perronne C. et le Groupe AFSSAPS. Antibiothérapie par voie générale en pratique courante dans les infections respiratoires hautes et basses. Actualisation des recommandations de l'AFSSAPS 2005.
90. Pradier, C., B. Dunais, H. Carsenty-Etesse, and P. Dellamonica. 1997. Pneumococcal resistance patterns in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 16:644–647.
91. Reichmann P, König A, Linares J, Alcaide F, Tenover F, McDougal L, . A global gene pool for high-level cephalosporin resistance in commensal *Streptococcus* species and *Streptococcus pneumoniae*. *J. Infect. Dis.* 1997;176: 1001–1012./63
92. Robinson KA, Bauchant W, Rothrock G, Barrett NL, Pass M, Lexau C, et al. Epidemiology of invasive *Streptococcus pneumoniae* infections in the United States, 1995–1998: Opportunities for prevention in the conjugate vaccine era. *JAMA* 2001;285:1729–35.
93. Sagna I. Macrolides et apparentés : étude prospective sur la sensibilité des bactéries Gram positif. Thèse Pharm., Dakar, 2004.

- 94.Sakhalkar V.S., S.A. Sarnaik, B.I. Asmar, R. Conner-Warren, W. Shurney and N.M. Abdel-Haq, Prevalence of penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* in nasopharyngeal cultures from patients with sickle cell disease. *South Med J* 94 (2001), pp. 401–404.
- 95.Schutze G.E. ; E.O. Mason, Jr, W.J. Barson et al., Invasive pneumococcal infections in children with asplenia. *Pediatr Infect Dis J* 21 (2002), pp. 278–282. Full Text via CrossRef | Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus .Consulté le 24/3/07.
- 96.Schmitz, F. J., J. Verhoef, A. C. Fluit, and the SENTRY Participating Group.1999. Comparative activity of 27 antimicrobial compounds against 698 *Streptococcus pneumoniae* isolates originating from 20 European university hospitals.*Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8:450–453.
- 97.Sherbin, M.S. Goodman et al.the Harborview CAP Study Group, The etiology of community-acquired pneumonia at an urban public hospital: influence of human immunodeficiency virus infection and initial severity of illness. *J Infect Dis* 184 (2001), pp. 268–277. Full Text via CrossRef | Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus). Consulté le 24/3/07.
- 98.Shortridge V.D., G.V. Doern, A.B. Brueggemann, J.M. Beyer and R.K. Flamm, Prevalence of macrolide resistance mechanisms in *Streptococcus pneumoniae* isolates from a multicenter antibiotic resistance surveillance study conducted in the United States in 1994–1995. *Clin. Infect. Dis.* 29 (1999), pp. 1186–1188. Full Text via CrossRef | Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus . Consulté le 24/3/07.
- 99.Song J.H, Yang J.W., Peck K.R., Kim S., Lee N.Y., Jacobs M.R, Appelbaum P.C. and PAI C.H. Spread of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in south Korea .*Clin. Infect. Dis.*, 1997 ; 25 : 747-748.

100. Soussy CJ. Antibiotiques, généralités. In: Freney J, Renaud F, Hansen W, Boillet C, editors. Précis de bactériologie clinique. Paris: ESKA- Alexandre Lacassagne; 2000. p. 557–569.

101. Spika J.S., R.R. Facklam, B.D. Plikaytis and M.J. Oxtoby, Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1979–1987 The Pneumococcal Surveillance Working Group. J. Infect. Dis. 163 (1991), pp. 1273–1278. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus). Consulté le 24/3/07.

102. Stark J. M. Lung infections in children Current Opin. Pediatr., 1993, 5 : 273 – 80.

103. Tait-Kamradt A., J. Clancy, M. Cronan, F. Dib-Hajj, L. Wondrack, W. Yuan and J. Sutcliffe. *mefE* is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 41 (1997), pp. 2251–2255. Abstract + References in Scopus | Cited By in Scopus . Consulté le 24/3/07.

104. Thabaut A., Meyran M. Nouvelles bêta-lactamines : Essai de classification, relation structure - activité. Tempo. Méd., 1981, 78 :9 -53.

105. Tran B.A. ; Huy P. Universités francophones ORL Ellipses AUPELF-UREF, Paris, 1996 : 510 p.

106. Vanessa. Etude de l' évaluation de la résistance aux antibiotiques de *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes*. Thèse Pharm., Dakar ; 2006.

107. Varon E, Gutmann L. Bases moléculaires de la résistance du pneumocoque aux bêta-lactamines. Méd. Mal. Infect. 1994;24 spécial:922-6.

108. Verhey T. J. M.; Kaptein A. A.; Mulder J. D. Acute bronchitis : aetiology, symptoms and treatment . Fam. Pract., 1989, 6: 66 – 69.

109. Verhagen, J., Y. Glupzinski, L. Verbist, M. Blogie, N. Verbiest, J. Vandeven, and E. Yourassowsky. 1995. Capsular types and antibiotic susceptibility of pneumococci isolated from patients in Belgium with serious infections, 1980–1993. *Clin. Infect. Dis.* 20:1339–1345.
110. Vilhelmsson SE, Tomasz A, Kristinsson KG. Molecular evolution in a multidrug-resistant lineage of *Streptococcus pneumoniae* : emergence of strains belonging to the serotype 6B Icelandic clone that lost antibiotic resistance traits. *J. Clin. Microbiol.* 2000;38(4):1375-1381.
111. Zaoui N. Étude comparée de la sensibilité des souches d'*Haemophilus influenzae* et *Streptococcus pneumoniae* isolées au Maroc et au Sénégal. Thèse Pharm., Dakar 1998, n°55.
112. Zhanel G.G., Walters M., Noreddin A . The ketolides : a critical review. *Drugs* 2002; 62(12):1771-1804.

