

DONNEES SUR LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE STREPTOCOQUES DEFICIENTS ISOLEES D'INFECTIONS RESPIRATOIRES, OSTEO-ARTICULAIRES ET CARDIOVASCULAIRES

THESE Présentée et soutenue publiquement pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE (DIPLOME D'ETAT) par

DIOP Fatou

Sous la direction de Cheikh Saad Bouh BOYE, Professeur

le 29 juillet 2002

N°67

Devant le jury composé de : Président : Doudou BA, Professeur Membres : Cheikh Saad Bouh BOYE, Professeur Alioune DIEYE, Professeur Mamadou BADIANE, Maître de Conférences Agrégé

Table des matières

..	1
REMERCIEMENTS .	3
INTRODUCTION .	5
PREMIERE PARTIE. GENERALITES . .	7
I- RAPPELS SUR LES STREPTOCOQUES DEFICIENTS .	7
I-1- HISTORIQUE .	7
I-2- TAXONOMIE ET HABITAT . .	8
I-3- CARACTERES MORPHOLOGIQUES .	9
I-4- CARACTERES CULTURAUX . .	9
I-5- CARACTERES BIOCHIMIQUES .	9
I-6- PRODUITS EXTRACELLULAIRES .	10
I-7- POUVOIR PATHOGENE .	11
I-8- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE .	11
II- RESISTANCE ET SENSIBILITE DES STREPTOCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES .	12
II-1- NOTION DE RESISTANCE .	12
II-2- NOTION DE SENSIBILITE . .	14
III- TRAITEMENT .	14
III-1- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES .	14
III-2- RECOMMANDATIONS POUR LE TRAITEMENT DES ENDOCARDITES A STREPTOCOQUES NON GROUPABLES (4, 49) .	15
DEUXIEME PARTIE. TRAVAIL PERSONNEL .	17
I- MATERIEL . .	17
I-1- SOUCHES BACTERIENNES .	17
I-2- PRELEVEMENTS . .	18
I-3- ISOLEMENT DES SOUCHES .	18
I-4- IDENTIFICATION .	19

I-5- ETUDE DE LA SENSIBILITE PAR E-TEST .	19
I-6- ANTIBIOGRAMME STANDARD . .	20
I-7- MATERIEL POUR LA CONSERVATION .	20
II- METHODES .	20
II-1- PREPARATION DES MILIEUX .	20
II-2- LES PRELEVEMENTS .	20
II-3- CONSERVATION . .	21
II-4- TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS .	21
II-5- EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE .	22
II-6- DETERMINATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES .	23
II-7- CONSERVATION DES SOUCHES BACTERIENNES . .	26
TROISIEME PARTIE. RESULTATS .	29
I- RESULTATS ET REPARTITION DES SOUCHES ISOLEES .	29
II- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES . .	30
II-1- SENSIBILITE DE <i>S. MITIS</i> AUX ANTIBIOTIQUES .	31
II-2- SENSIBILITE DE <i>S. CRISTA</i> AUX ANIBIOTIQUES .	32
II-3- SENSIBILITE DE <i>S. SANGUIS</i> AUX ANTIBIOTIQUES . .	33
II-4- SENSIBILITE DE <i>S. MILLERI</i> AUX ANTIBIOTIQUES . .	34
II-5- SENSIBILITE DE <i>S. MUTANS</i> AUX ANTIBIOTIQUES .	35
QUATRIEME PARTIE. DISCUSSION .	37
I- PRELEVEMENTS .	37
II-L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT . .	37
III-METHODES D'ISOLEMENT .	38
III-1- GSO ADDITIONNEE DE PYRIDOXAL . .	38
III-2- CLED . .	38
IV-METHODES D'IDENTIFICATION .	38
V-TESTS DE SENSIBILITE .	38
V-1- ANTIBIOGRAMME STANDARD .	39
V-2- E-TEST .	39

VI-SOUCHES IDENTIFIEES . .	39
VI-1- STREPTOCOCCUS MITIS. .	39
VI-2- STREPTOCOCCUS SANGUIS .	40
VI-3- STREPTOCOCCUS MILLERI .	40
VI-4- STREPTOCOCCUS CRISTA . .	40
VI-5- STREPTOCOCCUS MUTANS . .	40
VII-PROFILS DE SENSIBILITE DES SOUCHES . .	40
VII-1- PROFIL GENERAL DE SENSIBILITE DES STREPTOCOQUES DEFICIENTS .	41
VII-2-PROFIL DE SENSIBILITE DES ESPECES DE STREPTOCOQUES DEFICIENTS .	42
CONCLUSION .	45
BIBLIOGRAPHIE . .	47

DEDICACES

In memorium

Mes tantes fatou toure et anta diop

Mes grand-parents fatou b. ndiaye, cheikh diop, becaye cissokho, balla sarr et alassane coulivaly

Reposez en paix.

A mon père

En un jour pareil, aucun mot ne suffira pour te remercier de nous avoir inculqué la foi en DIEU, la conviction religieuse, la droiture, la dignité, l'honnêteté et la modestie.

Jamais tu n'as failli à ton devoir.

Ce travail est le vôtre car je n'ai pu le réaliser qu'en pensant à l'amour que tu nous portes.

Qu'Allah te protège et t'accorde santé et longue vie.

A ma mère

Je ne peux rester longtemps sans penser à toi, à ta bonté, ta générosité, ton sens de l'humour.

Ton unique souci a été notre réussite et notre bonheur.

Qu'Allah te protège, te donne une meilleure santé et une longue vie

A mes frères et sœurs CHEIKH, BECAYE, ANTA, fanta ET MARIE ZARKIS

Je suis consciente de votre soutien et vous souhaite la réussite dans toutes vos entreprises.

A mes grand-mères nana, alima et dieynaba toure

Merci pour vos prières.

Ce travail est le vôtre.

A mes oncles et tantes

Ma profonde reconnaissance

A mes cousins, cousines, neveux et nièces

Ce travail est le vôtre.

A Mes amis

Ambroise A. AHOUDI, Diégane A. FAYE, Idrissa DIALLO, Pape Cheikh A NDIAYE, Amadou Y. WONE, Djibril WADE, Ibrahima DIENG, Oumar Ngalla SY, Habib SY DIOP, Dr Bocar LY, Dr Bécaye FALL, Dr Abdou Salam DIALLO.

Vous m'avez prodigué conseils, soutien et réconfort.

Merci pour tout.

A mes amies

Dieynaba MACINA, Bineta SALL, Baty, Ndèye Anta GNINGUE, Dr Coumba DIOP, Amy THIAM, Mariama THIAM, Ndèye Khady NDIAYE, Ndèye Khady NIANG, Marème DIENE, Fatou FALL, Aminata DIOP, Ndèye Diouck DIAW, Dado, Mame Fama FAYE, Maguette

NDIAYE, Dr Ndèye NIANG.

Je ne saurai jamais oublier les moments passés avec chacun de vous.

A mes amis cothesards

Yénaba, El Hadj, Ndoye et Mariama.

A tous mes promotionnaires

A tous les membres de touba assistance medicale

Merci de m'avoir permis d'approcher de près les ndongos de Serigne Saliou MBACKE.

A tous les sokhnas du kourel de khabane

Vous êtes sur la bonne voie. Gardez le cap.

A tous les mourides du senegal.

A tous les mourides du monde entier.

REMERCIEMENTS

A tout le personnel du laboratoire de Bactériologie-virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec particulièrement Assane FAYE, Omar KAIRE, Omar SAGNA, Michel, Ndèye, Codou, Mme THIAM, Amy GUEYE Djiby, Badji, Coumba et Awa Cheikh.

A tout le personnel du Laboratoire National de Contrôle des Médicaments notamment Ndèye Fatou, Ndiaye, Mme Santos, Maty et Maguette.

A tout le personnel du laboratoire de bactériologie expérimentale de l'I. Pasteur

A tout le personnel de la pharmacie « DE LA PATRIE ».

A tout le personnel de la pharmacie « BASS AK BARA ».

A NOS

MAÎTRES

ET JUGES

A NOTRE MAÎTRE ET président de jury

MONSIEUR LE PROFESSEUR doudou ba

Vous nous avez fait un très grand honneur en acceptant spontanément la présidence de cette thèse.

Nous garderons toujours de vous l'image d'un maître disponible et rigoureux dont la pédagogie, l'intégrité et l'étendue du savoir ont valeur de symbole.

Nous avons suivi avec beaucoup d'intérêt et de profit votre enseignement clair et précis et nous souhaitons en bénéficier pendant longtemps encore.

Nous vous prions de trouver ici le témoignage de notre gratitude pour cet enseignement qui nous a été dispensé..

A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CHEIKH SAAD BOUH BOYE

Nous connaissons l'enseignant au cours concis et d'une grande clarté. La chance que vous nous avez donnée en nous confiant ce travail nous a permis de découvrir en vous un homme simple, gentil, passionné par sa discipline, rigoureux, exigeant toujours un travail de qualité.

Plus qu'un maître, vous êtes devenu un oncle, un ami pour nous.

Nous voudrions vous exprimer toute notre fierté pour avoir travaillé avec vous.

Soyez assuré très cher maître, de mon attachement et de ma loyauté.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ALIOUNE DIEYE

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce modeste travail.

Tout au long de notre cursus universitaire, nous avons été séduit par votre conception pointue du travail bien fait.

Soyez assuré cher maître de notre profonde estime.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MAMADOU BADIANE

Nous avons eu échos de vos qualités d'enseignant, de votre sympathie et de votre disponibilité envers les étudiants avant d'avoir l'opportunité d'assister à vos cours.

Votre abord facile, votre simplicité font de vous un maître aimé par les étudiants. Jamais dédicace ne pourra exprimer les forts sentiments que nous avons à votre égard.

Acceptez nos sincères remerciements.

INTRODUCTION

Encore appelés streptocoques oraux ou streptocoques non groupables, les streptocoques déficients font partie des commensaux de la flore buccopharyngée, de l'intestin, de la peau et des voies génitales. A cet effet, des mesures d'asepsie très strictes doivent être prises lors des prélèvements (hémoculture, pus d'abcès, etc.) pour éviter les contaminations avec les streptocoques faisant partie de la flore normale des téguments

Ces streptocoques oraux représentent 30 à 60 % de la population bactérienne à la surface des dents, des joues, de la langue et de la salive. Les espèces retrouvées sont *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus milleri*. *Streptococcus mutans*, à elle seule est responsable des caries dentaires qui peuvent se compliquer en induisant une endocardite. 50 à 60 % des endocardites infectieuses sont dues aux streptocoques non groupables (*Streptococcus mitis*, *sanguis* et *milleri*).

En outre les streptocoques déficients sont fréquemment retrouvés dans les infections du tractus respiratoire, dans les abcès pulmonaires (*Streptococcus milleri*), ostéomyélites, arthrites et pleurésies (22, 30, 40, 58).

Le but de ce travail était :

- d'identifier correctement les streptocoques déficients avec la classification la plus récente, vu que ce groupe de germe a le plus souvent subi des modifications dans la taxonomie ;
- de fournir enfin des données actuelles sur leur sensibilité.

PREMIERE PARTIE. GENERALITES

I- RAPPELS SUR LES STREPTOCOQUES DEFICIENTS

I-1- HISTORIQUE

Le nom de *Streptococcus* (streptus : flexible, coccus : grain) fut pour la première fois attribué par Billoth et Ehrlich (1877) à des cocci formant des chaînettes, observés dans des blessures infectées.

Fehleissen décrit des cocci similaires comme agent de l'érysipèle.

Streptococcus salivarius a été décrit depuis le début du siècle (Andrewes et Horder, 1906). Il doit son appellation au fait qu'il est retrouvé de façon commune au niveau de la salive (palais, langue, pharynx, etc.). Contrairement aux autres espèces de streptocoques déficients, il représente une espèce génétiquement homogène (9).

Clarke (1924) décrit au début du siècle *Streptococcus mutans*. Il fut très vite reconnu comme agent d'endocardite infectieuse (Abercombe et Scott, 1928). *Streptococcus mutans* est en fait un groupe hétérogène divisé d'abord en quatre espèces : *S. mutans* (la plus fréquente), *S. rallus*, *S. cricetus* et *S. sobrinus* auxquels sont venus se rajouter deux nouvelles espèces isolées chez le rat (*S. ferus*) ou le singe (

S. macacae). *S. mutans* , ou plus rarement *S. sobrinus* est retrouvé au niveau de la plaque dentaire, en nombre d'autant plus important qu'il existe de caries (9, 10).

Guthof (1956) utilise pour la première fois le terme de *S. milleri* pour désigner des streptocoques non hémolytiques responsables d'infections buccales. Colman et Williams (1972) ont proposé de rapprocher *S. milleri* des streptocoques MG décrits par Mirick et coll. (1944) et des streptocoques décrits par Ottens et Winckler (1962) en raison de la similitude de leurs caractères physiologiques et de la composition de leur paroi. En 1977, Facklam proposait d'individualiser deux espèces au sein de *S. milleri* sur la base de la fermentation du lactose : *Streptococcus MG intermedius* (lactose +) et *Streptococcus anginosus constellatus* (lactose -) (10, 47). Actuellement, le complexe *S. milleri* comporte trois espèces : *S. constellatus*, *S. intermedius* et *S. anginosus* (60). Dans la suite de l'étude, nous avons conservé l'appellation encore courante de *S. milleri*.

La taxonomie est restée longtemps confuse pour *S. oralis*, *S. sanguis* et *S. mitis*. Ainsi la première souche type de *S. mitis* fut-elle une souche de *S. sanguis*. Le terme de *S. mitior* (Colman et Williams, 1972) fut proposé pour désigner des souches qui produisent un glycane du type de celui de *S. sanguis* et qui n'hydrolysaient ni l'esculine ni l'arginine (comme *S. mitis*). Cependant la nomenclature officielle n'a pas retenu la dénomination de *S. mitior*. La taxonomie actuelle reconnaît trois espèces : *S. oralis* (*S. sanguis* II), *S. sanguis* (*S. sanguis* I) et *S. mitis* (*S. mitior*) (9, 10, 50).

I-2- TAXONOMIE ET HABITAT

Selon Le Minor, trois principaux caractères des Streptocoques sont utilisés pour leur classification :

- la capacité d'hémolyser les érythrocytes
- la présence d'antigènes polysidiques spécifiques de groupe dans leur paroi cellulaire
- les réactions biochimiques spécifiques

Six espèces principales sont pathogènes pour l'homme : *S. mitis*, *S. sanguis* I, *S. sanguis* II, *S. salivarius*, *S. milleri* et *S. mutans*.

Les streptocoques déficients sont dépourvus d'antigènes de groupe. Le tableau ci-dessous donne un court résumé des différentes espèces de streptocoques déficients , l'habitat et le type d'hémolyse.

Espèces	Hémolyse	Habitat
<i>S. salivarius</i>	NH	salive, intestin
<i>S. mitis</i>	□	Rhinopharynx, peau, intestin
<i>S. sanguis</i>	□	Rhinopharynx, peau, intestin
<i>S. milleri</i>	NH	Rhinopharynx, intestin
<i>S. mutans</i>	□ ou NH	Rhinopharynx, dents

NH : non hémolytique

I-3- CARACTERES MORPHOLOGIQUES

Les streptocoques se présentent sous forme de coques ovoïdes ou sphériques à Gram positif et groupés en chaînettes. Les chaînettes résultent de la non séparation des paires de cocci en division et se présentent comme une succession de diplocoques.

Les streptocoques déficients présentent des anomalies morphologiques constantes lors de l'isolement (bouillon d'hémoculture). Lors de la coloration de Gram, un aspect bigarré est observé (une partie des cellules garde mal le colorant) ; les cellules sont groupées en chaînettes et ont soit un aspect normal coccoïde ou ovale, soit une forme bacillaire ou globuleuse (5).

I-4- CARACTERES CULTURAUX

Les streptocoques déficients sont des germes très exigeants, qui repoussent difficilement sur les milieux usuels pour streptocoques après leur isolement d'une hémoculture (trouble uniforme du milieu liquide). La mise en évidence de ces souches est possible en milieux de culture thiolés (L-cystéine, acide thioglycolique, Polyvitex, etc.), de pyridoxine et de D-alanine. Les streptocoques poussent sur gélose au sang frais de lapin ; la croissance est plus riche en anaérobiose ou en présence de 10 % de CO₂. Habituellement, la croissance de ces germes est révélée par la croissance d'autres souches (staphylocoques, entérobactéries, etc.) sur le milieu gélosé au sang. Le phénomène de satellitisme est caractérisé par la croissance des streptocoques déficients sous la forme de colonies minutes entourant la culture en touche du germe révélateur (5).

I-5- CARACTERES BIOCHIMIQUES

De nombreuses réactions biochimiques ont été décrites pour le diagnostic des streptocoques ; une étude sur 600 souches (59) a démontré que certains tests étaient significatifs et surtout qu'ils n'étaient pas constants pour des groupes de souches pourtant bien individualisées du point de vue sérologique. Cependant certains tests ont une grande valeur diagnostique et permettent l'individualisation des streptocoques non groupables. Les principales réactions se résument comme suit :

- fermentation de divers sucres
- hydrolyse de l'amidon, de l'arginine, de l'esculine, et de la gélatine
- croissance sur milieux hostiles (bile-esculine et 6,5 % de NaCl)
- résistance à 60 °C et au tellurite de potassium
- production d'acétyl méthyl carbinol et formation de glucanes (mucilages)

Certaines espèces de streptocoques telles que *S. mutans*, *S. sanguis* et *S. salivarius* sont facilement différenciées par la caractérisation de ces polysides sur des milieux

DONNEES SUR LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE STREPTOCOQUES DEFICIENTS ISOLEES D'INFECTIONS RESPIRATOIRES, OSTEO-ARTICULAIRES ET

hypersaccharosés. Le principe du test est basé sur l'hydrolyse du saccharose en ses composants monosaccharidiques (glucose et fructose) par des enzymes spécifiques extracellulaires élaborées par ces streptocoques. Certaines souches forment du dextrane à partir du glucose (*S. mutans* et *S. sanguis*) et d'autres du lévane à partir du fructose (*S. salivarius*). Le tableau II résume les principaux caractères biochimiques des streptocoques déficients.

Tests		<i>S. mutans</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. milleri</i>	<i>S. sanguis</i> I / II	
Hémolyse		viridans	NH dans	viridans	NH	viridans	viridans
Optochine		R	R	R	R	R	R
Lyse par la bile		-	-	-	-	-	-
Croissance sur bile-esculine		V	-	-	-	-	-
Tolérance à la bile à 40 %		V	-	-	V	V	-
Hydrolyse	Hippurate	-	-	-	-	-	-
	Arginine	-	-	-	+	+	-
	Amidon	-	-	-	-	V	-
	Esculine	V	+	-	+	+	-
Acétyl méthyl carbinol		+	V	-	+	-	-
Fermentation des sucres	Mannitol	+	-	-	-	-	-
	Sorbitol	+	-	-	-	-	-
	Lactose	+	+	V	V	+	+
	Tréhalose	+	+	-	+	-	-
	Raffinose	+	+	-	V	+	+
	Inuline	+	V	-	-	-	-
Production de glucanes		+ (D)	+ (L)	-	-	+ (D)	V (D)
Croissance sous CO ₂		+	-	-	V	-	-

NH : non hémolytique ; S : sensible ; R : résistant ; V : variable ; L : production de lévane ; D : production de dextrane

I-6- PRODUITS EXTRACELLULAIRES

Les souches cariogènes de *S. mutans* produisent des enzymes (glycoprotéines) extracellulaires ou attachées à la cellule (dans ce cas, elles sont localisées à la surface de la paroi cellulaire) capables d'hydrolyser le saccharose et de synthétiser des polyosides. Le nombre d'enzymes impliquées dans la synthèse de ces polyosides n'est pas encore définitivement établi car elles sont habituellement élaborées sous des formes agglutinées. Les polyosides consistent en :

- dextrane contenant des liaisons prédominantes α -1,6 (poids moléculaire bas et soluble dans l'eau)
- mutane contenant plus de 50 % de liaisons α -1,3 (poids moléculaire élevé et insoluble dans l'eau)

- fructane (lévane) contenant des liaisons α -2,6.

Les glucanes (solubles et insolubles) sont synthétisés par la glucosyltransférase (dextranucrase) et le fructane par la fructosyltransférase. La dextranucrase attachée à la cellule est importante car les bactéries qui la possèdent sont munies de certains récepteurs spécifiques qui leur permettent de se lier au dextrane synthétisé (en présence de saccharose). Le résultat de cette liaison est d'une part une agglutination des bactéries et d'autre part une adhérence plus facile aux surfaces dures des dents. Par ces propriétés, *S. mutans* joue un rôle important dans la formation de la plaque dentaire et par conséquent des caries dentaires.

S. sanguis produit des glucosyltransférases sous les deux formes et synthétise du lévane. Ces enzymes joueraient un rôle important dans la colonisation des tissus de la cavité orale par l'agglutination interbactérienne (28).

I-7- POUVOIR PATHOGENE

I-7-1- POUVOIR PATHOGENE NATUREL

Les streptocoques déficients sont des germes commensaux de la cavité buccale. Ils représentent 30 à 60 % de la population bactérienne des surfaces des dents, des joues , de la langue et de la salive. Les dents sont couvertes par la plaque dentaire constituée d'une aggrégation de bactéries, de glycoprotéines salivaires, de sels inorganiques et de dextrane. Parmi les diverses bactéries de cette flore, les streptocoques sont principalement représentés par *S. mutans*, *S. sanguis* à partir du saccharose présent dans l'alimentation. La plaque dentaire adhère à la surface de l'émail des dents et aux gencives ; ces tissus sont perméables aux bioproduits microbiens (acides, antigènes et enzymes) et deviennent vulnérables à l'invasion microbienne. La plaque dentaire joue un rôle étiologique prédominant dans la formation des caries dentaires et des parodontopathies. Ces liaisons sont à l'origine d'endocardites infectieuses, notamment après des soins ou des extractions dentaires. 50 à 60 % des endocardites infectieuses sont dues aux streptocoques non groupables (*S. sanguis*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius* et *S. milleri*). Les streptocoques déficients ont été isolés par hémoculture dans des cas d'endocardite lente. *S. milleri* est fréquemment associé aux abcès pyogènes du foie, du cerveau et des péritonites (39).

I-7-2- POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL

Les streptocoques produisent des maladies expérimentales chez les souris blanches, les rats, les lapins, les singes, les chats et les chiens. Les animaux les plus utilisés sont les souris (pour tester la virulence des souches), les lapins (pour tester l'action de divers produits élaborés), les rats et les singes (pour l'étude des caries dentaires expérimentales provoquées par les streptocoques cariogènes.

I-8- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Le diagnostic étiologique des maladies provoquées par les streptocoques est très complexe. Cette complexité dérive du fait qu'il est souvent difficile d'affirmer que les streptocoques isolés de certains prélèvements soient les vrais agents microbiens responsables de la maladie ; ces streptocoques peuvent avoir contaminé les prélèvements si des précautions élémentaires n'ont pas été assurées.

S'il est utile de faire un examen microscopique direct pour les produits pathologiques polymicrobiens, il n'en est pas de même pour ceux qui sont supposés monomicrobiens (sang, pus, LCR, urines). Ces derniers seront ensemencés dans des milieux nutritifs gélosés contenant 5 % de sang de mouton. Pour les produits pathologiques polymicrobiens, on peut procéder de deux manières :

- ensemencement direct dans la gélose au sang à laquelle on a additionné des agents inhibiteurs de la flore associée ; on peut utiliser à cet effet de la gélose au sang de mouton additionné de L-cystéine et de chlorhydrate de pyridoxal qui est un milieu sélectif pour les streptocoques déficients.
- Ensemencement dans un milieu liquide d'enrichissement comme le bouillon trypticase soja (BTS) puis isolement sur gélose au sang.

Les incubations se feront sous atmosphère enrichie d'au moins 5 % de CO₂.

Après l'isolement, il faut s'assurer que la morphologie des cellules et le test de la catalase correspondent au genre *Streptococcus*.

Le diagnostic biochimique est utile pour différencier les espèces à l'intérieur des streptocoques non groupables. Le test de satellitisme s'impose chez les streptocoques déficients (hémoculture positive mais impossibilité d'isoler le germe dans les subcultures ultérieures) (5).

II- RESISTANCE ET SENSIBILITE DES STREPTOCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES

II-1- NOTION DE RESISTANCE

La capacité pour une souche bactérienne de supporter une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe la majorité des autres souches de la même espèce définit la résistance (38).

Cette capacité fait appel à de nombreux mécanismes biochimiques mettant en jeu les interactions entre l'antibiotique et les voies métaboliques de la bactérie. Pour un antibiotique, les deux conditions de l'activité sont la pénétration et l'accès au site d'action (10). Les sites ou les enzymes responsables de la pénétration d'un produit au niveau de la membrane, les molécules protéiques où l'action s'exerce sont autant d'éléments dont la présence est codée par l'ADN bactérien. L'ADN conditionne la sensibilité ou la résistance.

Les bactéries possèdent l'ADN sous deux formes : chromosomique et extra-chromosomique (plasmidique) ; deux types de résistance peuvent donc être enregistrés. Au même titre que l'homme présente une immunité, les bactéries peuvent posséder une antibiorésistance naturelle. En d'autres termes, cette résistance peut être naturelle ou acquise.

II-1-1- RESISTANCE NATURELLE

C'est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (41). Les streptocoques sont tous résistants à l'azide de sodium, au cristal violet, à l'acide nalidixique, aux polymyxines et aux aminosides (résistance naturelle de bas niveau). Cette résistance est due à un défaut de pénétration à travers la paroi cellulaire streptococcique . Les aminosides n'atteignent pas alors leur cible, c'est-à-dire les sous-unités ribosomiques 30S. La résistance de naturelle de bas niveau des aminosides rend compte de l'inefficacité de ces produits en monothérapie. La résistance naturelle serait alors sous la dépendance d'un gène. L'ADN de la bactérie résistante ne code pas un des éléments intervenant dans le mécanisme d'action, au niveau de la paroi ou du cytoplasme.

II-1-2- RESISTANCE ACQUISE

Elle apparaît chez certaines souches d'une espèce considérée habituellement sensible. Elle intervient soit lors d'une mutation chromosomique, soit lors d'une acquisition de gène par transfert génétique (plasmide ou transposon) (41).

La mutation chromosomique entraîne la modification des structures cellulaires préexistantes qui rend la bactérie indifférente à un ou plusieurs antibiotiques par diminution de la perméabilité ou du transport, soit les cibles intracellulaires de ces antibiotiques, insensibles à la présence du ou des antibiotiques.

L'acquisition d'un plasmide ou d'un transposon entraîne la synthèse de protéines nouvelle par la bactérie réceptrice. La résistance peut alors être due à :

- l'altération de la cible de l'antibiotique
- la modification du transport de l'antibiotique (diminution de l'import actif ou mise en œuvre d'un export actif)
- l'inactivation de l'antibiotique
- la substitution de la cible de l'antibiotique

Les mécanismes de cette résistance sont en relation avec une diminution d'affinité (10 à 500 fois) d'une ou de plusieurs PLP (protéines de liaison à la pénicilline) à la suite de mutation nécessitant plus d'antibiotiques.

Cette affinité modifiée peut s'accompagner d'une nette augmentation de production de la PLP.

La résistance est quelque fois en rapport avec l'apparition d'une nouvelle PLP « essentielle » inductible et de très faible affinité comme la PLP 5 chez les entérocoques

résistants à la pénicilline.

L'apparition de cette nouvelle PLP de faible affinité prenant le relais des autres a pour conséquence une résistance entre toutes les bêta-lactamines. C'est le cas de *Enterococcus faecalis* et *faecium*.

La résistance liée à la présence des plasmides R généralement due à une synthèse de protéines. Elle concerne la quasi-totalité des antibiotiques.

Les plasmides R peuvent conférer la résistance à un ou plusieurs antibiotiques appartenant à des familles différentes.

D'une manière générale, la résistance a beaucoup évolué. On a pu cependant remarquer durant ces dernières années que les streptocoques avaient développé certaines résistances aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines.

Ces résistances sont par ordre décroissant :

- la résistance aux tétracyclines
- la résistance aux macrolides
- la résistance au chloramphénicol
- la résistance aux sulfamides et au triméthoprim

II-2- NOTION DE SENSIBILITE

Les streptocoques en général présentent une très grande sensibilité à la pénicilline. Cependant, du fait de l'apparition des phénomènes allergiques à ce médicament, les auteurs substituent cette thérapeutique à une autre dont le choix est fonction du comportement in vitro des streptocoques envers les autres antibiotiques.

Les streptocoques sont également sensibles à l'ampicilline, aux macrolides, aux lincosamides, aux streptogramines A et B, au chloramphénicol et à la vancomycine.

Les CMI sont variables d'un antibiotique à un autre, d'où la nécessité de faire un antibiogramme standard sur toute souche de streptocoque isolée d'infection généralisée.

III- TRAITEMENT

Le traitement à appliquer dépend de la sensibilité ou de la résistance des streptocoques déficients face aux antibiotiques.

III-1- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

Pendant longtemps, les streptocoques non hémolytiques ont été réputés sensibles à la pénicilline G (CMI inférieures à 0,1 mg/ml). Pourtant dès 1962, on décrivait des

souches de *S. viridans* résistantes à la pénicilline dans la flore buccale de sujets recevant une pénicillinothérapie prolongée en prévention du RAA (Rhumatisme Articulaire Aigu) (43). Vers la fin des années 1970, certains travaux faisaient état de souches relativement résistantes à la pénicilline G, de l'ordre de 10 % pour *S. mitis* et de 5 % pour les autres espèces (19). Dans la période 1988-89, on relevait des fréquences de *S. viridans* résistant à la pénicilline de 50 à 60 % respectivement à Madrid (33) et à Barcelone (14).

Cette résistance à la pénicilline G est liée à une diminution d'affinité des PLP, sans production de bêta-lactamase (15, 43). Ces streptocoques sont résistants aux pénicillines et céphalosporines de première génération mais restent sensibles à l'imipénème et, à un moindre degré, au céfotaxime (33). Outre une moindre sensibilité, une tolérance vis-à-vis de la pénicilline G a été observée pour pratiquement toutes les espèces de streptocoques non groupables. La signification clinique du phénomène de tolérance n'est cependant pas bien élucidée (20).

La vancomycine est régulièrement active sur les streptocoques déficients bien qu'il ait été rapporté le cas d'une souche résistante à cet antibiotique (14).

Les streptocoques déficients sont résistants à bas niveau aux aminosides. L'association d'un aminoside avec une pénicilline est synergique alors que dans des conditions expérimentales, la vancomycine seule s'est révélée aussi efficace que l'association aminoside et vancomycine (6). La résistance à haut niveau à la streptomycine ou à la kanamycine est rare (29).

Dans certaines localités, la fréquence des souches multirésistantes (à plus de trois antibiotiques) est passée de 4 à 72 % au cours des dernières années (14). Les antibiotiques concernés sont outre la pénicilline, l'érythromycine, la clindamycine, les cyclines et le cotrimoxazole.

III-2- RECOMMANDATIONS POUR LE TRAITEMENT DES ENDOCARDITES A STREPTOCOQUES NON GROUPABLES (4, 49)

- Streptocoques non résistants à la pénicilline G (CMI inférieure à 0,5 mg/l) :
 - Dans les endocardites « simples » évoluant depuis moins de trois mois, non compliquées et dues à un streptocoque sensible à la pénicilline G (CMI inférieurs à 0,1 mg/l), on recommande une association de pénicilline G (10 à 20 millions U/j) et d'aminosides pendant deux semaines. En cas de risques auditif ou rénal (sujets âgés), l'alternative est une monothérapie par pénicilline G (même dose) pendant quatre semaines.
 - Dans tous les autres cas, on recommande la pénicilline G (20 millions U/j) pendant quatre semaines, associée à un aminoside pendant les deux premières semaines. L'intérêt d'associer un aminoside pour les souches dont la CMI est comprise entre 0,1 et 0,5 mg/ml n'est cependant pas prouvé.
- Streptocoques résistants à la pénicilline G (CMI supérieure ou égale à 0,5 mg/ml) (

11) :

On recommande une association pénicilline G (20 à 30 millions U/j) et aminoside pendant quatre à six semaines.

- En cas d'allergie à la pénicilline, la vancomycine (30 mg/kg/j) est préconisée en monothérapie pendant quatre semaines. Les céphalosporines représentent une alternative, notamment les molécules comme la ceftriaxone qui, en raison d'une administration journalière unique, pourrait représenter à l'avenir une possibilité de traitement ambulatoire des endocardites « simples ». Certaines données expérimentales laissent entrevoir une place pour certaines quinolones dans le traitement de certaines endocardites à streptocoques (48).

DEUXIEME PARTIE. TRAVAIL PERSONNEL

I- MATERIEL

I-1- SOUCHES BACTERIENNES

I-1-1- SOUCHES A TESTER

Elles sont obtenues à partir des prélèvements faits au niveau de l'hôpital Aristide Le DANTEC (HALD)mais également à partir des souches de streptocoques déficients qui ont été conservés au laboratoire depuis 1997 et celles de 2000 dénommées souches IRB (Infections Respiratoires Basses).

I-1-2- SOUCHE DE REFERENCE

Enterococcus faecalis ATCC 29212

I-2- PRELEVEMENTS

- Expectorations
 - Eau distillée stérile
 - Boîte stérile de prélèvement
 - Gants stériles
 - Vortex
- Hémocultures
 - Seringues et aiguilles stériles
 - Ballons d'hémoculture contenant 100 ml de BCC
- Ecouvillonnages nasal et pharyngé
 - Ecouvillon
 - Abaisse langue
- Sécrétions pharyngées
 - Seringue à gavage
 - Embout stérile de 1000 μ l

I-3- ISOLEMENT DES SOUCHES

I-3-1- MATERIEL

- Anse de platine
- Bec Bunsen
- Etuve
- Lames et lamelles
- Microscope optique
- Réfrigérateur
- Jarre pour obtenir une atmosphère à 5 % de CO₂

I-3-2- REACTIFS

-
- Réactifs pour la coloration de Gram
 - Bouillon au thioglycolate
 - Gélose Columbia ou gélose trypticase ou gélose MH utilisées comme milieu de base
 - Gélose au sang ordinaire (GSO) enrichie au chlorhydrate de pyridoxal à 0,01 g/l ou chlorhydrate de cystéine à 0,01 g/l (ou L-cystéine) ; le sang utilisé étant le sang de mouton
 - CLED (Cystine-Lactose- Electrolytes Déficients)

I-4- IDENTIFICATION

- Huile de paraffine
- Eau distillée
- Tubes à hémolyse
- Etuve à 37 °C
- Micropipette
- Anse de platine
- Embout
- Echelles Mc Farland
- Galeries CSB Streptocoques

I-5- ETUDE DE LA SENSIBILITE PAR E-TEST

- Applicateurs
- Bandes adhésives
- Papier buvard
- Tubes à hémolyse
- Ecouillons stériles
- Echelle Mc Farland
- Bandes E-test
- Boîtes de Pétri de 150 ou 90 mm de diamètre
- Guide de lecture E-test
- GSO
- Réactifs
- Eau physiologique

I-6- ANTIBIOGRAMME STANDARD

- Boîte de Pétri
- Ecouvillon
- Disques d'antibiotiques
- Distributeur ou pinces
- Etuve
- Echelle Mc Farland
- Gélose au sang cuit ou au sang ordinaire

I-7- MATERIEL POUR LA CONSERVATION

Les souches doivent être conservées au freezer, à – 70 °C. Le matériel utilisé est le suivant :

- cryotubes Nunc
- portoirs à cupules numérotées et couverts
- bande adhésive
- différents milieux de conservation : lait écrémé, bouillon cœur-cervelle, etc.

II- METHODES

II-1- PREPARATION DES MILIEUX

Les milieux sont présentés sous forme de poudres lyophilisées. Au moment de l'emploi, la poudre est dissoute dans de l'eau distillée en respectant les quantités qui sont indiquées sur les flacons de poudre.

Pour permettre une parfaite dissolution de la poudre, un agitateur magnétique est utilisé. La poudre dissoute est chauffée et maintenue à ébullition pendant environ deux minutes pour permettre la dissolution des cristaux. Les milieux sont ensuite répartis dans des flacons avant d'être autoclavés pendant 15 à 20 minutes à 120-121 °C en surpression. Après autoclavage, les milieux sont répartis dans les boîtes de Pétri.

Les milieux prêts à l'emploi sont conservés à 4 °C dans des sacs en plastique.

II-2- LES PRELEVEMENTS

La qualité des prélèvements va conditionner la suite de l'analyse et la valeur des résultats.

II-2-1 EXPECTORATIONS

Elles sont effectuées au laboratoire ou sous contrôle de ce dernier.

Il s'agissait de collecter dans un flacon stérile une quantité suffisante d'exsudat purulent produit par l'arbre respiratoire enflammé et émis à l'occasion d'un effort de toux.

Les prélèvements ont été effectués le matin à jeun, en dehors de tout traitement antibiotique et après nettoyage buccal.

II-2-2- ECOUVILLONNAGES PHARYNGES

Dans l'impossibilité de réaliser un prélèvement d'expectoration chez les jeunes enfants, un écouvillonnage pharyngé a été effectué.

II-2-3- HEMOCULTURES

Nous avons réalisé deux ou plusieurs prélèvements en dehors de toute antibiothérapie, loin des repas et en dehors des pics fébriles.

Après une désinfection minutieuse du pli du coude, nous avons effectué une ponction veineuse d'environ dix millilitres de sang (chez l'adulte), cinq millilitres chez l'enfant, soit à l'aide d'une seringue, soit à l'aide d'un dispositif de prélèvement : le sang est immédiatement inoculé dans le ballon d'hémoculture. Celui-ci doit être immédiatement acheminé au laboratoire.

II-2-4-SECRETIONS PHARYNGEES

Le prélèvement de sécrétion pharyngée a été réalisé chez les jeunes enfants : en se servant d'un abaisse-langue et d'une seringue à gavage sur laquelle est adapté un embout stérile de 1000 µl, la sécrétion a été aspirée.

Le prélèvement devait être acheminé rapidement au laboratoire et pris en charge afin d'éviter que la flore commensale d'accompagnement puisse se multiplier et fausser les résultats.

II-3- CONSERVATION

Tous les prélèvements ont été gardés à – 70 °C.

II-4- TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS

- laver l'expectoration ou la sécrétion pharyngée avec de l'eau physiologique stérile.
- Retirer complètement l'eau de lavage.
- Ajouter un volume égal de N-acétyl L-cystéine à 1 % (Mucomyst) ou utiliser un

volume égal de digesteur Eurobio, ce qui correspond à une dilution au 1/2.

- Vortexer 2 minutes et laisser reposer 10 à 15 minutes.
- Faire une dilution au 1/500 avec de l'eau physiologique stérile - à l'aide d'une anse calibrée, prélever 10 µl d'homogénéisat et diluer dans 5 ml d'eau.
- Homogénéiser

Les frottis ont été réalisés pour les colorations de Gram et de May-Grünwald Giemsa (MGG) avant d'ajouter le N-acétyl L-cystéine car ce dernier digère les cellules.

II-5- EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE

II-5-1- EXAMEN MACROSCOPIQUE

Il a été apprécié pour la suite de l'analyse :

- expectoration purulente ou mucopurulente : appropriée aux investigations bactériologiques
- expectoration spumeuse : prélèvement impropre à l'analyse bactériologique.

II-5-2- EXAMEN MICROSCOPIQUE : APRES COLORATIONS DE GRAM ET MGG

A partir du produit pathologique préalablement traité, si nécessaire, nous avons réalisé deux frottis colorés au Gram et au MGG. L'examen microscopique à l'objectif X100 permet d'apprécier : le nombre de polynucléaires, l'aspect de la flore, le nombre de cellules épithéliales, etc. Pour les prélèvements nos concernant l'examen microscopique a montré une prédominance de cocci gram positif disposés en chaînettes plus ou moins longues.

II-5-3- ISOLEMENT

Le prélèvement a été ensemencé sur GSO additionné de pyridoxal à 0,01 g/l et / ou de L-cystéine ; à défaut de ce milieu, nous avons utilisé du CLED. La lecture a été faite après 24 heures sous CO₂ à 37 °C.

II-5-4- IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE

Micro CSB Streptocoque

Principe

C'est une microméthode d'identification. Elle consiste à ensemencer des plaques présentant des cupules qui renferment des substrats déshydratés destinés à la mise en évidence d'activités enzymatiques ou d'assimilation des substrats carbonés en milieu approprié (fermentation) ou hostile.

Ces puits sont ensemencés avec un inoculum qui reconstitue le milieu. Après incubation, la lecture des réactions est effectuée directement ou après addition de réactifs de révélation.

Mode opératoire

- Préparer une suspension bactérienne de turbidité égale à celle de l'échelle 4 Mac Farland dans 1 ml d'eau distillée stérile avec une boîte entière de culture de 24 heures sur gélose au sang, par écouvillonnage.
- Utiliser 100 µl d'inoculum bactérien par cupule, de VP à BHS
- Verser le reste de la suspension bactérienne dans 1 ml de MEVAG streptocoque et mélanger.
- Ensemencer les cupules de ARA à GLY avec le MEVAG ainsi inoculé (100 µl d'inoculum bactérien par cupule).
- Fermer les cupules ADH et tous les sucres avec 2 gouttes d'huile de paraffine.
- Incuber à 37 °C sur un plateau recouvert de papier buvard imbibé d'eau.
- Lire après heures et après 18 heures d'incubation.

Tests	Substrats	Réactions Enzymes	Réactifs à ajouter	Résultats	Résultats négatifs
VP	Glucose + pyruvate	Production d'acétoïne	1 goutte de KOH 1 goutte de créatinine 1 goutte de naphthol	Rose Rouge	Incolore
ESC	Esculine	Bêta-blucosidase		Noir	incolore
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase		Rouge	Jaune
BHS	Glucose	Croissance en milieu hypersalé		Jaune	Violet
ARA	L-arabinose	Fermentation		Jaune	Rouge
MAN	Mannitol				
SOR	Sorbitol				
TRE	Tréhalose				
RAF	Raffinose				
SOS	Sorbose				
INU	Inuline				
LAC	Lactose				
AMD	Amidon				
GLY	glycérol				

II-6- DETERMINATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

II-6-1- ANTIBIOGRAMME STANDARD PAR LA METHODE DES DISQUES

Principe

L'antibiogramme apprécie la modification de la croissance d'une souche bactérienne en présence d'antibiotiques.

La croissance bactérienne se traduit par la variation de paramètres divers, diversement quantifiables.

Mode opératoire

A partir d'une culture de 18-24 heures, préparer une suspension de 1 à 2 colonies dans 1 ml d'eau physiologique puis comparer la turbidité avec l'étalon Mac Farland 0,5.

Ensemencement

Ensemencer les boîtes contenant les milieux par écouvillonnage, puis laisser sécher 10 à 15 minutes.

Appliquer les disques d'antibiotiques correspondant à l'aide de distributeurs ou avec les pinces en appuyant légèrement et incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures en anaérobiose.

Lecture

La culture bactérienne s'arrête lorsqu'elle rencontre une concentration égale à sa CMI. La mesure du diamètre d'inhibition reflète donc la valeur de la CMI de l'antibiotique. Ces valeurs sont interprétées en fonction des abaques.

Antibiotiques testés

Ont été les suivants :

- spiramycine (SP)
- Péfloxacin (PEF)
- Streptomycine (S)
- Ciprofloxacine (CIP)
- Oxacilline (OX)
- Gentamicine (GM)
- Erythromycine (E)
- Acide nalidixique (AN)
- Rifampicine (RA)
- Pénicilline G (P)
- Amoxicilline (XL)
- Amoxicilline-acide clavulanique (AC)
- Vancomycine (VA)
- Amikacine (AK)

II-6-2- DETERMINATION DE LA CMI PAR E-TEST

Le E-test est une technique de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Principe

Il est basé sur la combinaison des deux concepts de dilution et de diffusion.

Le système E-test consiste en une bande en plastique non poreuse calibrée par un gradient préétabli de concentration d'antibiotique couvrant 15 dilutions pour déterminer la CMI en mg/l d'une souche testée en milieu gélosé.

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

Mode opératoire

Préparation de l'inoculum bactérien

Une parcelle de colonies viables de 24 à 48 heures a été repiquée dans une solution de microbouillon nutritif pendant 4 heures pour avoir des germes en phase de croissance exponentielle ; la turbidité de l'inoculum a été ensuite ajustée entre 0,5 et 1 Mac Farland en comparant avec un témoin.

Ensemencement

La méthode d'ensemencement du milieu a été celle préconisée par le NCCLS et qui est la méthode par écouvillonnage ou méthode de Kirby-Bauer, que nous avons réalisé comme suit :

- plonger un écouvillon stérile dans l'inoculum et bien l'essorer sur les rebords du tube ;
- écouvillonner entièrement dans les 4 sens de la gélose dont la surface a été bien séchée ;
- laisser sécher à la température ambiante environ une quinzaine de minutes.

Application des bandes E-test

- Sortir le paquet de bandes à tester du freezer 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 et ne pas utiliser ceux qui sont endommagés ;
- Retirer les bandes avec les pinces 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 ; 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 ;
- 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 CO₂ pendant 18 heures.

Remarque

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

Ne pas déposer beaucoup de bandes sur une boîte de Pétri.

L'épaisseur de la gélose doit être d'environ 4 +/- 0,5 mm.

Incuber aux conditions adéquates, c'est-à-dire à 37 °C pendant 24 heures.

II-6-3- CONTROLE DE QUALITE SUR LES TESTS DE SENSIBILITE

Il consiste à tester les souches de référence. Les normes ont été celles publiées par le NCCLS.

Le contrôle était destiné à évaluer l'efficacité, la précision, l'exactitude et la reproductibilité des méthodes utilisées.

Ils ont permis également de contrôler la fiabilité des réactifs et l'évaluation du rendement du manipulateur.

Ce contrôle a été réalisé avec les souches dites « souches de référence » chaque fois qu'il y avait une nouvelle série de réactifs, de milieux ou le réglage d'un appareil. La souche de référence que nous avons utilisé a été *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

II-7- CONSERVATION DES SOUCHES BACTERIENNES

Elles ont été stockées dans deux milieux de conservation :

- bouillon cœur cerveau additionné de glycérol à 10 ou 15 %
- lait écrémé

Il était indispensable de suivre les impératifs qui régissaient la réussite de cette manipulation.

Les règles observées ont été les suivantes :

- ne conserver qu'une souche pure ;
- ne jamais conserver en milieu liquide pour éviter le développement des mutants ;
- garder la souche dans des conditions défavorables à sa multiplication ;
- prévoir enfin toutes les mesures nécessaires pour la conservation des isoléments.

La technique de conservation consiste à prélever au niveau de la boîte de Pétri contenant une culture pure de la bactérie, de 24 à 48 heures, quelques colonies bien isolées à l'aide d'une anse en platine.

Les cryotubes ont été ensuite conservés à – 20 °C et à – 70 °C.

Règles d'étiquetage

La conservation des souches a été effectuée dans un tube sur lequel figurent :

-
- l'origine de la souche (ex HALD, CHU FANN, etc.)
 - la date de conservation
 - le nom de la souche
 - le numéro et la nature du prélèvement
 - la température et le milieu de conservation utilisés
 - le code de l'année

TROISIEME PARTIE. RESULTATS

I- RESULTATS ET REPARTITION DES SOUCHES ISOLEES

De novembre 2001 à mai 2002, 28 souches de streptocoques déficients ont été isolées dans le cadre de cette étude.

Les souches provenaient de :

- HALD

La majeure partie des souches de streptocoques déficients isolées provenaient pour l'essentiel de HALD, soit un total de 26 souches.

Les origines ont été :

- 15 souches d'IRB conservées depuis l'année 2000 au laboratoire
- 7 souches isolées à partir de prélèvements de pus et conservées depuis 1997.
- 4 souches isolées à partir des prélèvements d'expectoration faits au service de pédiatrie.

DONNEES SUR LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE STREPTOCOQUES DEFICIENTS ISOLEES D'INFECTIONS RESPIRATOIRES, OSTEO-ARTICULAIRES ET

· HEAR

Les deux (2) souches provenant d'HEAR ont été isolées et stockées au laboratoire depuis l'année 2000 et ont été isolées d'IRB.

Espèces	Nombre	Pourcentage (%)
<i>S. mitis</i>	11	39,3
<i>S. crista</i>	7	25
<i>S. sanguis</i>	6	21,4
<i>S. milleri</i>	3	10,7
<i>S. mutans</i>	1	3,6
Total	28	100

S. mitis a été le germe le plus retrouvé (39,3 % des souches) alors qu'une seule souche de *S. mutans* a été isolée.

Espèces	Enfants	Adultes	Total
<i>S. mitis</i>	4	7	11
<i>S. crista</i>	1	6	7
<i>S. sanguis</i>	2	4	6
<i>S. milleri</i>	0	3	3
<i>S. mutans</i>	0	1	1
Total	7	21	28

Ils ont été plus incriminés chez les adultes que chez les enfants, avec toujours *S. mitis* comme tête de file.

Selon la nature du prélèvement, la répartition des souches a été notée dans le tableau suivant.

Espèces	Expectoration	Hémoculture	Liquide péricardique	Pus articulaire	Pus pleural	Pus d'ostéite
<i>S. mitis</i>	7	2	1	1		
<i>S. sanguis</i>	5		1			
<i>S. crista</i>	7					
<i>S. milleri</i>	1			1		1
<i>S. mutans</i>					1	

S. mitis a encore été le plus fréquent, surtout dans les expectorations.

II- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

Antibiotiques	Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Ciprofloxacine	0	3,6	96,4
Streptomycine	0	23,5	76,5
Rifampicine	7,4	33,3	59,3
Erythromycine	3,6	39,3	42,8
Spiramycine	53,8	23,1	23,1
Pénicilline G	53,8	23,1	23,1
Gentamicine	100	0	0
Acide nalidixique	100	0	0
Clindamycine	0	0	100
Vancomycine	0	0	100
Amoxicilline	15,4	0	84,6
Amoxicilline-acide clavulanique	7,7	19,2	73,1
Amikacine	19	28,6	52,4

La sensibilité à la ciprofloxacine a été bonne (96,4 %) et aucune résistance n'a été observée. Par contre une forte résistance à l'acide nalidixique a été notée.

La sensibilité à l'érythromycine des streptocoques a été moyennement bonne.

La vancomycine a présenté une bonne sensibilité (100 %) comme la clindamycine

La sensibilité à l'amoxicilline a été bonne avec une résistance de 15,4 % comme celle de l'association avec l'inhibiteur ainsi que celle de la streptomycine.

Par contre, une très grande résistance a été notée avec la pénicilline G (cf tableau).

II-1- SENSIBILITE DE *S. MITIS* AUX ANTIBIOTIQUES

Antibiotiques	Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Ciprofloxacine	0	0	100
Streptomycine	0	12,5	87,5
Rifampicine	18,2	63,6	18,2
Erythromycine	9,1	36,4	54,5
Spiramycine	70	20	10
Pénicilline G	60	10	30
Gentamicine	100	0	0
Acide nalidixique	100	0	0
Clindamycine	0	0	100
Vancomycine	0	0	100
Amoxicilline	10	0	90
Amoxicilline-acide clavulanique	9,1	0	90,9
Amikacine	10	30	60

DONNEES SUR LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE STREPTOCOQUES DEFICIENTS ISOLEES D'INFECTIONS RESPIRATOIRES, OSTEO-ARTICULAIRES ET

De bonnes sensibilités ont été notées avec la ciprofloxacine et à la streptomycine et tous les autres antibiotiques étudiés en E-test mais modérées pour l'érythromycine et la rifampicine.

Le détail des phénotypes retrouvés est résumé dans le tableau ci-dessous.

ATB	S. mitis 1	S. mitis 2	S. mitis 3	S. mitis 4	S. mitis 5	S. mitis 6	S. mitis 7	S. mitis 8	S. mitis 9	S. mitis 10	S. mitis 11
NA	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CIP	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	I	S	S	R	I	I	I	S	S	S	S
RA	R	I	S	R	I	I	I	I	S	I	I
S	S	S	S	S	-	S	S	S	S	I	I
SP	S	R	I	R	R	R	R	R	-	R	I
GM	R	-	R	-	-	-	-	-	R	-	R
AC	S	S	-	S	S	S	S	S	S	S	S
AK	R	I	S	S	I	S	S	S	I	S	-
VA	S	S	-	S	S	S	S	S	-	S	S
XL	S	S	-	S	S	S	S	S	S	S	S

II-2- SENSIBILITE DE *S. CRISTA* AUX ANIBIOTIQUES

Antibiotiques	Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Ciprofloxacine	0	0	100
Streptomycine	0	14,3	85,7
Rifampicine	0	16,7	83,3
Erythromycine	0	42,9	57,1
Spiramycine	42,8	28,6	28,6
Pénicilline G	0	33,3	66,7
Péfloxacin	0	33,3	66,7
Acide nalidixique	100	0	0
Clindamycine	0	0	100
Vancomycine	0	0	100
Amoxicilline	42,9	0	57,1
Amoxicilline-acide clavulanique	16,7	33,3	50
Amikacine	0	0	100

Certaines résistances ont été assez élevées, notamment avec la spiramycine et l'amoxicilline, par rapport aux autres antibiotiques.

Les phénotypes sont les suivants.

ATB	<i>S. crista 1</i>	<i>S. crista 2</i>	<i>S. crista 3</i>	<i>S. crista 4</i>	<i>S. crista 5</i>	<i>S. crista 6</i>	<i>S. crista 7</i>
NA	R	R	R	R	R	R	R
CIP	S	S	S	S	S	S	S
E	S	S	I	I	I	S	S
RA	S	I	-	I	S	S	S
S	S	I	-	S	S	S	S
SP	I	R	R	S	I	S	R
P	-	-	-	S	S	I	-
PEF	-	-	-	S	S	I	-
AC	S	S	S	I	I	S	R
AK	S	S	S	-	-	-	-
VA	S	S	S	S	S	S	S
XL	S	S	S	R	R	S	R
CL	-	-	-	S	S	S	S

II-3- SENSIBILITE DE *S. SANGUIS* AUX ANTIBIOTIQUES

Antibiotiques	Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Ciprofloxacine	0	0	100
Streptomycine	0	50	50
Rifampicine	0	0	100
Erythromycine	0	0	100
Spiramycine	0	50	50
Pénicilline G	50	0	50
Acide nalidixique	100	0	0
Clindamycine	0	0	100
Vancomycine	0	0	100
Amoxicilline	0	0	100
Amoxicilline-acide clavulanique	0	0	100
Amikacine	20	40	40

Seule la pénicilline G a montré une efficacité moyenne.

Les phénotypes ne sont pas aussi variés que *S. mitis*.

DONNEES SUR LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE STREPTOCOQUES DEFICIENTS ISOLEES D'INFECTIONS RESPIRATOIRES, OSTEO-ARTICULAIRES ET

ATB	<i>S. sanguis</i> 1	<i>S. sanguis</i> 2	<i>S. sanguis</i> 3	<i>S. sanguis</i> 4	<i>S. sanguis</i> 5	<i>S. sanguis</i> 6
NA	R	R	R	R	R	R
CIP	S	S	S	S	S	S
E	S	S	S	I	I	S
RA	S	S	S	S	S	S
S	S	S	I	-	-	S
SP	I	S	S	S	R	I
P	-	-	I	S	-	-
PEF	-	-	-	I	S	-
AC	S	S	S	S	S	S
AK	I	R	I	-	I	I
VA	S	S	S	S	S	S
CL	-	-	-	S	-	-
XL	S	S	S	S	S	S

II-4- SENSIBILITE DE *S. MILLERI* AUX ANTIBIOTIQUES

Antibiotiques	Résistance (%)	Intermédiaire (%)	Sensibilité (%)
Ciprofloxacine	0	33,3	66,7
Rifampicine	0	0	100
Erythromycine	0	66,7	33,3
Spiramycine	66,7	0	33,3
Acide nalidixique	100	0	0
Péfloxacin	50	50	0
Clindamycine	0	0	100
Vancomycine	0	0	100
Amoxicilline	66,7	0	33,3
Amoxicilline-acide clavulanique	66,7	0	33,3
Amikacine	50	50	0

La sensibilité avec la rifampicine a été maximale cette fois comme avec clindamycine et vancomycine.

Les trois souches testées ont données des phénotypes assez identiques.

ATB	<i>S. milleri 1</i>	<i>S. milleri 2</i>	<i>S. milleri 3</i>
NA	R	R	R
CIP	S	I	S
RA	S	S	S
E	S	I	I
SP	I	R	R
PEF	-	R	I
AC	R	S	R
AK	-	R	I
VA	S	S	S
CL	S	-	-
XL	R	S	R

II-5- SENSIBILITE DE *S. MUTANS* AUX ANTIBIOTIQUES

Une seule souche de *S. mutans* a été isolée durant notre étude. Sa sensibilité n'est donc pas exprimée en pourcentage.

Antibiotiques	Profil
Ciprofloxacine	Sensible
Streptomycine	Sensible
Rifampicine	Sensible
Erythromycine	Intermédiaire
Péfloxacin	Sensible
Acide nalidixique	Résistant
Spiramicine	Résistant
Pénicilline G	Intermédiaire
Gentamicine	Résistant
Amikacine	Sensible
Clindamycine	Sensible
Vancomycine	Sensible
Amoxicilline	Sensible
Amoxicilline-acide clavulanique	Sensible

QUATRIEME PARTIE. DISCUSSION

I- PRELEVEMENTS

L'échantillon devait être correctement collecté afin d'éviter la contamination par les streptocoques déficients commensaux. Certaines précautions étaient à prendre pour les prélèvements d'expectoration et d'hémoculture :

- concernant les prélèvements d'expectoration, l'effort de toux était indispensable pour éviter les prélèvements salivaires impropres à l'analyse bactériologique.
- Pour les ballons d'hémoculture, il fallait bien désinfecter la peau, faire plusieurs prélèvements et de préférence lors des pics thermiques, tout en s'assurant de l'absence d'antibiothérapie.

II-L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT

Il s'avérait indispensable pour le prélèvement d'expectoration parce que permettant de valider le prélèvement. Ainsi, les crachats qui, à l'objectif X100 contenaient plus de 25

cellules épithéliales par champ, étaient éliminés ; il s'agissait de prélèvements salivaires. En revanche, ceux qui étaient sans ou avec très peu de cellules épithéliales et contenant plus de 25 polynucléaires par champ ont été analysés ; il s'agissait de prélèvements purulents.

III-METHODES D'ISOLEMENT

Pour l'isolement, deux types de milieux ont été utilisés : la GSO additionnée de pyridoxal et le CLED

III-1- GSO ADDITIONNEE DE PYRIDOXAL

Sur ce milieu, les streptocoques déficients poussent visiblement bien avec des colonies isolées, distinctes. C'est le milieu de choix mais le seul inconvénient est que le pyridoxal coûte cher et que le milieu CLED, à un coût moindre, peut être utilisé.

III-2- CLED

Sur ce milieu, les streptocoques déficients, ont été bien isolés avec leurs colonies caractéristiques. L'utilisation de ce milieu a présenté aussi l'avantage de pouvoir mettre en évidence rien que par l'examen macroscopique du milieu la présence de *Staphylococcus aureus* qui colore la boîte en jaune. Ce dernier a été souvent à l'origine de souillures des milieux .

IV-METHODES D'IDENTIFICATION

Nous avons identifié les streptocoques déficients avec les microplaques CSB streptocoque dont le protocole a été simple et l'utilisation facile. Cette méthode nous a permis d'identifier les espèces isolées. Ces tests biochimiques ne suffisent pas pour différencier *S. mitis* et *S. sanguis*, qui ont beaucoup de caractères semblables et ne se différencient que par le raffinose ; cette limite se retrouve dans la galerie API Strep. Pour cette raison, la méthode DNA-DNA hybridation qui donne de bons résultats d'identification a tendance à être utilisée. Ces méthodes ne peuvent être encore utilisées dans nos pays parce qu'elles demandent des moyens financiers énormes.

V-TESTS DE SENSIBILITE

V-1- ANTIBIOGRAMME STANDARD

Cette technique utilisée en routine a donné de bons résultats dans l'ensemble.

V-2- E-TEST

Cette technique s'est montrée une méthode de détermination rapide des CMI, fiable et facile, en ce qui concerne sa lecture.

C'est une technique tout de même onéreuse qui exclue pour le moment son utilisation en routine.

Des études qui ont été faites aux USA ont montré que la méthode E-test présentait un inconvénient majeur pour la détermination de la CMI de streptocoques viridans. Ces études ont révélé une erreur de l'ordre de 0,7 % de la méthode E-test par rapport à la méthode de dilution sur agar (45).

VI-SOUCHES IDENTIFIEES

Dans l'étude que nous avons mené, il est très difficile de tirer certaines conclusions globales en se basant sur le nombre de souches isolées et le type de prélèvement (voir tableau XIX de répartition des espèces en fonction des prélèvements). Par exemple, en se référant au tableau, nous pouvions être tentés de dire que les streptocoques déficients étaient beaucoup plus retrouvés dans les affections du tractus respiratoire que cardiaques, ce qui serait une conclusion erronée. Ces difficultés sont dues au fait que :

- d'une part, le nombre de prélèvements d'expectorations qui ont été faits étaient beaucoup plus nombreux que les autres types de prélèvements ;
- d'autre part, il y a d'autres espèces de streptocoques déficients dont l'isolement n'a pas été réussi.

VI-1- STREPTOCOCCUS MITIS.

Dans cette étude, *S. mitis* présente la fréquence d'isolement la plus élevée avec un taux de 39,3 %. 63,6 % des souches ont été isolées chez les adultes et 36,4 % l'ont été chez les enfants. Sur les 11 souches de *S. mitis* isolées, sept provenaient d'expectorations.

Des études faites en Italie sur des patients âgés de plus de 32 ans ont montré que *S. mitis* est responsable de nombreuses endocardites (36). Les mêmes résultats ont été obtenus lors d'une étude chez des âgées d'environ 52 ans (51).

VI-2- STREPTOCOCCUS SANGUIS

21,4 % des souches isolées ont été de cette espèce. Une étude faite au Danemark en 1999, a montré que *S. sanguis* était l'espèce la plus retrouvée dans les endocardites (16). Une autre étude effectuée en Angleterre en 2002, a donné des résultats similaires (2).

Cependant, *S. sanguis* a été retrouvé dans des cas d'infections respiratoires.

VI-3- STREPTOCOCCUS MILLERI

Il a représenté 10,7 % des souches totales. Les études faites à Paris en 1998 ont montré un cas sur dix d'infection pulmonaire due à *S. milleri* (27).

Une autre étude menée à Barcelone a montré que sur 28 cas d'infections pulmonaires, *S. milleri* a été isolé chez 17 patients (42).

En 1999 en Allemagne, *S. milleri* a été le germe le plus fréquent dans une étude chez des hommes de 32 à 41 ans pour chercher les bactéries responsables de pneumonie (54).

En 2002 au Japon, *S. milleri* a été responsable de nombreuses infections pulmonaires (18). Des cas d'endocardite dus à *S. milleri* ont été signalés en Belgique en 2000 (34).

VI-4- STREPTOCOCCUS CRISTA

Elle a représenté 25 % des souches isolées. Elle est le plus souvent responsable d'infections pulmonaires longues ; Cette espèce a fait l'objet de peu d'études.

VI-5- STREPTOCOCCUS MUTANS

Elle a représenté 3,6 % des streptocoques oraux isolées. En 2001, à Taiwan, *S. mutans* a été l'espèce la plus retrouvée dans les caries dentaires qui dans la plupart des cas se compliquent en endocardite (7). Une étude similaire a été faite aux Etats-Unis en 1993 (52). En 2001, une équipe brésilienne a confirmé les résultats obtenus par les américains (56). En 1993 en Finlande, *S. mutans* a été isolé dans de nombreux cas de caries dentaires qui à la longue peut entraîner une cardiopathie mortelle (37).

VII-PROFILS DE SENSIBILITE DES SOUCHES

VII-1- PROFIL GENERAL DE SENSIBILITE DES STREPTOCOQUES

DEFICIENTS

VII-1-1- QUINOLONES

La sensibilité à la ciprofloxacine a été bonne (96,4 %). Aucune résistance n'a été observée. Des résultats approximativement semblables ont été obtenus aux USA et en France avec un pourcentage de 90 % d'activité de la ciprofloxacine (13, 1). Par contre une forte résistance à l'acide nalidixique et à la péfloxacinine a été notée.

VII-1-2- LES AMINOSIDES

La sensibilité face à l'amikacine (52,4 %) a été moyenne. Celle de la streptomycine a été assez bonne (76,5 %). Aucune résistance n'a été notée.

Des études in vitro chez le rat en 1983 ont montré que la streptomycine pouvait être utilisée en association avec la pénicilline pour prévenir les endocardites infectieuses (21).

VII-1-3-LES GLYCOPEPTIDES

La vancomycine a présenté une bonne sensibilité (100 %). De même qu'à Taiwan, en 1998, l'efficacité de la vancomycine a été montrée (55).

VII-1-4- LES MACROLIDES

La sensibilité à l'érythromycine des streptocoques a été moyennement bonne. Une étude faite au Japon en 2000 a montré que les macrolides en général ont été sensibles aux streptocoques oraux avec une résistance de 17 % à l'érythromycine (57).

Par ailleurs, a été signalée au Canada une résistance de 29 % ; il en est de même en Espagne en 1999 (45) et à Taiwan en 1998.

L'érythromycine s'est montrée efficace pour le traitement de l'endocardite (46). Son efficacité a été démontrée chez le rat au Canada, en 2000 (46).

VII-1-5- LES BETA-LACTAMINES

La sensibilité à l'amoxicilline a été bonne (84,6 %) avec une résistance de 15,4 %. L'amoxicilline s'est montrée efficace dans le traitement de l'endoacardite sur une étude faite chez le rat en 1994 (17) et aux USA en 1997 (55).

La sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique a été de 73,1 %, avec une résistance de 7,7 %.

Une très grande résistance a été notée avec la pénicilline G (50 %). Un résultat similaire a été obtenu aux USA en 1996 (12).

Les streptocoques déficients se sont montrés résistants face à la pénicilline G dans le traitement des pharyngites avec une résistance de 28,5 % (23).

Lors d'une très forte résistance à la pénicilline G, l'imipénème peut être utilisé. Il s'est avéré très efficace dans ces cas ; ceci a été démontré par une étude à Taiwan en 1998 (55).

VII-1-6- LINCOSAMIDES

La clindamycine a été active à 100 % sur les souches. Des cas de résistance ont été remarqués en Espagne, en 2001, avec 49,8 % (42) et 7,5 % en Grèce chez l'enfant (23).

La clindamycine a été testée in vitro chez le rat pour la prévention de l'endocardite aux USA (46), ce qui a donné d'excellents résultats. Son activité s'est montrée plus forte que celle de l'érythromycine.

VII-1-7- DIVERS

La sensibilité à la rifampicine a été moyenne (59,3 %). Une étude faite en Grèce en 2001 dans le traitement de la pharyngite a montré qu'elle pouvait être efficace contre cette affection (26).

VII-2-PROFIL DE SENSIBILITE DES ESPECES DE STREPTOCOQUES DEFICIENTS

VII-2-1- STREPTOCOCCUS MITIS

L'activité de la ciprofloxacine sur *S. mitis* a été active à 100 %. L'érythromycine a été moyennement active (sur 54,5 % des souches).

L'activité de ces deux premiers antibiotiques a été étudiée sur 14 souches de *S. mitis* par Tsuneko Ono et ont été obtenus 3 souches résistantes à la ciprofloxacine et 7 souches à l'érythromycine (57).

La pénicilline G a présenté une résistance de 33,3 % et elle est active sur 33,4 % des souches de *S. mitis*. Son activité a été étudiée en Allemagne en 1993 et a montré une résistance de *S. mitis* (28).

VII-2-2- STREPTOCOCCUS MILLERI

Une résistance élevée a été notée avec l'amoxicilline (66, 7 %) et avec l'association amoxicilline-acide clavulanique aussi (66, 7 %) alors que le contraire s'est produit aux USA sur ces molécules de bêta-lactamines (27).

S. milleri a été sensible à 100 % à la clindamycine alors que 6 sur 44 souches ont été résistantes en 2000 sur une étude américaine (27) tandis qu'en Espagne , 16,6 % de résistance avaient été relevées en 1999 (34).

L'érythromycine n'a été active que sur 33, 3 % des souches mais a présenté une sensibilité intermédiaire de 66,7 % alors que la résistance n'a été que de 17,1 %.

La vancomycine a été active avec un pourcentage 100 %. La bonne efficacité a été retrouvée par une étude espagnole en 1999 (31).

VII-2-3- STREPTOCOCCUS SANGUIS

Nos souches ont été sensibles à l'amoxicilline et à la vancomycine à 100 %.

En 1981, une étude effectuée sur le traitement de l'endocardite par la vancomycine a constaté que celle-ci diminuait l'adhésion de *S. sanguis* (3).

En 1992, des expériences sur le rat pour le traitement des endocardites infectieuses ont soulevé une résistance à l'amoxicilline (32).

Plusieurs études réalisées sur la sensibilité à la pénicilline G dans le traitement de l'endocardite ont montré une résistance élevée de la pénicilline G (8). Face à cette dernière, l'imipénème s'était avéré comme étant la molécule de choix du traitement de l'endocardite en cas de résistance à la pénicilline G (35).

VII-2-4- STREPTOCOCCUS MUTANS

Une seule souche de *S. mutans* a été isolée et il nous a été difficile de tirer des conclusions concernant sa sensibilité.

VII-2-5- STREPTOCOCCUS CRISTA

La ciprofloxacine a été active sur cette espèce alors que l'acide nalidixique n'a eu aucune activité sur les souches étudiées.

Les quinolones pourraient être utilisées dans le traitement des infections pulmonaires.

Aucune résistance n'a été observée avec les macrolides. L'érythromycine a agi sur 57,1 % des souches.

La sensibilité aux glycopeptides a été modérée, avec une résistance de 42,8 % des souches.

Les lincosamides ont été actives sur toutes les souches de *S. crista*.

Nous avons noté que très peu de travaux ont été effectués sur cette espèce.

CONCLUSION

Souvent producteurs de dextranes, certaines espèces (*S. mutans*) de streptocoques déficients participent activement à la formation de la plaque dentaire et son cause de caries. Passant dans la circulation sanguine, ils sont à l'origine de nombreuses endocardites pouvant se compliquer de méningite en particulier. Ils sont aussi responsables de certaines infections respiratoires.

L'objectif de notre travail a été d'isoler ces espèces, de les identifier et d'étudier leur sensibilité.

Le recrutement clinique des patients a été effectué dans diverses structures :

- HEAR
- HALD (Service de pédiatrie et de médecine interne)
- Cabinets médicaux privés et de médecine du travail

Sur un total de 28 souches isolées, ont été dénombrées :

- 39,3 % de *S. mitis*
- 25 % de *S. crista*
- 21,4 % de *S. sanguis*
- 10,7 % de *S. milleri*
- 3,6 % de *S. mutans*

L'identification de ces streptocoque a été rendue facile avec des plaques de Micro CSB Streptocoque qui sont basées sur des tests biochimiques.

La sensibilité a été étudiée avec deux méthodes :

- la méthode des disques utilisée en routine
- et la méthode E-test, fiable, précise, d'utilisation aisée, permettant d'obtenir la valeur de la CMI par lecture directe en milieu gélosé. Son seul inconvénient est le coût des bandes.

Notre étude a montré une activité de 100 % de la clindamycine sur les souches de streptocoques déficients. Par ailleurs, aucune résistance n'a été observée avec la ciprofloxacine qui a été active sur 96,4 % des souches testées.

La vancomycine a présenté aussi une bonne activité avec 100 % de sensibilité.

La ciprofloxacine, la clindamycine et la vancomycine sont utilisées dans le traitement des infections dues aux streptocoques déficients.

Une résistance élevée des souches a été observée avec la pénicilline G. Elle peut être utilisée seule dans le traitement des endocardites infectieuses à germe sensible ou en association avec les glycopeptides (vancomycine). En cas de résistance avec la pénicilline G, l'imipénème peut être utilisé ou les céphalosporines qui ont présenté une bonne activité. Les bêta-lactamines en général ont été efficaces ; ainsi l'amoxicilline a été active sur 84,6 % des souches et l'association amoxicilline-acide clavulanique sur 73,1 % de celles-ci.

Les macrolides (érythromycine et spiramycine) ont présenté une activité moyenne avec des résistances importantes surtout avec la spiramycine.

Avec les aminosides, une résistance assez élevée de 32,3 % pour la streptomycine a été notée.

Un traitement adéquat des infections cardio-vasculaires, ostéo-articulaires, respiratoires dues aux streptocoques déficients dépend d'une bonne détermination de la sensibilité aux antibiotiques de ces espèces. Un antibiogramme correct permet d'être à l'abri des échecs thérapeutiques dus aux rechutes ou aux phénomènes de résistance.

Afin d'éviter une endocardite à streptocoques déficients, une prophylaxie par des antibiotiques est préconisée pour les personnes à risques (avec des cardiopathies diverses ou sujets porteurs de prothèses valvulaires) au moment de décharge s bactériennes , surtout si elles sont intenses et prolongées.

Le choix de des antibiotiques est fonction de la sensibilité aux antibiotiques des germes présents au niveau de la porte d'entrée potentielle. La création d'un vaccin pour la prévention des endocardites est en cours et ce vaccin est testé chez le rat. Il est préparé à partir de la protéine FimA de *S. parasanguis* et il a entraîné chez le rat une protection contre les endocardites dues à *S. mitis*, *S. salivarius* et *S. mutans*.

Tout l'espoir d'une meilleure prophylaxie repose sur le vaccin.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Azavedo J.C.S, Trpeski T., Pon S., Porter S., Matsumura.
In vitro activities of fluoroquinolones against antibiotic-Resistant blood culture isolates of viridans group streptococci from across Canada.
Antimicrobial Agents and chemotherapy , September 1999, vol 43, n°9, p2299-2301.
- 2- Banks J., Poole S., Nair S.P., Lewthwaite J., Tabonal McNab R., Wilson M., Paul A., Henderson B.
Streptococcus sanguis secretes CD14-binding proteins that stimulate cytokine synthesis: a clue to the pathogenesis of infective (bacterial) endocarditis ?
Microb Pathog 2002, Mar; 32 (3):105-16.
- 3- Bernard J.P., Francioli P., Glauser M.P.
Vancomycin prophylaxis of experimental *S. sanguis*. Inhibition of bacterial adherence rather than bacterial killing.
J Clin Invest, 1981 oct; 68 (4): 1113-3.
- 4- Bisno A.L., Dismukes W.E., Durack D.T. et al.
Antimicrobial treatment of infective streptococci, enterococci and staphylococci.
Jama, 1989, 261, 1471-1477.
- 5- Bouvet A. et Acar J.F.
Isolement et études des streptocoques, cultivant en satellitisme. I . Mise en évidence au

cours de des endocardites bactériennes.

Inserm, 197, 65, 327-338.

6- Bouvet A., Cremeux A.C., Contrepois A., Vallois J., Lamesh C. Carbon C.

Comparaison of penicillin and vancomycine, individually and in combination with gentamicin and amikacin in the treatment of experimental endocarditis induced by nutritionally variant streptococci.

Antimicrob Agents Chemother, 1985, 28, 607-611.

7- Chioc J.S., Lee Y.Y., Huang P.T., Chen J.Y.

Identification of stress-response genes in *Streptococcus mutans* by differential display reverse transcription-PCR.

Infection and immunity, april 2001, vol 69, n°4, p2493-2501.

8- Chiu T., Baker J.J.

Lipoteichoic acid from *S. sanguis* is a natural glycosyl acceptor for glycosyl tranferases.

Arch pediatr, 1998, nov; 5 (11): 1216-20

9- Coykendall A.L.,

Classification and identification of the viridans streptococci.

Clin Microbiol Rev, 1989, 2: 315-328.

10- Coykendall A.L., Wesbecker P.M., Gustafson K.B.

Genetic similarities among four species of *Streptococcus* : *S. milleri*, *S. anginosus*, *S. constellatus*, and *S. intermedius*.

Int J Syst Bacteriol, 1987, 37: 222-228.

11- Dinubile M.J.

Treatment of endocarditis caused by relatively resistant nonenterococcal streptococci : is penicillin enough ?

Rev Infect Dis, 1990, 12 : 112-117.

12- Doern G.V., Ferrano M.J, Bruggemann A.B., Ruoff K.L.

Emergence of high rates of antimicrobial resistance among viridans group streptococci in the United States.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Apr 1996, 891-894, vol 40, n°4.

13- Entenza J.M., Caldelari I., Glauser M.P., Mouillon P.

Efficacy of levofloxacin in the treatment of experimental endocarditis caused by viridans group streptococci.

J Antimicrob Chemother, 1999 dec; 44 (6) : 775-86.

14- Escribano E., Linares J., Alcaido F. et al.

Increasing antimicrobial resistance among blood isolates of « viridans » streptococcus.

Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy.

Atlanta, 21-24 oct,1990, abstract 695.

15- Farber B.F., Eliopoulos G.M., Ward J.I., and al .

Susceptibility to beta-lactam antibiotics and comparison of penicillin binding protein patterns.

Antimicrob Agents Chemother, 1983, 24: 702-705.

16- Fiehn N.E., Gutscik E., Bangsberg J.M.

Current status of taxonomic groups of oral streptococci in endocarditis. Can virulence factors discriminate between endocarditis and non-endocarditis strains ?

Clin Microbiol Infect, feb 1999, 5 (2) : 73-77.

17- Fluckiger V., Moreillon P., Blaser J. and al.

Stimulation of amoxicillin pharmacokinetics in humans for the prevention of streptococcal endocarditis in rats.

Antimicrobial Agents Chemother, Dec 1994, 2846-2849, vol 38, n° 12.

18- Fujiki R., Kawayama T., Rikimaw.

A three year review of acute respiratory tract infections caused by *S. milleri* group.

Kansenshogaku, Zasshi, 2002 Mar; 76 (3) : 174- 9.

19- Gallis H.A.

Viridans and beta-hemolytic (non group A, B and D) streptococci

In G.L. Mandell, R.G. Douglas, J. E. Bennett (eds). Principles and practice of infectious diseases, 3rd ed.

Churchill, Livingstone, ed., New York, 1990, 1563-1572.

20- Handwerker S., Tomasz A.

Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria.

Rev Infect Dis, 1985, 7 : 368-386.

21- Hess J., Dankert J., Durack D.

Significance of penicillin tolerance in vivo: prevention experimental *S. sanguis* endocarditis.

J Antimicrob Chemother, 1983 Jun; 11 (6) : 555-64.

22- Horodniceanu T., Delbos F.

Les streptocoques non groupables dans les infections humaines : identification et sensibilité aux antibiotiques.

Ann Microbiol. (Inst Pasteur), 1982, 133 b :255-269.

23- Ionnidou S., Tassios P.T., Kotsoyili Tseleni A. and al.

Antibiotic resistance rates and macrolide resistance phenotypes of viridans group streptococci from the oropharynx of healthy greek children.

Int J Antimicrob Agents, 2001 Mar; 17 (3) :195-201.

24- Jill E., Clavridge III, and Danial M.

Previous studies of the antibiotic susceptibility of *S. milleri* group.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, May 2001, 1511-1514, vol 45, n°5.

25- Kaufhold A., Potgieter E.

Chromosomally mediated high level gentamicin resistance in *S. mitis*.

Antimicrob Agents Chemother, 1993 Dec; 37 (12) : 2740-2.

26- Kikuchi K., Enari T., Totsuka K. and al.

Comparison of phenotypic characteristics , DNA-DNA hybridization results, and results with a commercial rapid biochemical and enzymatic reaction system for identification of viridans group streptococci.

J Clin Microbiol, 05 1995, 1215-1222, vol33, n°5.

27- Leguen J., Brechot J.M., Varon E. and al.

Unusual cause of necrotized subacute pneumopathy.

Rev Pneumol Clin, 1998, Jul, 54 (3) : 161.

28- Le Minor L. et Veron M.

Bactériologie médicale

Orleans, Flammarion et Cie , editeurs, 1982, 529-547.

29- Le Pennec M.P., Lusina D., mathieu P. et coll.

Epidémiologie de la résistance aux aminosides des streptocoques du groupe D et des entérocoques.

Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse.

Paris, 6-7 Dec1990, Abstract 312p20.

30- Libertin C.R., Hermans P.E., Washington II.

A beta-hemolytic group F streptococcal bacteremia : a study and review of the literature.

Rev Infect Dis , 1985 ; 7 : 498-503.

31- Limia A. Jimenez M.L., Abarcon J. and al.

Five year analysis of antimicrobial susceptibility of the *S. milleri* group.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1999, Jun; 18 (6) : 440-4.

32- Longman L.P., Marsh P.D., Martin M.V.

Amoxicillin-resistant oral streptococci and experimental infective endocarditis in the rabbit.

J Antimicrob Chemother, 1992 sep; 30 (3) : 349-52.

33- Loza E., Martinez-Beltran J., Elia M. and al.

High incidence of penicillin resistance in viridans streptococci blood isolates: their susceptibility patterns .

Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy.

Atlanta, 21-24 Oct 1990, abstract 694.

34- Marchall L., Detollemaere M., De Baere H.J., and al.

A rare cause of pericarditis: successful treatment by pericardiocentesis combined with parenteral antibiotics.

Acta Clin Belg, 2000 Jul-Aug; 55 (4) : 222-4.

35- Martinez F., Martin-Luengo F., Garcia A., and al .

Treatment with imipénème of experimental endocarditis caused by penicillin-resistant *S. sanguis*.

J Antimicrob Chemother, 1994 Jun; 33 (6) : 1201-7.

36- Marolda A., Bertolini A., Marabelli P. and al.

Streptococcus mitis endocarditis description of a clinical case.

Minerva Med, 1991 Jul-Aug;; 82 (7-8) : 495-500.

37- Mattila K.J.

Dental infections as a risk factor for acute myocardial infarction.

Eur Heart J., 1993 Dec; 14 suppl K : 51-3.

38- Moudewhenou E. M.

Place des germes non exigeant et les bactéries anaérobies dans les infections respiratoires basses à Dakar.

Th Pharm, Dakar, 2000, n° 90.

39- Murray H.W., Gross K.C., Masur H. and al.

Serious infections caused by *Streptococcus milleri*.

Amer J Med, 1978, 64 : 759-764.

40- Parker M.T., Ball L.C.

Streptococci and aerococci associated with systemic infection in man .

J Med Microbiol, 1976, 9 : 275-302.

41- Perez-Trallero E. Vicente D., Montes M. and al.

High proportion of pharyngeal carriers of commensal streptococci resistant to erythromycin in Spanish adults.

Antimicrobial Chemother, 2001 Aug, 48 (2) : 225-9.

42- Porta G., Rodriguez-Carballero M., Gomez L. and al.

Thoracic infection caused by *S milleri*.

Eur Respir J, 1998 Aug; 12 (2) : 357-362.

43- Quinn J.P., Di Vincezo C.A., Luckes D.A. and al.

Serious infection due to penicillin-resistant strains of viridans streptococci with altered penicillin binding proteins.

J Infect Dis, 1988, 157 : 764-769.

44- Rodriguez Avial C., Garcia M.M , Rodriguez –Avial I., and al.

Phenotypes of macrolide, lincosamide and streptomycin resistant streptococci viridans isolated from blood.

Rev Esp Quimioter, 1999 Dec, 12 (4) : 346- 51.

45- Rosser S.J., Alfa L.M. and al.

E-test versus agar dilution for antimicrobial susceptibility testing of viridans group streptococci.

J Clin Microbiol, Jan 1999, 37 (1) : 26-30.

- 46- Rouse J.M., Steckelberg J.M., Brandt L.M. and al.
Efficacy of azithromycin or clarithromycin for prophylaxis of viridans streptococci experimental endocarditis.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 081997, 41 : 1673-1676.
- 47- Ruoff K.L.
Streptococcus anginosus (« Streptococcus milleri ») : the unrecognized pathogen.
Clin Microbiol Rev, 1998, 1, 102-108.
- 48- Saleh-Mighir A., Cremieux A.C., Vallois J.M. and al.
Efficacité de la lévofloxacin dans une endocardite expérimentale à streptocoque déficient.
Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse.
Paris, 6-7 Décembre 1990, abstract 82P5.
- 49- Scheld W.M., Sande M.A.
Endocarditis and intravascular infections : therapy for infective endocarditis .
In G.L. Mandell, R.G. Douglas, J.E. Bennett (eds), Principles and practice of infectious diseases , 3rd ed.
Churchill Livingstone, ed., New York, 1990, 686-689.
- 50- Schleifer K.H., Kilpper-Balz R.
Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci , enterococci and lactococci : a review .
System Appl Microbiol, 1987, 10, 1-19.
- 51- Shinonaga M., Yamamoto K., Matsubara H. and al.
Simultaneous mitral valve replacement and bypass grafting for mycotic aneurysm of the femoral artery during the active phase of infective endocarditis: a case report.
Ann thorac cardiovasc surg, 2001 Dec; 7 (6) : 381-3.
- 52- Smith A.J., Adams D.
The dental status and attitudes of patients at risk from infective endocarditis.
Br Dent J, 1993 Jan 23, 174 (2) :59-64.
- 53- Susan M., Poutaneu , 1,2, Joyce de Azavedo and al.
Molecular characterization of multidrug resistance in *S. mitis*.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, June 1999, 1505-1507, vol 43, n° 6.
- 54- Ten Hagen A.J., Van Der Werf T.S. and al.
Pleural empyema in mechanically ventilated patients with pneumonia.
Ned Tijdschr Geneeskde, 1999, Jan 30; 143 (5) : 255-9.
- 55- Teng L.J., Hsueh P.R., Chen Y.C. and al
Antimicrobial susceptibility of viridans group streptococci in Taiwan with an emphasis on the high rates of resistance to penicillin and macrolides in *Streptococcus oralis*.
J Antimicrob Chemother, 1998 Jun; 41 (6) 621-3.

- 56- Torres M.C., Ramas M.E., Coelho T.L. and al.
Streptococcus mutans and *Lactobacillus* sp level in cardiac children.
J Clin Pediatr Dent, 2001 Fall, 26 (1) : 103-9.
- 57- Tsuneko O., Sumiko S., Katsuhiko H. and al.
Susceptibilities of oral and nasal isolates of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus oralis* to macrolides and PCR detection of resistance genes.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy , April 2000, 1078-1080, vol 44, n° 4.
- 58- Van Der Auwera P.
Clinical significance of *S. milleri*.
Eur J Clin Microbiol, 1985, 4 : 386-390.
- 59- Wahl et Meyer P.
Les épreuves dites « biochimiques » pour l'identification des streptocoques.
Ann Inst Pasteur, 1956, 91, 147-164.
- 60- Whiley R.A., Brighton D.
Emended descriptions and recognition of *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus anginosus* as distinct species.
Bacteriol, 1991, 41 : 1-5.