

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**Université BLIDA 01
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie**



**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master
Option : Microbiologie**

Sous le thème

**Recherche et identification des streptocoques au niveau nasal chez
l'enfant**

Présenté par :
CHABANE fadia Khadidja
KERROUCHE nour el houda
LATRECH BOUTELDJA sabrina

Date de soutenance : 14/09/2022

Devant le jury composé de :

Pr HAMAIDI .F	Professeur	USDB1	Présidente
Dr AIT SAADI . N	Maitre de conférence A	USDB1	Examinatrice
Dr ZEROUTI .K	Maitre de conférence B	USDB1	Promotrice

Promotion : 2021/2022

Remerciement

Nous remercions le bon dieu, tout puissant qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Nous remercions tout particulièrement, notre promotrice **Mme Dr ZEROUTI kh maitre** assistante A à USDB1, pour son aide précieuse, ses conseils, son aide à la rédaction et la mise en page de ce document scientifique.

Nos plus vifs remerciements vont aussi :

A professeur **HAMAIDI f** à l'université Blida 1, nous vous remercions de nous faire l'honneur de présider ce jury.

A madame **AIT SAADI** maitre conférence B à l'université Blida 1, pour avoir examiné ce travail avec attention et pour avoir participé par ces intéressantes remarques à améliorer ces manuscrits.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leur compétence nous ont aidés dans la poursuite de nos études

Nous n'oublions pas surtout le personnel de l'université blida 1 et de l'administration du département de biologie

Nous remercions très chaleureusement, le chef de service de laboratoire **EPH FAUBOURG BLIDA**, monsieur **BENSEFRAR M**, pour leur accueil, leur aide, leur attention et leur gentillesse tout au long de notre stage

Nous remercions aussi la cheffe de service pédiatrie **CHU BEN BOULAIID BLIDA, Pr KEDJI LEILA**, qui nous a donné l'accord pour rentrer dans le service pédiatrie pour les prélèvements

Nous remercions madame **AMINA** directrice de l'école privée, pour leur accueil chaleureux

Nous remercions aussi médecin cheffe **Dr maheiddine** qui nous a donné l'accès aux consultations des enfants

Nous remercions également tous les membres du laboratoire de bactériologie **EPH BOUFARIK** pour l'accueil, l'aide et leur soutien durant la période de stage

Nous n'oublions pas nos parents pour leur contribution, leur soutien, et leur patience

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches, amis et tous ceux qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire

Merci à tous et à toutes

Dédicace

Louage à dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

Je dédie ce mémoire à :

Ma chère mère

Mon cher père

Qui ne m'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

Qu'Allah puisse vous vous accorder encore santé bonheur et longue vie

Je ne pourrais jamais vous remercier assez

A mon grand frère MOHAMED CHERIF

Qui m'avait toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études

A mon adorable petite sœur DJAOUIDA et mon cher petit frère HASSEN

Qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille

À ma grand-mère NADJIA

La personne la plus idéal de ce monde, que dieu la protège et leur procurer la santé et la longue vie

À ma tante MERIEM

Toi qui nous as toujours soutenu, qui nous a toujours aimé

J'ai vécu tant année avec toi, ces années étaient les plus belles de ma vie

Mais à présent, tu n'es plus là, tu es parti en laissant beaucoup de monde derrière toi.

Tu nous as quitté si vite

Rejoint tes parents et soit heureuse Aamto

Nous sommes tous tristes de te voir partir si rapidement loin de nous, mais maintenant tu ne souffres plus.

QUE TON AME REPOSE EN PAIX

À mes chères amies, mes adorables partenaires de ce travail NOUR EL HOUDA et SABRINA

Merci pour toutes ces années d'amitié sincère, les moments passés à vos côté, et pour tous les souvenirs partagés avec vous

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon amour pour vous

Puisse dieu maintenir notre amitié solide et durable

JE VOUS ADORE

A mon oncle MEBROUK

La réalisation de ce mémoire à été possible grâce au concours de mon oncle, à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude

Merci khalo d'être toujours là pour toute motivation et encouragement

Merci khalo d'être toujours là pour toute motivation et encouragement

À GHANIA, AMO KAMEL, TATA WACI, LINA, ASSIA et A tous mes oncles et leur époux, à mes cousines et cousins

Il me serait difficile de vous citer tous, je vous Didier ce travail en témoignage de ma grande estime et mes sentiments les plus chaleureux

Aucun langage ne peut exprimer mon respect et ma considération pour votre encouragement permanent et votre soutien moral

Puisse dieu vous protégé de tout mal et vous accorder une longue vie

merci à tous

FADIA KHADIDJA

Je dédie ce travail

A mes chers parent, mon père ALI et ma mère MLIKA, Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Tu seras et resteras pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Mercie pour leur soutien, leur patience et leur encouragement durant tout année d'étude. Aucun terme et aucune langue ne pour exprimer notre amour et sentiments envers vous.

Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

A mes frères MOHAMED et HANI et mes sœurs YASMINA et AMIRA, pour votre amour et leur encouragement, qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.

A tout ma famille et sur tout mes oncle SAMIR et NACER et ma tant KHADIDJA, qui m'avoir toujours supporté durant tout année d'étude, merci pour tout ce que tu m'as donné. Puisse Dieu, vous procure santé, bonheur et longue vie.

A ma copine OUIAME pour leur encouragement et pour leur soutien que tu m'as apporté, tu as été pour moi une sœur et une amie.

A tous les enseignants de puis tous mes années d'études.

A mes binômes, mes chers amis FADIA et NOUR EL HOUDA qui j'aime beaucoup, merci pour la patience et l'encouragement qui m'avoir toujours supporté pendant la réalisation de ce travaille et pendant tous les années qui passe ensemble, et puisse dieu t'accorder santé et longue vie.



A tout ma promotion, Ces 3 ans ont été riches en belles moment, je vous souhaite une vie pleine de sante et de bonheur.

Une dédicace très particulière à ma feu grand-mère SAFIA et ma feu grand père MOHEMED, que dieu lui fasse miséricorde et la mette en paix, ta place sera toujours dans mon cœur.

A tout personne qui m'a soutenu, encouragé et aidé.

Je dis Mercie

SABRINA



*Je dédie ce modeste travail à ceux que je ne pourrais jamais remercier assez, à mes chers parents, mon père **Ibrahim** et ma mère **Souad**, merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour moi jusqu'à cet instant merci pour leur soutien et leur amour infini ainsi pour tous les sacrifices.*

Que le bon dieu puisse vous préserver du tout mal et vous combler de santé et de bonheur et longue vie inchallah.

*A mes chères sœurs : **Amina, Ilham, Abir.***

*A mes chers frères : **Yasser, Hussam, Hudhayfah.***

Qu'Allah vous protège de tout mal, je vous aime très fort.

*A ma belle-famille et particulièrement mon cher marié « **Abdelhak** » merci infiniment pour leur amour.*

*A tout ma famille, mes grand-mère, mes tantes, mes oncles sur tout « **Khaled** », ainsi que mes cousines et cousines.*

Que dieu vous préserve santé et longue vie.

A mes aime et collègues sue tout ma belle copine ouiame, je vous aime énormément.

*Sans oublier mes chères binômes **Fadia** et **Sabrina** merci pour toutes ces années qu'on a passées ensemble en souvenir des moments merveilleux que nous avons passés et aux liens solides qui nous unissant. Un grand merci pour votre soutien, vos encouragements, votre aide pendant la réalisation de ce travail.*

A tous les enseignants de puis mes premières années d'études.

A tout qui me connaissent de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Je dis merci.

Houda....



Résumé

Les streptocoques comportent des espèces commensales mais parfois sont également responsables de diverses infections oto-rhino-laryngologiques, notamment chez l'enfant. Certaines espèces sont associées à des tableaux cliniques particuliers, tels que le *Streptococcus pyogenes* et l'angine, ainsi que le *Streptococcus pneumoniae* et la pneumopathie. L'objectif principale de ce travail est d'étudier le portage nasal des streptocoques chez les enfants, à côté de l'évaluation du profil de résistance des deux espèces les plus incriminées dans les infections des voies respiratoires supérieures, le *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus pneumoniae*.

Dans ce cadre, nous avons réalisé une étude prospective durant une période de 4 mois (d'avril 2022 jusqu'à juillet 2022) réalisée au niveau de service pédiatrie à l'hôpital BEN BOULALD -blida. Les cas étudiés inclus au total 60 prélèvements nasaux ; 30 échantillons provenant des enfants de consultation au service de pédiatrie pour des symptômes d'infections respiratoires (angine ou une pneumopathie), et 30 enfants asymptomatiques recrutés dans une école primaire.

Les résultats ont montré une fréquence importante d'angine chez la catégorie pédiatrique d'âge [2 -5] ans un taux de ,46 .6% du total des enfants symptomatiques. A l'opposé ,la fréquence des cas de pneumonies est plus faible et invariante dan le groupe des symptomatiques . En effet, 57% des enfants symptomatiques âgés de 2 à 13 ans portaient des espèces du genre streptococcus avec 12.5% taux de portage pour le *Streptococcus pyogenes* et 12.5 % pour le portage des *Streptococcus pneumoniae*. Toutefois, le taux du portage respectif des deux souches chez les enfants asymptomatiques a été de 53%, tous en révélant la présence des autres espèces commensales du genre *Streptococcus*. L'étude ne montre aucune résistance contre les antibiotiques , toutes les souches étudiées présentent une sensibilité vis-à-vis les antibiotiques testés .

Cette étude nous a permis de caractériser le portage des streptocoques au niveau nasal chez les enfants symptomatiques et asymptomatiques, d'une part, et de l'associer, de l'autre part aux souches de Streptococcus, tous en écartant l'origine virale de l'infection. Il serait donc intéressant de poursuivre l'étude sur un échantillon plus grand et de choisir la période hivernale où les infections virales favorisent la surinfection bactérienne.

Mots clés : Enfants, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, portage nasal, infection respiratoire, angine, pneumonie.

ملخص :

تشمل Les Streptocoque أنواعًا متعايشة ولكنها في بعض الأحيان مسؤولة أيضًا عن عدوى الأنف والأذن والحنجرة المختلفة، خاصة عند الأطفال. ترتبط بعض الأنواع بجدول اعراض خاص، مثل *Streptococcus pyogenes* والذبحة الصدرية، وكذلك *Streptococcus pneumoniae* والالتهاب الرئوي. الهدف الرئيسي من هذا العمل هو دراسة تواجد Les streptocoques في الاتف عند الأطفال، إلى جانب تقييم مقاومة النوعين الأكثر تعرضاً للعدوى في الجهاز التنفسي العلوي، *Streptococcus pyogenes* و

في هذا السياق، أجرينا دراسة استطلاعية خلال فترة 4 أشهر (من أبريل 2022 حتى يوليو 2022) على مستوى خدمة طب الأطفال في مستشفى بن بولعيد - البلدية. وشملت الحالات التي تمت دراستها 60 مسحة أنف. 30 عينة من الأطفال الذين تم إدخالهم إلى قسم طب الأطفال بسبب أعراض التهابات الجهاز التنفسي (الذبحة الصدرية أو الالتهاب الرئوي)، و30 طفلاً بدون أعراض تم اختيارهم من مدرسة ابتدائية خاصة.

أظهرت النتائج تردد عالي للذبحة الصدرية في الفئة العمرية للأطفال [2-5] سنوات بمعدل 46.6% من إجمالي الأطفال المصابين بأعراض، من ناحية أخرى تردد الالتهاب الرئوي ضعيف وغير متغير عند الأطفال المصابين. وبالفعل، فإن 57% من الأطفال المصابين بأعراض تتراوح أعمارهم بين 2 و13 عامًا يحملون أنواعًا من المكورات *Streptococcus* بنسبة نقل 12.5% *Streptococcus pyogenes* و12.5% للحمل *Streptococcus pneumoniae* ومع ذلك، فإن معدل نقل كلتا السلالتين في الأطفال الذين لا تظهر عليهم أعراض كان 53%. وكلها تكشف عن وجود أنواع متعايشة أخرى من نوع *Streptococcus*. أظهرت الدراسة عدم وجود مقاومة للمضادات الحيوية، حيث أظهرت جميع السلالات المدروسة حساسية تجاه المضادات الحيوية المختبرة.

سمحت لنا هذه الدراسة بتوصيف نقل streptococcus على مستوى الأنف لدى الأطفال الذين يعانون من الأعراض وغير المصحوبين بأعراض، من ناحية، وربطها، من ناحية أخرى، بسلالات streptococcus، كل ذلك عن طريق استبعاد الأصل الفيروسي للعدوى. لذلك سيكون من المثير للاهتمام مواصلة الدراسة على عينة أكبر واختيار فترة الشتاء التي تفضل فيها العدوى الفيروسية العدوى البكتيرية.

الكلمات المفتاحية: الأطفال، *Streptococcus pneumoniae*، *Streptococcus pyogenes*، حمل الأنف، التهابات الجهاز التنفسي، الذبحة الصدرية، الالتهاب الرئوي.

Abstract:

Streptococci include commensal species but sometimes are also responsible for various otolaryngologic infections, especially in children. Some species are associated with particular clinical pictures, such as *Streptococcus pyogenes* and angina, as well as *Streptococcus pneumoniae* and pneumonia. The main objective of this work is to study the nasal carriage of streptococci in children, alongside the evaluation of the resistance profile of the two species most incriminated in infections of the upper respiratory tract, *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*.

In this context, we carried out a prospective study during a period of 4 months (from April 2022 until July 2022) carried out at the level of the paediatric service at hospital BEN BOULALID –Blida–. The cases studied included a total of 60 nasal swabs; 30 samples from children admitted to the paediatric ward for symptoms of respiratory infections (angina or pneumonia), and 30 asymptomatic children recruited from a primary school.

The results showed a high frequency of angina in the paediatric age category [2 -5] years a rate of .46.6% of the total of symptomatic children. In contrast, the frequency of cases of pneumonia is low and invariant. Indeed, 57% of symptomatic children aged 2 to 13 years carried species of the genus *Streptococcus* with 12.5% carriage rate for *Streptococcus pyogenes* and 12.5% for carriage *Streptococcus pneumoniae*. However, the respective carriage rate of the two strains in asymptomatic children was 53%, all revealing the presence of other commensal species of the genus *Streptococcus*. The study shows no resistance against antibiotics, all the strains studied show sensitivity to the antibiotics tested.

This study allowed us to characterize the carriage of streptococci at the nasal level in symptomatic and asymptomatic children, on the one hand, and to associate it, on the other hand, with strains of *Streptococcus*, all by ruling out the viral origin of the infection. It would therefore be interesting to continue the study on a larger sample and to choose the winter period when viral infections favour bacterial superinfection.

Keywords: Children, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, nasal carriage, respiratory infection, angina, pneumonia.

Liste des abréviations

ADH : d'hormone antidiurétique.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AMP : Ampicilline.

API : analytique profile index.

ARNr16s : Acide ribonucléique Ribosomal.

BHIB : Bouillon cœur-cervelle.

β-GAL : β galactosidase.

β-GUR : β glucuromidose.

C : chloramphénicol.

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

CBPA : choline-binding protein A.

CHU : centre Hospitalo-universitaire.

CIP : ciprofloxacine.

CM : clindamycine.

CMI : concentration minimales inhibitrice.

CNR : centre national de référence.

DO : Doxycycline.

E : érythromycine.

EMC : L'enseignement moral et civique.

EPH : établissement public Hospitalier.

GN : Gélose nutritif.

GSF : Gélose au sang frais.

GSU : Gélose au sang cuit .

H2O : peroxyde d'hydrogène.

LAP : L-Leucine-amino peptidase.

LE : Levoflamicine.

Liste des abréviations

LTA : lettre de transport aérien.

LYTA : Autolysine A.

NA : acide nalidixique.

OMS : organisation mondiale de santé.

OXA : oxacilline.

P : pénicilline.

PAL : alcaline phosphatase.

PLP : protéines de liaison aux pénicillines.

PSDP : pneumocoque de sensibilité diminuée à pénicilline

RA : rifampicine.

SBGA : les streptocoques beta- hémolytique du groupe A.

SGA : Streptocoques du groupe A.

SLO : streptolysines O.

SLS : streptolysines S.

TDR : Tests diagnostiques rapides.

TEI : Teicoplanine.

VA : vancomycine.

VP : voges-proskauer.

VRS : voies respiratoires supérieures.

β-GAL : β galactosidase.

β-GUR : β glucuromidose.

Psp :proteine de surface pneumococcale

Liste des tableaux

Tableau I. Phyla, Famille, genre ou espèce bactériennes les plus fréquemment décrits dans les voies aériennes supérieures et inférieures.	6
Tableau II. Principales caractéristiques des streptocoques	9
Tableau III. Types d'hémolyse chez les streptocoques	10
Tableau IV. Description des groupes étudiées selon les caractères démographiques.....	28
Tableau V. les fréquences relatives pour chaque espèce chez les deux groupes de population	39
Tableau VI. Résultat de l'antibiogramme pour streptococcus pyogenes prélèvement 04	40
Tableau VII. Résultat de l'antibiogramme pour Streptococcus pyogenes prélèvement 28	40
Tableau VIII. Résultat de l'antibiogramme pour Streptococcus pneumoniae prélèvement 25	40
Tableau IX. Résultat de l'antibiogramme pour Streptococcus pneumoniae prélèvement 26 ..	41

Liste des figures

Figure 1. Anatomie des voies aériennes supérieures.....	4
Figure 2. Représentation schématique de l'abondance et de la diversité estimée des microbiotes des voies aériennes supérieures et inférieures en situations physiologiques et pathologiques	5
Figure 3. principaux enzymes secrétés par les SGA et les plus importantes toxines impliquées dans la pathogénicité et montrant les trois mécanismes majeurs l'adhésion , la diffusion tissulaires , et l'échappement au système immunitaire	13
Figure 4. Représentation schématique des principaux facteurs de virulence du pneumocoque	15
Figure 5. schéma récapitulatif de l'identification des espèces du genre streptococcus.	19
Figure 6. Préparation des lames pour l'état frais et l'état coloré (photo originale)	21
Figure 7. Photo représentant les milieux de conservation pour les cultures positives des streptocoques.(originale).....	23
Figure 8. Photo originale lors de la préparation des galeries pour l'identification.	25
Figure 9. Répartition selon d'âge pour les symptomatiques	29
Figure 10. Répartition selon d'âge pour les asymptomatiques	30
Figure 11. Répartition des cas d'angines et pneumonies chez les symptomatiques	30
Figure 12. Répartition des cas d'angine selon d'âge et le sexe chez les enfants symptomatiques.....	31
Figure 13. Fréquence de positivité des cultures pour le groupe symptomatiques.....	31
Figure 14. Fréquence de positivité des cultures pour le groupe asymptomatique	32
Figure 15. Fréquence de positivité selon les tranches d'âge des symptomatiques.....	33
Figure 16. fréquence de positivité selon les tranches d'âge des asymptomatiques.....	34
Figure 17. L'aspect des colonies bêta hémolytiques sur milieu GSF et GSC.....	35
Figure 18. L'aspect des colonies alpha hémolytique sur GSC.....	35
Figure 19. L'aspect des colonies gamma hémolytiques sur GSF	35
Figure 20. L'aspect des colonies des Enterococcus	36
Figure 21. Photo représentant des Cocci en courtes chainettes sous microscope. Gx400	36
Figure 22. Photo originale présentant des espèces de genres streptocoques au microscope après coloration de gram. Gx400.	37
Figure 23. Résultat négatif de l'oxydase chez les cultures des streptocoques	37
Figure 24. Résultat négatif de catalase chez les streptocoques et positif chez les staphylocoques	37

Table De Matières

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Table De Matières	
Introduction	1
CHAPITRE I	
Synthèse bibliographique	
I. Synthèse bibliographique.....	4
I.1. Voies aériennes supérieures et microflore.....	4
I.1.1. Microflore commensale.....	4
I.2. Généralités sur Streptocoques.....	7
I.2. 1. Caractéristiques	8
I.2. 2. Classification	8
I. 3. Infections streptococciques de voies aériennes.....	11
I. 3. 1. Infections streptococciques non invasives à Streptococcus pyogenes	11
I. 3. 2. Infection invasive à Streptococcus pneumoniae	13
CHAPITRE II	
Matériel et méthodes	
II. Matériel et méthodes.....	17
II.1. Matériel.....	17
II.1.1. Matériel biologique	17
II.1.2. Matériel non biologique	17
II.2. Méthodes	18
II. 2. 1. Écouvillonnage.....	18
II.2.2. Isolement.....	18
II.2.2. Examen macroscopique	20
II.2.3. Examen microscopique	20
II.2.4. Identification bactérienne.....	21
II.2.4.1. Étude de métabolisme respiratoire	22
II.2.4.2. Étude des réactions cataboliques.....	23

Table De Matières

II.2.5. Étude du profil de sensibilité aux antibiotiques	25
CHAPITRE II	
Résultats et discussion	
III. Résultats et discussion.....	28
III. 1 Description des groupes étudiés selon les caractères démographiques.....	28
III. 1 .1 la répartition selon d'âge	29
III 1.2. Répartition selon les cas pathologiques	30
III. 1.3. Répartition selon la positivité des cultures	31
III. 1.4. Répartition de positivité selon les tranches d'âge.....	32
III. 2. Identification des streptocoques	34
III. 2. 1. identification Macroscopique	34
III. 2. 2. identification Microscopique	36
III.2.3 identification biochimiques (GALERIE API 20 STREP)	38
III.3. Profil de résistance aux antibiotiques.....	40
Conclusion et perspectives	43
Références Bibliographiques.....	45
ANEXXE	

Introduction

Introduction

L'appareil respiratoire peut faire l'objet des maladies, parfois une simple allergie peut s'aggraver à un asthme chronique, bronchite ou même un cancer (**El Hilah et al., 2015**). Les problèmes de santé liées au système respiratoire sont très importants de point de vue socio-économique (**Taytard et al., 2001**). En 2008, les décès causés par des infections, des tumeurs et des maladies dans le monde entier. Les maladies respiratoires représentent 15% du total du décès (**World Health Organization, 2008**)

Les voies respiratoires aériennes supérieures et inférieures sont étroitement liées d'un point de vue anatomique, histologique et immunologique. En raison de sa position à l'entrée des voies respiratoires, le nez participe au maintien de l'homéostasie des voies respiratoires inférieures par différents moyens alertant l'individu de la qualité et composition de l'air inspiré, ainsi que dans des conditions pathologiques, une forte relation existait entre la microflore des voies respiratoires supérieures et inférieures (**Hox et al., 2019**).

Les infections des voies aériennes peuvent être de plusieurs origines, beaucoup de maladies sont fréquentes en médecine, telles que les rhinopharyngites, la grippe, et les bronchites. Ces pathologies respiratoires sont très fréquentes chez l'enfant, et dont l'origine virale est majoritaire. Néanmoins, l'origine bactérienne de ces infections est potentiellement décrite chez les enfants, essentiellement le cas de certaines angines à *Streptococcus pyogenes* et des pneumonies aiguës causées par *Streptococcus pneumoniae*. En effet, le genre du *Streptococcus* comportent des espèces commensales habituelles au niveau nasal / nasopharyngé de l'enfant dont la colonisation débute dès les premiers mois de vie (**Gaschignard et al., 2019**) Ce portage pourrait être la source d'une dissémination de *Streptococcus pneumoniae* entre différents hôtes et les premières étapes conduisant à une invasion pathologique (**Weizer et al., 2018**). D'un autre côté, les *Streptococcus pyogenes* sont responsables surtout des infections, localisées comme les angines (**Warren et al., 2018**).

L'objectif principal de ce travail est d'étudier le portage nasal des streptocoques chez les enfants, à côté de l'évaluation du profil de résistance des deux espèces les plus incriminées dans les infections des voies respiratoires supérieures, le *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus pneumoniae*. La prévalence du portage nasal a été étudiée chez deux groupes différents d'enfants dont la tranche d'âge est de [2-13] ans ; la première comporte ceux de consultation médicale au niveau de service pédiatrie, présentant des signes d'angines ou de pneumonies, et par conséquent le portage des Streptocoques dans ce cas pourrait être l'origine

Introduction

de ces pathologies. Alors que, le deuxième groupe est constitué des enfants sains asymptomatiques de l'école (la plupart sont de l'Age scolaire [5 –9] ans qui sert, d'une part, à identifier les souches commensales et de l'autre part de comparer la composition du microbiote nasal, en cas pathologique (symptomatique) et physiologique (asymptomatique).

Après identification des Streptocoques chez les deux groupes, le profil de résistance aux antibiotiques conventionnels a été déterminé pour les espèces *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus pneumoniae*, les deux espèces les plus incriminées dans les infections des voies respiratoires.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Synthèse bibliographique

I.1. Voies aériennes supérieures et microflores

Les voies respiratoires c'est l'ensemble qui présente une porte d'entrée de l'air pour aboutir aux poumons. L'arbre respiratoire est classiquement divisé en voies respiratoires supérieures et voies respiratoires inférieures. Leurs principaux rôles sont la ventilation pulmonaire, le conditionnement de l'air inspiré et, la défense face aux agressions extérieures (Christian, 1993).

Les voies respiratoires supérieures ont un rôle dans l'humidification et réchauffement du gaz inspiré, il s'agit des voies qui transportent l'air des narines à l'entrée des poumons (Bousquet et al., 1999). Elles comprennent : Les fausses nasales, la bouche, le pharynx et le larynx (Figure 1).

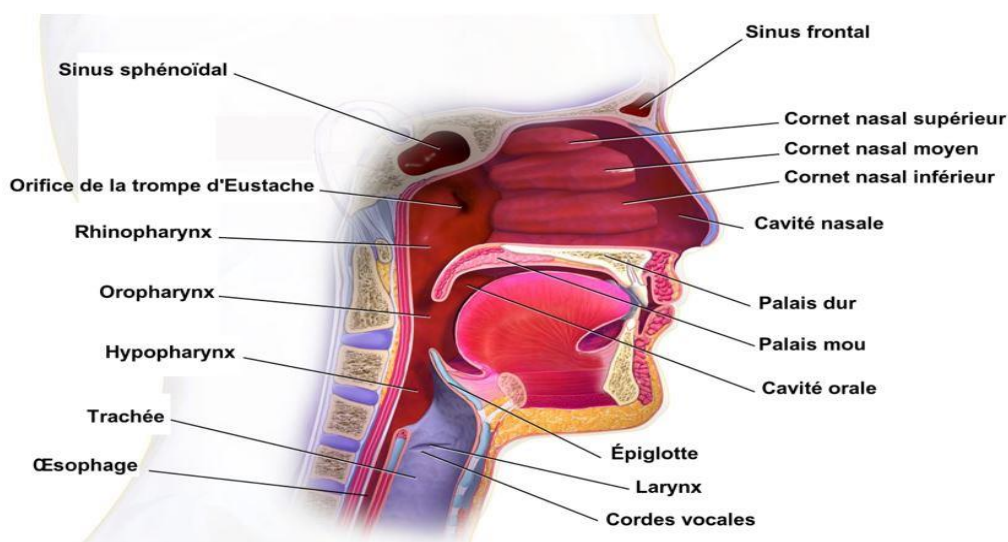


Figure 1. Anatomie des voies aériennes supérieures (Blausen, 2014)

I.1.1. Microflore commensale

Le microbiote est un assemblage de microbes (archées, bactéries, champignons, parasites et virus/phages), constituant une communauté microbienne et occupant un habitat spécifique (Michael et al., 2015). Chez l'homme, la flore microbienne est associée à différents tissus et muqueuses parmi lesquels : le tractus urinaire, le tractus gastro-intestinal, la cavité orale, la gorge, le nez, le pharynx, les yeux, l'appareil génital et la peau (Corthier et Doré, 2010).

En effet, le microbiote des voies respiratoires supérieures varie selon la localisation sur ces dernières. Chez les patients sains, la niche nasopharyngée est colonisée par un microbiote distinct de celui de l’oropharynx (**Figure 2**). Les phyla prédominants dans le nez sont les *Firmicutes* et les *Actinobacteria* incluant les familles *Staphylococcaceae*, *Propionibacteriaceae* et *Corynebacteriaceae* (**Tableau I**).

Au sein de l’oropharynx, les phyla prédominants sont les *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Bacteroidetes* (**Tableau I**). Ainsi, le nez et l’oropharynx présentent des microbiotes distincts, le premier ayant des similarités avec le microbiote cutané, le second rappelant d’avantage le microbiote digestif. Cependant, la région échantillonnée dans le nasopharynx peut influencer la composition du microbiote. Des communautés associées à l’oropharynx ont ainsi été identifiées dans des échantillons obtenus à partir d’une zone postérieure de la cavité nasale (**Bihan et al**., 2012).

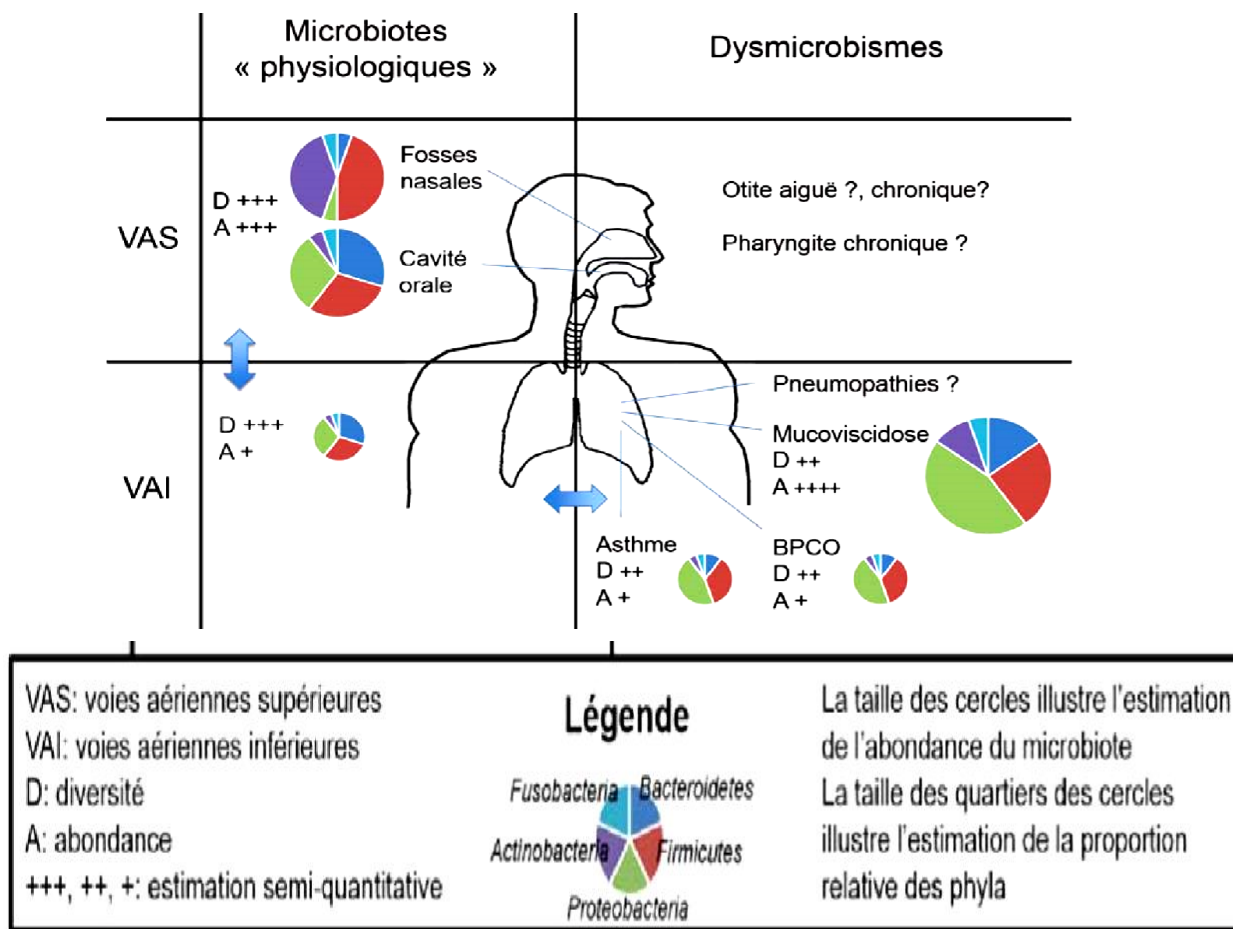


Figure 2. Représentation schématique de l’abondance et de la diversité estimée des microbiotes des voies aériennes supérieures et inférieures en situations physiologiques et pathologiques (**Michon et Marchandin , 2015**)

Tableau I. Phyla, Famille, genre ou espèce bactériennes les plus fréquemment décrits dans les voies aériennes supérieures et inférieures.

Phyla	Voies aériennes supérieures		Voies aériennes inférieures
	Fosses nasales	Cavité orale	
Bacteroidetes	Minoritaire	Bacteroidetes <u>Prevotellaceae</u> Prevotella Capnocytophaga	Bacteroidetes <u>Prevotellaceae</u> Prevotella Porphyromonas
Firmicutes	Firmicutes <u>Staphylococcaceae</u> S. aureus <u>Lachnospiraceae</u>	Firmicutes <u>Streptococcaceae</u> Streptococcus <u>Veillonellaceae</u> Veillonella <u>Acidaminococcaceae</u> <u>Lachnospiraceae</u>	Firmicutes <u>Streptococcaceae</u> Streptococcus <u>Veillonellaceae</u> Veillonella
Proteobacteria	Minoritaire	Proteobacteria <u>Neisseriaceae</u> Neisseria <u>Pasteurellaceae</u> <u>Campylobacteraceae</u> <u>Xanthomonadaceae</u>	Proteobacteria Neisseria Pseudomonas Haemophilus <u>Enterobacteriaceae</u>
Actinobacteria	Actinobacteria <u>Propionibacteriaceae</u> <u>Corynebacteriaceae</u>	Rothia Corynebacterium	Minoritaire
Fusobacteria	Minoritaire	Fusobacteria Minoritaire	Minoritaire Fusobacterium

Les phyla sont indiqués en gras et les familles sont soulignées.

(Michon et Marchandin , 2015)

Le microbiote des voies respiratoires supérieures contient de nombreux genres ou espèces dont certains sont des pathogènes opportunistes majeurs : *Staphylococcus aureus* (dont la niche préférentielle est représentée par les fosses nasales), *Streptococcus* dont le *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus*, *Neisseria* (éventuellement *Neisseria meningitidis* dont le portage est transitoire), *Moraxella catarrhalis*, ainsi que des corynébactéries, lactobacilles et également de nombreuses bactéries anaérobies.

On peut classer les différentes espèces de la flore rhinopharyngée en trois groupes (Barry et Dacré, 1995) :

- **Premier groupe** : des espèces constamment retrouvées mais qui sont exceptionnellement responsables des pathologies communautaires *Streptocoques (alpha hémolytiques) ou (non hémolytiques)*, *Corynebacterium sp*, *Staphylococcus epidermis*, *staphylococcus aureus*, *Haemophilus para-influenza*, *streptococcus viridans*.

Le rôle exact de ce microbiote reste méconnu, cependant plusieurs hypothèses sont proposées. Ces espèces peuvent s'opposer à la colonisation du rhinopharynx par des bactéries plus pathogènes et donc diminuer la fréquence des infections. Ces derniers pour s'implanter dans le rhinopharynx, doivent entrer en compétition avec les bactéries résidentes, notamment pour l'utilisation des nutriments. De plus, certaines de ces bactéries résidentes peuvent produire des bactériocines susceptibles d'inhiber la croissance d'autres bactéries.

- **Deuxième groupe** : bactéries rarement retrouvées en portage, mais parfois responsable d'infection communautaires *Streptococcus pyogenes*, et autres streptocoques (beta hémolytiques), *Haemophilus influenza*, *Neisseria meningitidis*.

- **Troisième groupe** : les espèces fréquemment isolées en portage et impliquées dans les principales infections bactériennes communautaires de l'enfant : *streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza*.

I.2. Généralités sur Streptocoques

C'est au 19^{-ème} siècle avec le développement de la microbiologie par Louis Pasteur et ROBERT KOCH que les streptocoques ont été isolés et étudiés de manière approfondie. En 1879 Pasteur identifia le microbe en « chapelet de grains ou en chainettes » le streptocoque à qui fut attribuées les fièvres puerpérales.

La famille des Streptococcaceae regroupe un ensemble de cocci à gram positif, se présentant sous forme de cellules ovoïdes ou sphériques de moins de 2 µm de diamètre. Ils sont dépourvus de catalase et de cytochrome oxydase. Ils produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose et sont anaérobies-aérotolérants. (Denis et al., 2011)

Grace aux données de taxonomie moléculaire, cette famille a été remaniée et comprend maintenant 160 espèces de streptocoque et germes apparentés qui sont regroupés en plus de 20 genres différents, (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *abiotrophia*, *aerococcus*, *leuconostoc*,

lactococcus , *gemella* , *vagococcus* , *helococcus* , etc..) L'absence de catalase et l'aspect caractéristique en paire diplocoques ou en chainettes lié aux divisions successives des cellules selon un même plan permettent de distinguer des streptococcaceae micrococcaceae. Un ensemble de caractères morphologique, culturels antigénique, biochimique et la sensibilité à l'antibiotique telle que vancomycine permettent de distingues assez facilement les streptocoques et les entérocoques des genres apparentés. (**Denis et al., 2011**).

La plupart des streptocoques sont des commensaux habituels des cavités naturelles ou des téguments. Cette flore commensale peut devenir pathogène dans certaines circonstances particulières et être responsable d'un grand nombre d'infection sévères. Parallèlement, les progrès de biologie moléculaire ont permis dès les années 1960 de comparer les bactéries, non par leur phénotype morphologique et biochimique, mais par leur ressemblance génotypique en particulier l'ARN ribosomal (ARN 16s) (**Jacque ,2004**)(**Fecklam , 2002**).

I.2. 1. Caractéristiques

Les principales caractéristiques des streptocoques, ainsi les conditions de culture sont résumées dans le **tableau II**.

I.2. 2. Classification

La classification des streptocoques repose sur des critères bactériologiques, en dehors des données récentes de taxonomie moléculaire, cette classification est basée sur trois caractères phénotypiques : (**Jacque, 2004**) la capacité d'hémolyse les globules rouges,

Tableau II. Principales caractéristiques des streptocoques

Morphologie	Cocci ovalaires ou sphériques de 0.6à 1µm en moyenne, isolés en diplocoques, chainettes ou des paires non sporulés
Coloration de Gram	Gram+
Capsule	Chez <i>streptocoque pneumoniae</i>
Mobilité	Immobilés en général
Type respiratoire	Anaérobies facultatifs
Catalase et cytochrome	Ils sont dépourvus de catalase et cytochrome
Condition de culture	*température optimale : 35à37c° *PH optimale : 7,2à7,4
Caractères spécifique et distinctifs	*test hémolyse sur gélose Columbia au sang *test bacitracine : sensible pour les streptocoques du groupe A *teste hippurate : +pour les streptocoques du groupe B *test à l'optochine : sensible pour streptococcus pneumoniae *test de lyse de la bile pour streptococcus pneumoniae
Milieux de culture	Milieu enrichis le plus souvent : gélose Columbia au sang, gélose soja au sang, gélose chocolat
Milieux d'isolement sélectifs	Gélose Columbia au sang
Identification biochimique	API 20 strep

(Denis et al., 2011)

les antigènes polysaccharidiques au niveau de la paroi bactérienne et les réactions biochimiques spécifiques

- **Hémolyse**

L'hémolyse autour des colonies de streptocoques sur gélose à 5% de sang (de mouton ou cheval) permet une orientation du diagnostic. L'aspect et la dimension de cette hémolyse dépendent de l'hémolysine élaborée par la souche. On distingue trois types d'hémolyse (Tableau III)

Tableau III. Types d'hémolyse chez les streptocoques

Type d'hémolyse	Observation
Hémolyse alpha	Hémolyse incomplète avec verdissement du milieu
Hémolyse beta	Hémolyse totale avec blanchiment du milieu autour de la colonie
Hémolyse gamma	Absence d'hémolyse

(Fecklam , 2002)

- **Classification de Lancefield**

La plupart des espèces de streptocoques, notamment les betas hémolytiques, possèdent au niveau de leur paroi. 20 groupes sérologiques sont identifiés par des lettres (de A à H) et de (K à W) antigènes à base polysaccharidiques, D et N (antigènes à base d'acides techniques)

Certains streptocoques ne possèdent ni polysaccharide ni acide téichoïque spécifique, ce sont des souche non hémolytiques ou alpha hémolytiques qui ne peuvent pas être classé par lance Field, elles sont identifiées par l'étude de leur caractères cultureux et métaboliques, ou de leur antigène de capsule. (Avril , 1992)

La classification de *Streptococcus pyogenes* selon le (Bergey's manuel, 2019) est la suivante :

Règne : *Bactreria*

Division : *Firmicutes*

Classe : Cocci

Ordre : *Lactobacillales*

Famille : *Streptococcaceae*

Genre : *Streptococcus*

Espèce : *Streptococcus Pyogenes*

La classification de *Streptococcus pneumoniae* selon le (**Bergey's manuel 2019**) est la suivante :

Règne : *Bactéria*

Division : *Firmicutes*

Classe : Cocci

Ordre : *Lactobacillales*

Famille : *Streptococcaceae*

Genre : *Streptococcus*

Espèce : *Streptococcus Pneumonie*

I. 3. Infections streptococciques de voies aériennes

Les infections des voies aériennes peuvent être de plusieurs d'origines, les maladies les plus fréquentes en médecine de ville telles que les rhinopharyngites, la grippe et les bronchites. D'autres pathologies impliquent des bactéries comme le cas de certaines angines ou le streptocoque est le premier pathogène microbien en cause *streptococcus pyogenes*. Les pneumonies aiguës causées par *streptococcus pneumoniae* (**maladies ORL**)

I. 3. 1. Infections streptococciques non invasives à *Streptococcus pyogenes*

• Angine

L'angine est une infection des amygdales palatines, voire de l'ensemble de pharynx. Elle constitue un syndrome associant gêne douloureuse à la déglutition et fièvre à des modifications de l'aspect de l'oropharynx. (**Wollner, 2014**)

Plusieurs aspects cliniques sont possibles : érythémateux, érythématopultacé, vésiculeux, pseudomembraneux.

• Physiopathologie

Trois mécanismes dont lesquelles cette bactérie peut causer la maladie :

- Inflammation pyogénique : Induite localement aux sites biologiques dans les tissus
- Produisant des toxines : cela peut provoquer des symptômes systémiques généralisés
- Immunologiques : formation des complexes immuns endommager les tissus normaux

• Facteurs de virulence liés au *Streptococcus pyogenes*

La protéine M

les protéines M déterminent le type de groupe hémolytique A. c'est le facteur de virulence le plus important de *Streptococcus pyogenes*.

Il inactive le C3b, un composant du complément qui opsonine les bactéries avant la phagocytose. Il existe 'environ 100 sérotype basé sur la protéine M, ce qui explique pourquoi de multiples infections à *Streptococcus pyogenes* se produisent. (Wollner, 2014)

Les glucides

ils déterminent le groupe des β -hémolytiques. Ils sont situés dans la paroi cellulaire et leur spécificité est déterminée par un sucre aminé (Warren et al., 2018)

Les SGA produisent quatre enzymes importantes liées à la pathogénicité : (Warren et al., 2018)

L'hyaluronidase

enzyme qui dégrade l'acide hyaluronique

Streptokinase : fibrinolysine

L'ADNase

dégrade l'ADN dans les exsudats ou tissus nécrotiques

L'enzyme qui dégrade les IgG

une protéase qui clive les chaînes lourdes des IgG, cela empêche l'opsonisation et l'expansion du complément.

De plus les SGA produisent cinq toxines et hémolysine : (Warren et al., 2018)

La toxine érythrogénique

provoque l'éruption de la scarlatine. Elle n'est produite que par certaines souches de *streptococcus pyogenes* lysogénisée par un bactériophage portant le gène de la toxine.

Streptolysine O

est une hémolyse inactivée par oxydation. Elle provoque une β -hémolyse lors de développement des colonies sur gélose au sang

Streptolysine S

hémolysine qui n'est pas inactivée par oxydation. Elle provoque la β hémolyse lorsque les colonies se développent à la surface d'une gélose a sang

Exotoxines

les SGA produisent de nombreux exotoxines , qui provoquent la destruction des cellules et tissu conjonctif et interfèrent avec la coagulation

L'exotoxine pyrogène A

supra-antigène qui ^provoque la libération de grandes quantités de cytokines par lymphocyte T auxiliaires et macrophages

L'exotoxine B

est une protéase qui détruit rapidement les tissus et est Produit en grande quantité par les souches de *Streptococcus pyogenes*

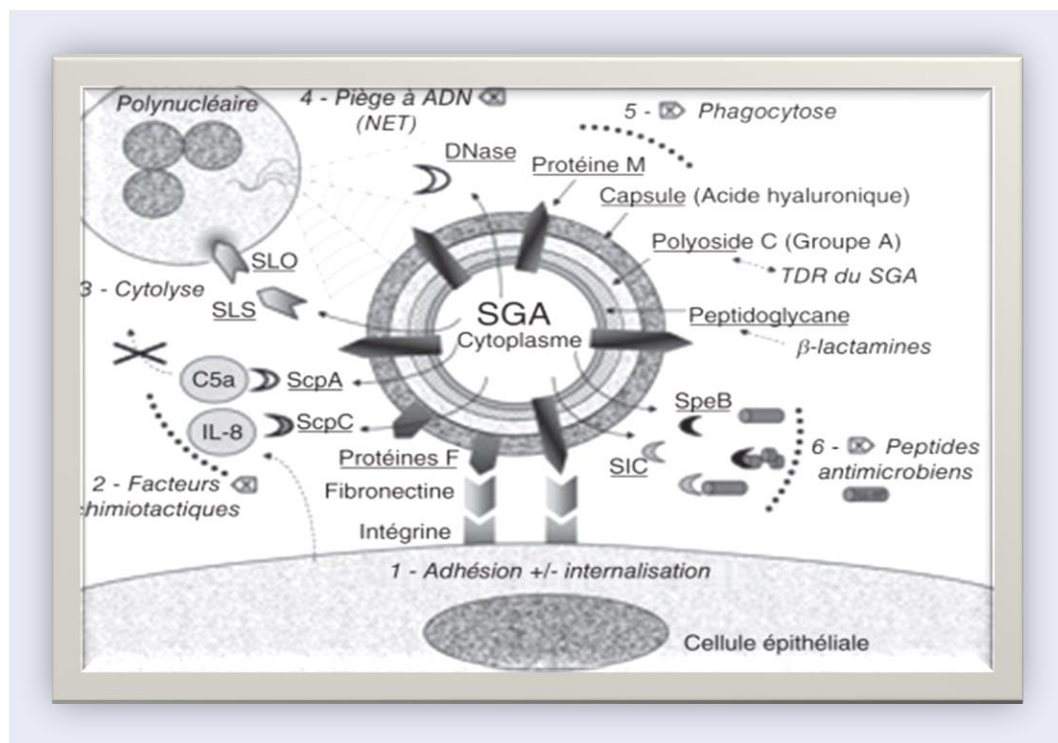


Figure 3. principaux enzymes secrétés par les SGA et les plus importantes toxines impliquées dans la pathogénicité et montrant les trois mécanismes majeurs l'adhésion , la diffusion tissulaires , et l'échappement au système immunitaire (**Gaschignard , 2019**)

I. 3. 2. Infection invasive à *Streptococcus pneumoniae*

• Pneumonie

Une infection aiguë du parenchyme pulmonaire. Elle est causée par une grande variété de micro-organisme, notamment des bactéries, des virus et des champignons . (**Charles et al .,2019**)

• Physiopathologie

Le pneumocoque est un micro-organisme non toxigène, invasif, à multiplication extracellulaire. Dans tous les processus infectieux, il va agir en deux étapes : l'adhésion et l'invasion. Les différentes adhésions sont situées dans la paroi. Le mécanisme principal d'échappement à la phagocytose est la production d'une capsule. Enfin, la lyse bactérienne

libéré ou active des composants bactériens comme la pneumolysine, qui vont entraîner une réaction inflammatoire parfois intense, qui participe aux lésions tissulaires et à la gravité des pathologies. (Brisou et al., 2004)

- **Facteurs de virulence liés au *Streptococcus pneumoniae***

Les facteurs majeurs de la virulence de *Streptococcus pneumoniae* sont la capsule bactérienne et la pneumolysine

Capsule

seules les souches capsulées possèdent un pouvoir pathogène expérimental. Ce complexe polysaccharidique forme un gel hydrophile à la surface de la bactérie. La capsule permet à la bactérie d'échapper au système immunitaire de l'hôte en résistant à la phagocytose en l'absence d'anticorps spécifiques, en diminuant l'opsonisation et l'activation de la voie alterne du complément. Le degré de virulence dépend de la quantité de capsule produite et de sa composition. (Brisou et al., 2004)

Pneumolysine

elle appartient à la famille des thiols activable. Intracytoplasmique, elle ne devient active qu'après libération dans le milieu extérieur par l'action d'une Autolysine. Elle possède une activité cytotoxique directe vis-à-vis des cellules respiratoires et endothéliales. Sa capacité de liaison au fragment Fc des immunoglobulines et de fixation au fragment C1q du complément est responsable d'un effet pro-inflammatoire. (Brisou et al., 2004)

D'autres facteurs impliqués dans la pathogénicité :

Autolysine (LytA) : Elle est impliquée dans la libération de la pneumolysine, les autres enzymes Lyt B, Lyt C, Lyt E seraient impliquées dans la colonisation et confèreraient à l'individu une immunité efficace, par opposition aux AC spécifiques des protéines de surface (Mark, 2001)

Pili

La présence de pili confère une série de propriétés à la bactérie : adhésion à cellules épithéliales orales, agglutination des globules rouges humaines et sécrétion de Cytokines pro-inflammatoires

(pneumococcal surface protein) PspA et PspC

les éléments de surface du pneumocoque . ils inhibent la voie alterne du complément , contribuent à l'activité antiphagocytaire . (Brisou et al ., 2004)

Neuraminidase

Aide à l'adhésion et à la colonisation des cellules épithéliales système respiratoire, formation de biofilm et diffusion bactérienne dans les tissus. (Paton et Ferrante ., 1993)

Hyaluronidase

facilite la migration des pneumocoques du site de colonisation vers le système vasculaire et participe au processus d'invasion de l'hôte et induit notamment la méningite (Paton et Ferrante ., 1993)

L'immunoglobuline A1

Les protéases IgA semblent être particulièrement Impliqué dans le portage oropharyngé et la colonisation des muqueuses (p. ex. rhumatisme articulaire aigu)(Lancet , 2009)

CbpA (Choline-binding protein)

Elle agit dans les derniers stades de la pathogenèse, entre colonisation et invasion. Elle active la production de cytokines et favorise la à travers les muqueuses

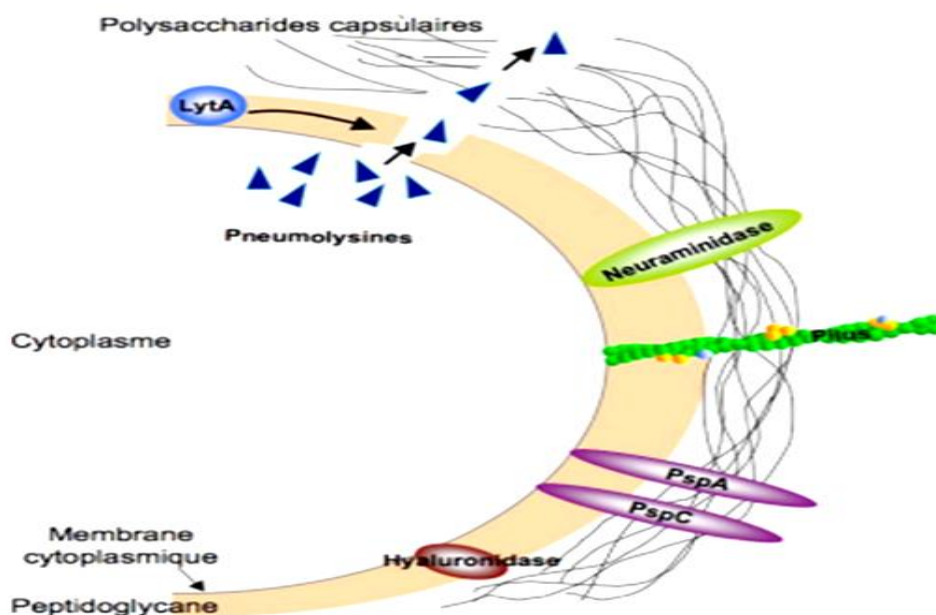


Figure 4. Représentation schématique des principaux facteurs de virulence du pneumocoque (Brisou P et al .,2004)

Chapitre II

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

Cette étude prospective rapporte l'évaluation de la fréquence du portage nasal des Streptocoques, chez les enfants qui présentent des symptômes d'angine ou/et de pneumonie (groupe symptomatique), comparativement aux enfants en bonne santé (asymptomatique). Les souches isolées sont identifiées et leur profil de résistance *vis-à-vis* de plusieurs familles d'antibiotiques est également évalués.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

• Prélèvements nasaux

L'étude a été réalisé au niveau du laboratoire central de l'hôpital Fabor blida, unité bactériologie, durant une période de 4 mois (avril 2022 à juillet 2022). Nous avons réalisé un total de 60 prélèvements nasaux, divisé en deux catégories :

- 30 prélèvements nasaux, réalisés au niveau de service de pédiatrie du l'hôpital Ben boulaïd, effectués sur une population exclusivement pédiatrique de 2ans à 13 ans, au cours des visites de consultation. Les enfants ont été soigneusement examinés par le médecin pédiatre du l'hôpital qui déclare le cas de malade que ce soit une angine ou pneumonie. Tout signe clinique autre que ces deux infections constituer un motif d'exclusion. Ces prélèvements forment le groupe nommé dans l'étude « groupe symptomatiques »
- 30 prélèvements nasaux provenant des enfants en bonne santé générale et respiratoire, recrutés au niveau d'une école primaire privée et après autorisation de la part de l'administration et les parents.

• Souches de références

Les souches ATCC de référence suivantes, ont été utilisées pour le contrôle des antibiotiques :

- *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619
- *Escherichia coli* ATCC25922

II.1.2. Matériel non biologique

Les différents milieux de culture et réactifs de bonne qualité, les divers appareils, équipement, verreries et les galeries d'identification utilisées durant ce travail sont résumé dans la partie (**Annexe II**)

II.2. Méthodes

La démarche d'isolement et d'identification des streptocoques est mentionnée dans la **figure 5**

II. 2. 1. Écouvillonnage

Tous les prélèvements nasaux ont été effectués après la demande de la permission des parents et des administrations responsables. Le prélèvement nasal est réalisé grâce à un écouvillonnage du nez en utilisant un écouvillon stérile. Les prélèvements ont été rapidement transportés vers le laboratoire et dans un bouillon nutritif BHIB à température de 4°C. Le recueil et le transport ont été soumis à des règles strictes d'asepsie afin d'éviter toute sorte de contamination. Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement clinique spécifique de chaque enfant (**Annexe I**).

II.2.2. Isolement

La mise en culture de chaque prélèvement a été réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie. Un volume de 0.5 ml de bouillon d'enrichissement (BHIB) est additionné rapidement aux prélèvements, et après une bonne agitation, le prélèvement est ensemencé, selon la technique de quatre quadrants, sur milieu Columbia, GN et GSF.

Le contenu de l'écouvillon est déchargé en une strie dans un quart de la boîte qui constituera le premier quadrant, et à l'aide d'une pipette pasteur les autres quadrants de la boîte sont ensemencés. La boîte est ensuite incubée à 37°C et 5% CO₂ pendant 18 à 24 h, afin d'isoler les streptocoques.

La culture est l'examen de référence pour le diagnostic. Elle permet d'affirmer le diagnostic, identifier l'agent étiologique et étudier la sensibilité aux antibiotiques.

Elle est effectuée sur les milieux gélosés suivants :

Gélose au sang frais : un milieu d'enrichissement (gélose nutritive ou gélose Columbia) contenant 5-10% de sang.

- **Gélose au sang cuit** : un milieu d'enrichissement contenant une gélose au sang chauffée à 70-80°C jusqu'à l'apparition d'une coloration brun chocolat

- **Gélose nutritive** : l'identification des différents types d'agents infectieux (bactéries, levures...)

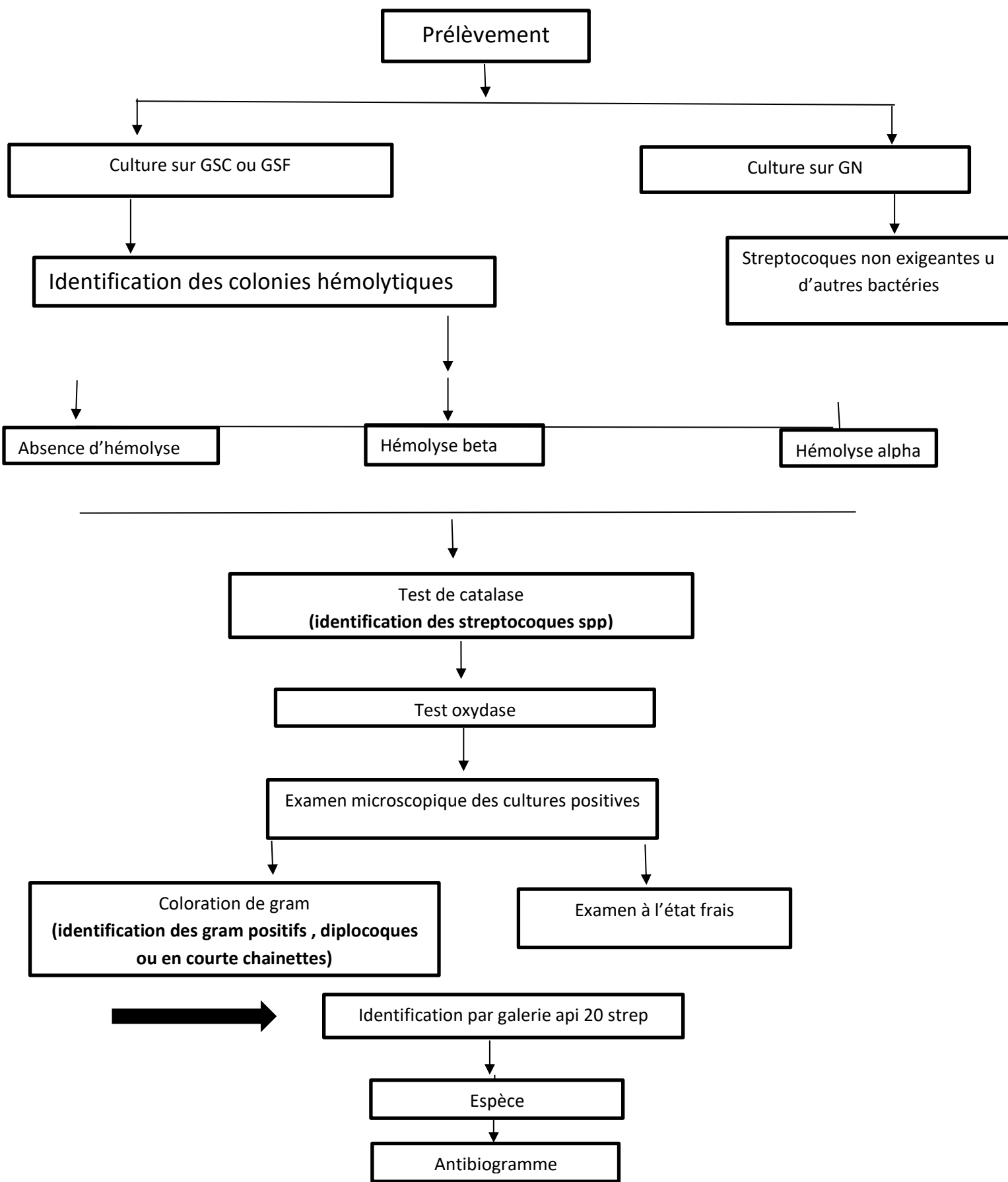


Figure 5. schéma récapitulatif de l'identification des espèces du genre streptococcus.

II.2.2. Examen macroscopique

La morphologie des colonies et leurs dimensions sont étudiées à partir des cultures obtenues sur les milieux suivants :

Gélose au sang frais

Gélose au sang cuit

II.2.3. Examen microscopique

L'examen microscopique apparaît comme la première étape de l'étude d'une bactérie, son interprétation est de première importance (**Figure 6**). L'examen microscopique comprend :

- Les examens à l'état frais c'est-à-dire les examens entre lame et lamelle des bactéries vivantes.
- Les examens après coloration, les colorations, effectuées le plus souvent sur des frottis séchés et fixés.

• Examen à l'état frais

L'examen à l'état frais permet l'observation des bactéries vivantes en l'absence de toute fixation ou coloration. Cette méthode permet d'observer :

- La morphologie des bactéries
- Leur mode de regroupement
- Leur mobilité

L'examen des bactéries peut être pratiqué :

- Soit à partir de culture en milieux liquides ou solides
- Soit à partir des milieux naturels : produits pathologiques par exemple

L'examen comporte les étapes suivantes :

- Effectuer au préalable une suspension en eau physiologique dans un tube
- Prélever une goutte à l'aide d'une pipette à pasteur, puis la déposer au milieu d'une lame
- Poser ensuite délicatement la lamelle
- Observer sous microscope à l'objectif 40

• Examen après coloration de gram

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. C'est la méthode la

plus utilisée en bactériologie médicale, son avantage est de donner l'information rapide et médicalement importante.

L'examen consiste à préparer une lame avec une suspension bactérienne et la fixer par la chaleur. Ensuite passer à la coloration de gram qui passe par quatre étapes :

- **Coloration** : recouvrir le frottis fixé d'une solution de violet de gentiane. Laisser agir 1 minute
- **Fixation** : rejeter le colorant en l'entraînant avec une solution de Lugol, laisser agir 30 seconds puis laver à l'eau courante
- **Décoloration** : avec l'alcool pendant 10 secondes sur la lame inclinée. Laver abondamment à l'eau
- **Contre – coloration** : recouvrir de fushine et laisser agir 30 sec à 1 min. Laver, sécher et examiner à l'objectif 100 en rajoutant l'huile à immersion.

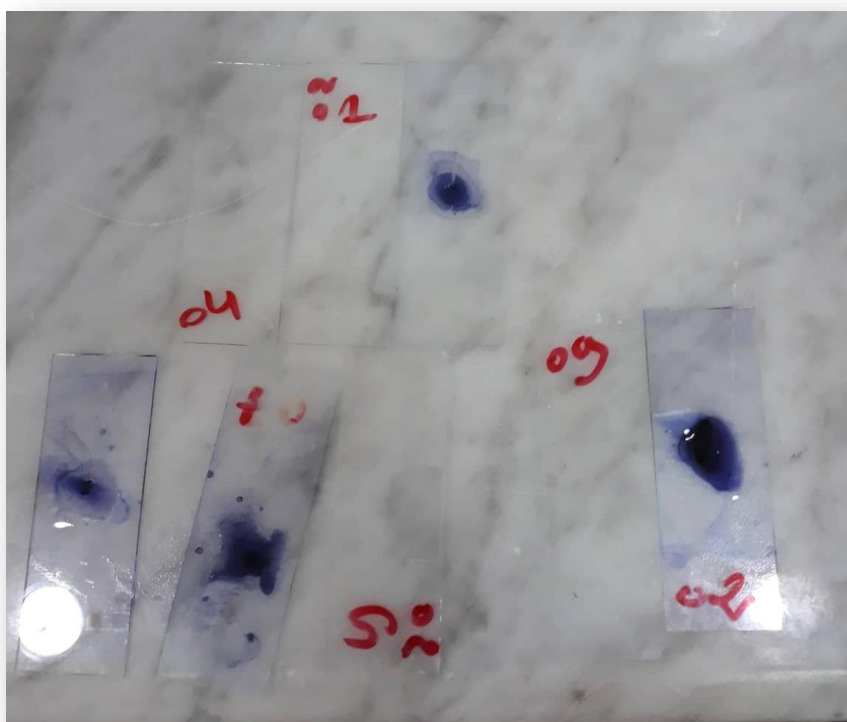


Figure 6. Préparation des lames pour l'état frais et l'état coloré (photo originale)

II.2.4. Identification bactérienne

Identification des streptocoques repose sur deux critères importants :

- Le type d'hémolyse des colonies sur gélose chocolat ou GSF
- L'étude biochimiques des bactéries qui comprend l'étude des enzymes respiratoires (catalase, oxydase) et les réactions cataboliques (galerie 20 strep)

II.2.4.1. Étude de métabolisme respiratoire

• Recherche de l'oxydase

Les derniers stades de la respiration cellulaire oxydative font intervenir des cytochromes dont seul le dernier maillon, le cytochrome oxydase réagit directement avec l'oxygène. Les germes anaérobies comme le cas des streptocoques ne possèdent pas une cytochrome oxydase.

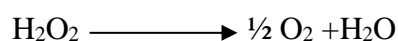
La technique consiste à prendre un disque de papier buvard déjà imprégné du réactif indicateur (la N . dimethyl – para phenylene diamine), l'imbiber d'un peu d'eau physiologiques à l'aide d'une pipette pasteur fermée puis prendre un peu de culture à partir d'une colonie en milieu solide la déposer sur le disque :

- L'apparition immédiate d'une coloration rose violacée : oxydase +
- Absence de coloration : oxydase –

• Recherche de catalase

Le test de catalase est très utile pour différencier entre les bactéries aérobies et anaérobies obligatoires, car ces derniers sont généralement dépourvus de l'enzyme qui est la catalase.

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ qui est un produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries selon la réaction :



La technique consiste déposer sur une lame une goutte H₂O₂ suivi de l'ajout d'une petite quantité de culture à prélevée sur gélose nutritive. Si la bactérie possède une catalase, on aura un dégagement d'O₂ sous forme des bulles donc réaction positive.

Il est important de noter que la recherche de la catalase ne se fait pas à partir d'une culture sur gélose au sang. Les globules rouges ayant leur propre catalase, risquent de réaction faux- positives.

II.2.4.2. Étude des réactions cataboliques

Cette partie consiste à identifier les espèces de Streptocoques en utilisant le système d'identification Galerie Api 20 Strep®.

• Conservation des souches

Vue que l'indisponibilité des galeries Api 20 pour streptocoques a été limitée et non synchronisée avec les étapes d'isolement, le passage par une période de conservation des souches a été obligatoire jusqu'au la disponibilité des galeries.

L'objectif de la conservation d'une souche est de maintenir les souches à conserver viables, disponibles et identiques. Selon le cas, les durées de conservation souhaitées varient de quelques jours à plusieurs années et le choix d'une technique de conservation sera fortement influencé par ce paramètre de la durée

Dans cette étude, la conservation est réalisée en utilisant un milieu de conservation commercialisé pour la conservation des acinetobacter, des staphylocoques et des streptocoques. Le milieu en petits tube se conserve entre 15 et 25°C, jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage. D'abord, quelques colonies bien isolées sur gélose au sang avec une anse de platine, sont déposées par une ou plusieurs piqures centrales dans le tube. Ce dernier est incubé au maximum, 24h entre 20 à 37 °C selon l'espèce à conserver. Il est important de noter qu'il faut éviter les variations de température pendant le stockage (**Figure 7**).



Figure 7. Photo représentant les milieux de conservation pour les culture positives des streptocoques.(originale)

• Revivification des souches

Afin d'utiliser les souches conservées pour l'identification sur les galeries, il est indispensable de les lancer sur les milieux convenables pour avoir des cultures fraîches, tout en évitant des contaminations lors de ce processus. Dans chaque tube de conservation des gouttes de bouillon BHIB sont ajoutées, puis incubés au moins pendant 1 heure ou jusqu'au avoir un trouble. Enfin, à l'aide d'une pipette à pasteur, des gouttes sontensemencées sur géloses aux sangs par la méthode de cadrant, et les incube à 37°C pendant 24h.

• Lancement des galeries

La galerie Api 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant (**Figure8**). Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoque et entérocoques. Les étapes sont les suivantes, en respectant les instructions de fournisseur :

➤ Préparation de l'inoculum

- Utiliser un tube contenant 2 ml d'eau distillée
- À l'aide d'un écouvillon prélever toute la culture préalablement préparée
- Réaliser une suspension très dense à une opacité supérieure à 4 McFarland

➤ Inoculation de la galerie

- Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH) répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles (pour cela, incliner la boîte d'incubation vers l'avant et placer la pointe de la pipette sur le côté de la cupule)
- Pour les tests VP à LAP : environ 100 µl dans chaque cupule.
- Pour le test ADH : remplir uniquement le tube.
- Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG) : ouvrir une ampoule d'API Medium et y transférer le reste de la suspension, soit 0,5 ml au minimum. Bien homogénéiser.
- Répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.
 - Remplir les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de la paraffine
 - Refermer la boîte d'incubation et Incuber à 36°C ± 2°C en aérobiose pendant 4H00 - 4H30 pour une première lecture et 24 heures (± 2 heures) si nécessaire pour une deuxième lecture.

➤ Lecture et interprétation

Après incubation, ajoutez les réactifs

- **Test VP** : une goutte vp1 et vp2
- **Test HIP** : 2 gouttes de NIN

- Test PYRA, ALPHA GAL, BETA GUR, BETA GAL, PAL, LAP : 1 goutte de ZYM A et ZYM B
- Attendre 10mn pour lire toutes les réactions en se référant au tableau de lecture
- L'identification est obtenue à partir du profil numérique

➤ Identification

Elle est réalisée à partir de la base des données :

À l'aide d'un catalogue analytique qui cherche le profil numérique dans la liste des profils. Cette étape est entreprise à l'aide du logiciel **API WEB** qui consiste à entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres lu après lecture.



Figure 8. Photo originale lors de la préparation des galeries pour l'identification.

II.2.5. Étude du profil de sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est nécessaire pour déterminer la sensibilité des espèces pathogènes streptococcus *Pyogenes* et *streptococcus pneumonea vis -à-vis* de différentes familles d'antibiotiques.

Dans notre étude, la méthode de diffusion sur gélose est utilisée. Cette méthode est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes incluant les bactéries à croissance lente ; elle permet une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier.

À partir d'une culture de 24h sur gélose Columbia additionnée de 5% de sang, une suspension équivalente à 1 McFarlane ($\sim 10^8$ UFC/ml) est préparée pour la méthode de diffusion. Les étapes consistent à :

- Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.
- Écouvillonner la totalité de la surface de la gélose dans trois directions ou en utilisant un ensemencement rotatif.
- Ensuite, Déposer les disques d'antibiotiques fermement à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide. Le nombre de disques déposés par boîte est limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques.
- La lecture des boîtes est faite pour la mesure des diamètres des zones d'inhibition, entourant chaque disque d'antibiotique, en se référant aux recommandations du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie CA-SFM. Les souches donc sont classées en sensibles, intermédiaires, et résistantes.

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III. 1 Description des groupes étudiés selon les caractères démographiques

Un total de 60 prélèvements nasaux a été effectué, dont 30 ont été prélevé chez les enfants symptomatiques au niveau de l'hôpital BEN BOULAID wilaya de blida et 30 prélèvements chez les enfants asymptomatiques recrutés au niveau d'une école primaire privée et après autorisation de la part de l'administration et les parents.

La répartition des effectifs relatifs aux deux groupes étudiés suivant les caractéristiques démographiques est résumée dans le **tableau IV**

Tableau IV. Description des groupes étudiées selon les caractères démographiques

60 prélèvements								
Age (ans)	[2-5]		[6-9]		[10-13]		Total fille	Total garçon
Symptomatiques								
Sexe	F	G	F	G	F	G		
Nombre de cas	8	6	6	6	1	3	15	15
Angine	7	6	5	6	1	1	13	14
Pneumonie	1	0	1	0	0	1	2	1
Prescription d'antibiotiques	1	0	0	0	0	2	1	2
Asymptomatiques								
Sexe	F	G	F	G	F	G		
Nombre de cas	0	1	9	10	5	5	14	16
Allergie	0	0	0	0	0	0	0	0
Asthme	0	0	0	0	0	0	0	0

III. 1 .1 la répartition selon d'âge

Les deux groupes symptomatique et asymptomatique ont été classé en trois catégories d'âge, avec des extrêmes allant de 2 ans à 13 ans. (Figure9 et 10).

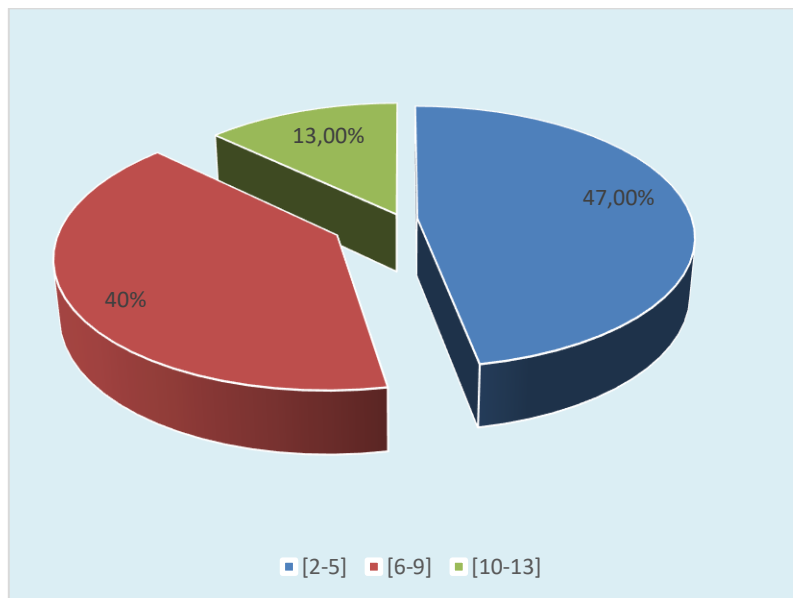


Figure 9. Répartition selon d'âge pour les symptomatiques

Cette répartition montre la prédominance de la tranche d'âge comprise entre [6-9] ans, vu que le nombre des enfants venant aux consultations à cause des angines sont de l'âge plus de 5 ans. La prédominance des angines chez cette tranche pédiatrique est largement décrite à travers le site (**passport sante 2022**) qui ont publié que L'angine est une maladie très fréquente. Ainsi, on compterait 9 millions de diagnostics d'angine en France chaque année. Bien qu'elle puisse concerner tous les âges, l'angine touche plus particulièrement les enfants, et notamment les 5 - 15 ans.

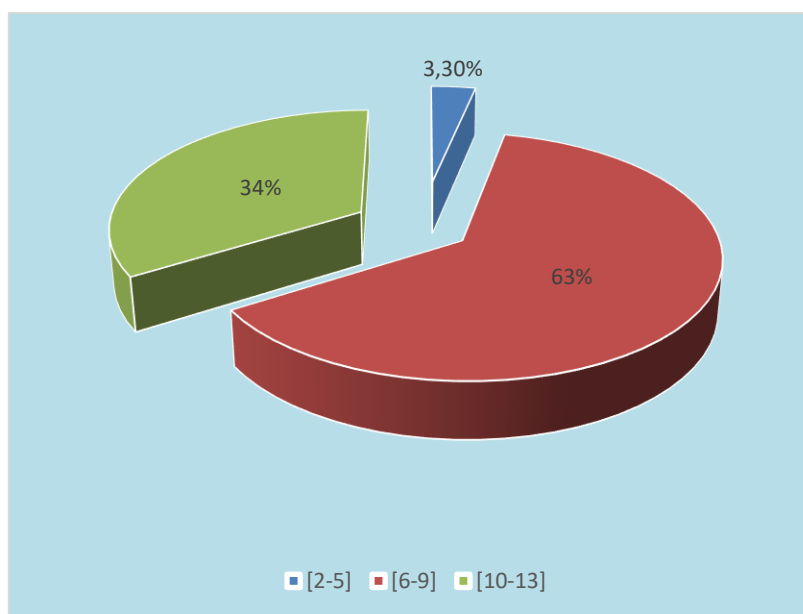


Figure 10. Répartition selon d'âge pour les asymptomatiques

La prédominance de la tranche d'Age [6-9] ans dans cette répartition est expliquée par l'Age scolaire et la vie en collectivité, qui favorise la contamination dans les écoles et la transmission des germes aériens entre les enfants.

III 1.2. Répartition selon les cas pathologiques

La fréquence la plus élevée des cas d'angines enregistrés durant la période d'étude a été notée chez les enfants ayant 2 à 5 ans, à une fréquence de 46,6%. En revanche, les cas des pneumonies enregistrées ont une fréquence faible et identique (3,3%) chez les trois tranches d'âge. Aucune différence n'a été enregistré entre filles et garçon, ce résultat corrobore celui de (Mezghani et al., 2010) (Figure 11 et 12)

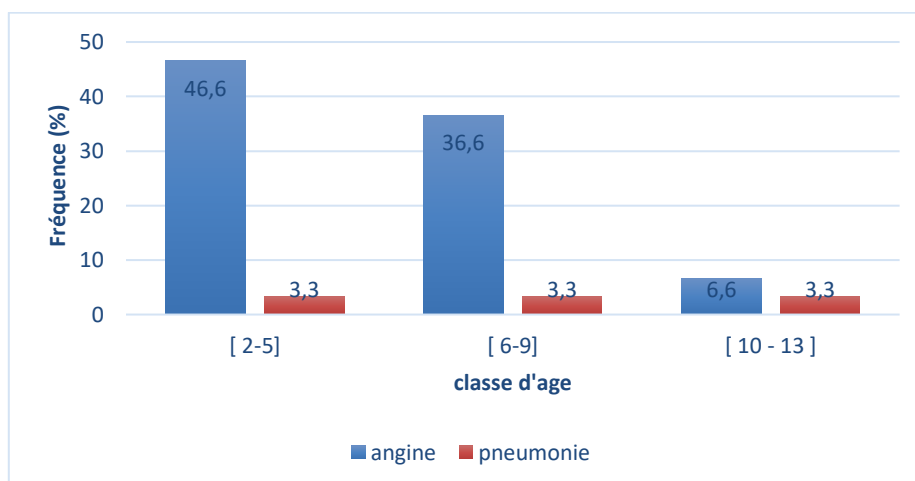


Figure 11. Répartition des cas d'angines et pneumonies chez les symptomatiques

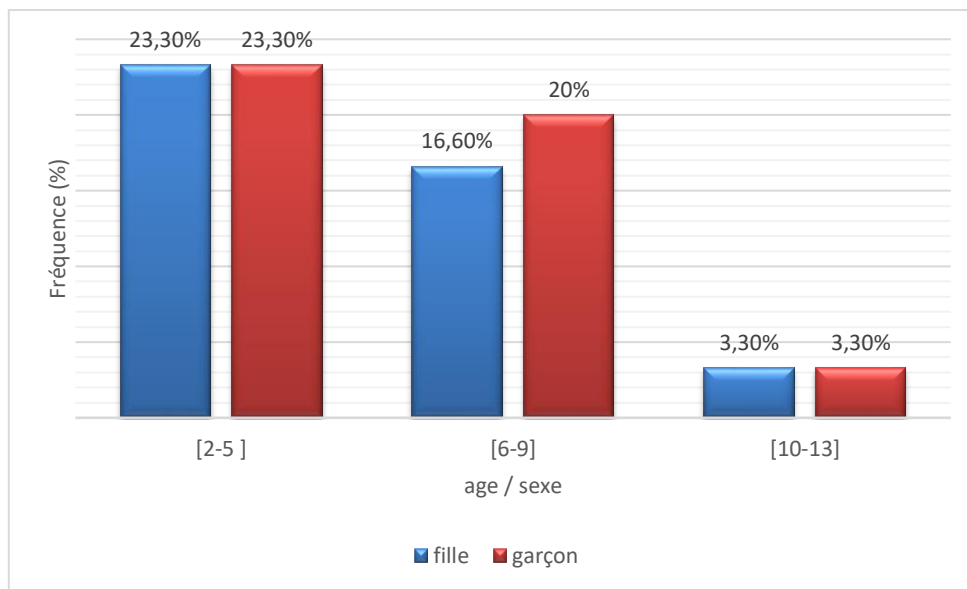


Figure 12. Répartition des cas d’angine selon d’âge et le sexe chez les enfants symptomatiques.

Ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés dans la bibliographie. En Tunisie l’étude de (Mezghani et al.,2010), montre que la tranche d’âge la plus touchée par ces infections est de 5 à 8 ans. Un autre travail réalisé au Centre Hospitalier de Soavianandriana, en 2016 par (G.F.A. Razanakoto et al.,2016) qu’ils ont noté que les enfants de tranche d’âge entre 5a 10 ans est la tranche d’âge la plus présentée. D’autres études montrent également que la tranche moyenne de 5 à 10 ans est la plus touchée (Tinsa et al., 2009 ; Vierin et al., 2015).

Ces résultats pourraient s’expliquer par l’immaturation de système immunitaire se ces tranches d’âge. Une autre explication est liée aux infections virales très fréquentes à cet âge et qui pourrait causer la surinfection bactérienne à l’origine de d’apparition de ces pathologie (angine et pneumonie) (Randriana et al., 22020)

III. 1.3. Répartition selon la positivité des cultures

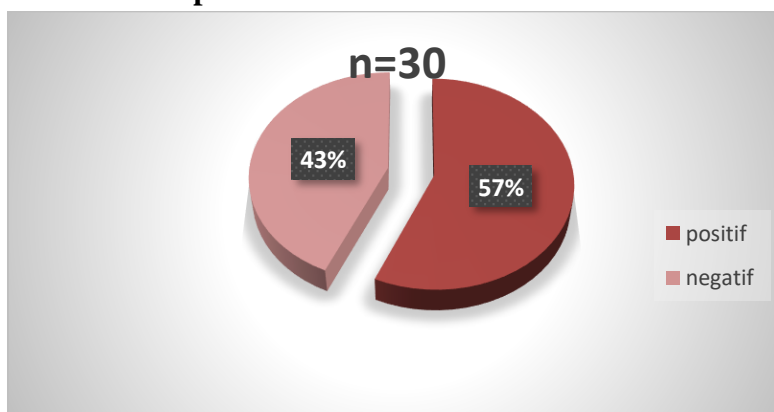


Figure 13. Fréquence de positivité des cultures pour le groupe symptomatiques

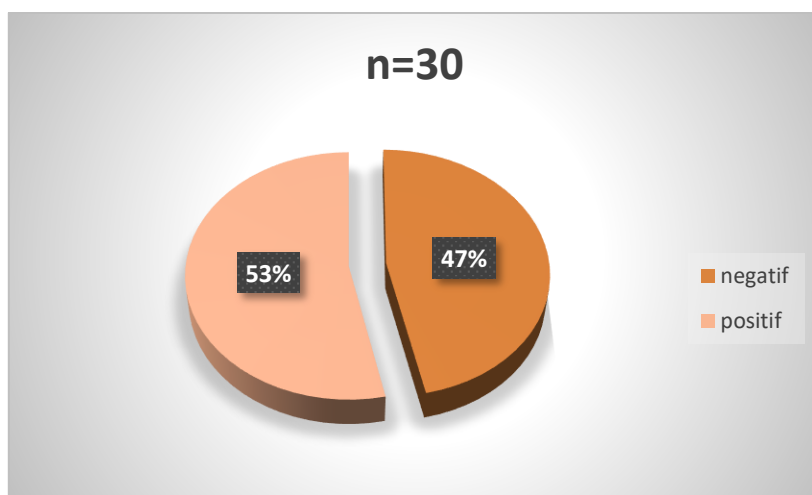


Figure 14. Fréquence de positivité des cultures pour le groupe asymptomatique

La positivité des cultures signifie la présence des colonies qui présentent une hémolyse sur gélose au sang, qui est le caractère majeur des streptocoques. Sur les 30 prélèvements effectués 57% (n=17) des enfants symptomatiques âgés de 2 à 13 ans ont présenté des cultures positives (**Figure13**). Le taux des cas négatifs indique (43%) que ces angines ont été d'origine virale ou à cause des autres germes bactériens.

Chez le groupe asymptotique, la positivité a été plus importante (53%) et probablement liée au portage commensal des streptocoques (**Figure14**).

La période d'étude pourrait influencer les fréquences de positivité. En effet, les défenses immunitaires des enfants sont plus faibles pendant l'hiver et le printemps, qui présentent respectivement les pics des infections virales et des réactions allergiques.

Toutefois des résultats très hétérogènes sont décrites à travers les études. L'équipe algérienne de **Ziane et al., 2015**) a trouvé un taux de 32% de positivité chez un groupe asymptotique. Dans une autre étude faite en Corée du sud, les enfants asymptotiques de moins de 5 ans ont présenté le taux optimal de positivité aux streptocoques (34%) (**Cho et al.,2012**).

Cette différence pourrait être en lien direct aux conditions géographiques, la modalité de prélèvement, la période de réalisation de l'étude, et la taille de la cohorte étudiée.

III. 1.4. Répartition de positivité selon les tranches d'âge

Selon les résultats de notre travail, la tranche d'âge qui présente un taux de positivité plus élevée est celle de [6 à 9 ans] par un pourcentage de (58%), suivie de la tranche d'âge de [2 à 5] et [10 à 13] qui présentent une fréquence de 50% (**Figure15**). Ces résultats sont proches de

ceux retrouvés par **Buchbinder et al., 2007**), et qui montre que les angine streptocoque sont très présentes chez les enfants d'âge moyen de 7 ± 3 ans.

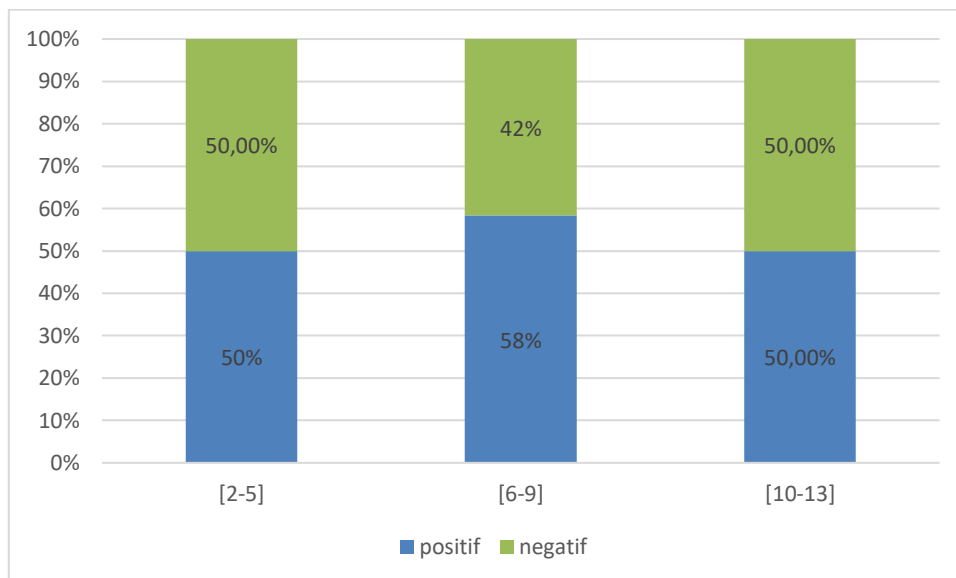


Figure 15. Fréquence de positivité selon les tranches d'âge des symptomatiques

La répartition de taux de positivité du portage nasale asymptomatique selon la tranche d'âge montre une grande fréquence chez les enfants (10 à 13) ans (**Figure15**) cela est similaire avec le résultat de (**Song et al., 2013**) qui note que la colonisation nasopharyngée par streptocoque commence dès les premiers mois de vie pour atteindre son maximum en âge scolaire moyen.

Contrairement aux résultats que nous avons obtenus dans cette étude (**Bogaert et al., 2004 ; Ferreira et al., 2011**) qui ont constatés que les enfants de moins de 2 ans sont connus comme porteurs fréquents des *streptococcus.spp*

Cette différence peut s'expliquer par le fait qu'au cour de l'étude, du fait des difficultés d'échantillonnage, nous avons sélectionné une tranche d'Age qui ne comprenait pas les jeunes enfants de moins de 2ans, et nous avons étudié les écoliers car la communauté était un facteur de risque de transmission.

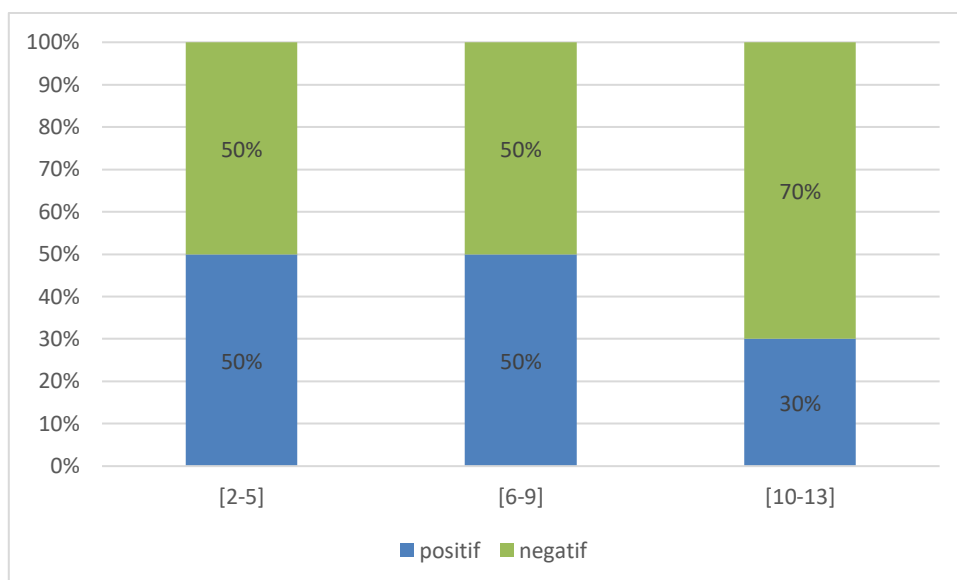


Figure 16. fréquence de positivité selon les tranches d'âge des asymptomatiques

III. 2. Identification des streptocoques

III. 2. 1. identification Macroscopique

L'aspect macroscopique retrouvé pour chaque prélèvement positif a été décrit et résumé dans les tableaux (**Annexe 7**) pour le groupe des enfants symptomatiques et asymptomatiques.

Sur géloses au sang frais : des Streptocoques β hémolytiques principalement *Streptococcus pyogènes*

Sur géloses au sang cuit : des Streptocoques α hémolytiques principalement *Streptococcus pneumoniae* et *Aerococcus viridans*.

Des souches de Streptocoques γ hémolytiques ont été isolées sur les deux géloses (au sang frais et au sang cuit). Il s'agit de *Enterococcus faecium*, *Enterococcus avium*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus anginosus*

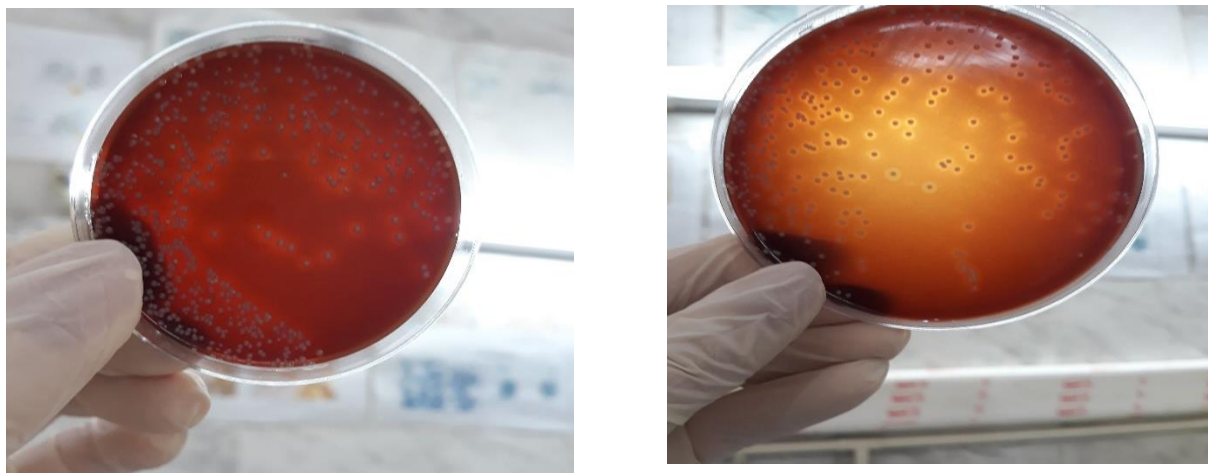


Figure 17. L'aspect des colonies bêta hémolytiques sur milieu GSF et GSC

- Observation des colonies β hémolyse du genre streptocoques après culture sur gélose au sang.



Figure 18. L'aspect des colonies alpha hémolytique sur GSC

- Des streptococcus sp en colonies séparées et isolées qui développent une hémolyse α



Figure 19. L'aspect des colonies gamma hémolytiques sur GSF

- Des streptococcus sp en colonies isolées, bombées et blanchâtres, qui ne développent aucune hémolyse



Figure 20. L'aspect des colonies des Enterococcus

- Colonies non -hémolytiques des entérocoques sur milieu gélose au sang

III. 2. 2. identification Microscopique

L'étude bactériologique se poursuit par une identification biochimique de toutes les souches isolées, en confirmant

- La présence de l'hémolyse
- L'aspect catalase et oxydase négative
- L'aspect microscopique de Cocci à Gram positif
- L'aspect des colonies et types d'hémolyse sur les milieux GSF GSC GN

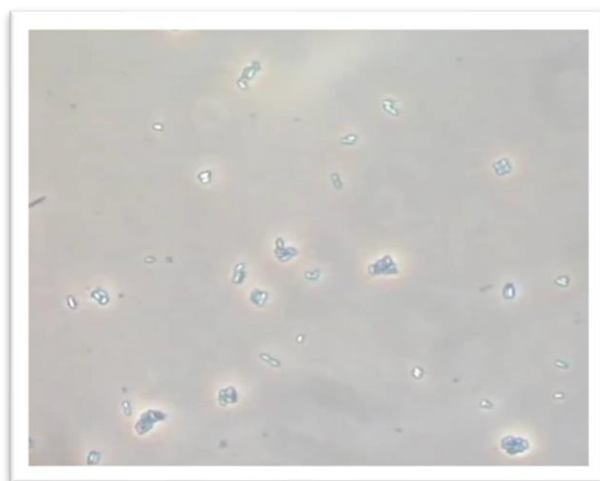


Figure 21. Photo représentent des Cocci en courtes chainettes sous microscope. Gx400

- Résultat de l'observation de l'état frais

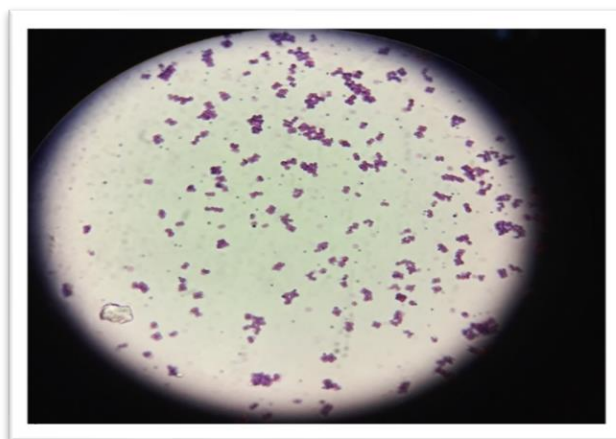


Figure 22. Photo originale présentant des espèces de genres streptocoques au microscope après coloration de gram. Gx400.

- Résultat de l'observation de l'état coloré



Figure 23. Résultat négatif de l'oxydase chez les cultures des streptocoques

- Résultat de test de l'oxydase qui était négatif pour toutes les cultures positives



Figure 24. Résultat négatif de catalase chez les streptocoques et positif chez les staphylocoques

- Résultat de test de catalase positif pour les streptocoques et négatif en cas de staphylocoques (critère d'extinction)

III.2.3 identification biochimiques (GALERIE API 20 STREP)

Les espèces identifiées relativement à chaque groupe étudié sont représentées dans les tableaux (**Annexe 8**) les fréquences relatives à chaque espèce sont enregistrées dans le **tableau V**

La première remarque dans les résultats obtenus est la présence des espèces hors les streptocoques, à l'instar de *Enterococcus faecium*, *Aerococcus viridans* et *Enterococcus avium* chez les deux groupes, symptomatique et asymptomatiques. Ces germes présentent les mêmes caractéristiques métaboliques que les Streptocoques. Ils sont des bactéries commensales du tube digestif et donc leur présence dans un prélèvement nasal pourrait être expliqué par une auto contamination chez l'enfant ou par une contamination provenant de l'environnement (**Stripling et al., 2015**).

Les résultats de l'identification ont démontré, en plus des espèces commensales non pathogènes, la présence des deux potentiellement responsables des infections respiratoires : le *Streptococcus pneumoniae* et le *Streptococcus pyogenes*. Ce dernier est strictement retrouvé chez un enfant symptomatique diagnostiqué pour une angine, ce qui confirme l'association fréquente de ce pathogène au développement des angines chez l'enfant.

En revanche le *Streptococcus pneumoniae* est retrouvé chez les enfants symptomatiques et asymptomatiques ce qui indique son portage commensal chez l'enfant mais aussi son implication dans le développement des pneumonies.

Tableau V. les fréquences relatives pour chaque espèce chez les deux groupes de population

Symptomatique		Asymptomatique	
Espèce	Pourcentages	Espèce	Pourcentages
-Enterococcus Feacium	12%	-Enterococcus Feacium	12%
-Streptococcus Pyogenes	12%		
-Streptococcus Intermedius	12%	-Streptococcus Intermedius	18%
-Streptococcus Constellatus	12%	-Streptococcus Constellatus	18%
-Aerococcus Viridans	23%	-Aerococcus Viridans	18%
-Streptococcus Uberis	6%	-Streptococcus Agalatae	12%
-Streptococcus Anginosus	6%		
-Streptococcus Pneumoniae	12%	-Streptococcus pneumoniae	6%
-Enterococcus Avium	6%	-Enterococcus Avium	18%

- Selon (**Gendrel et al., 2010**) les enfants s'infectent à partir des souches de *Streptococcus pneumoniae* portées de façon plus ou moins symptomatiques dans leur rhinopharynx, et cette colonisation par le pneumocoque est à l'origine d'infection invasive ou d'otite.
- Les résultats de l'identification des galeries, ont montrés des cas des porteurs sains de *Streptococcus pneumoniae*. Selon la littérature et comme l'ont rapporté plusieurs auteurs tels que (**bouskraoui et al., 2011**), ils ont constaté que la colonisation des voies aériennes supérieures précède généralement l'infection.
- Dans notre étude avec les asymptomatiques, on a trouvé plusieurs espèces du genre streptococcus et Enterococcus, ces résultats sont en accord avec (**Gaschignard et al., 2019**) qui ont dit que les genres streptococcus et Enterococcus comportent plusieurs espèces commensales chez l'homme et l'animal, mais aussi des espèces responsables d'infections.
- On marque aussi une présence de *Streptococcus pyogenes* que chez le groupe des symptomatiques et absence totale dans le cas des asymptomatiques, ce qui explique les résultats obtenus par que le SGA est le premier agent bactérien en cause (25 à 30 %) des angines de l'enfant
- Plusieurs espèces du genre streptocoque ont été obtenus après identification par galerie api strep, cela est expliqué par le fait que :

Les bactéries pathogènes pour s'implanter dans le rhinopharynx, doivent entrer en compétition avec les bactéries résidentes, notamment pour l'utilisation des nutriments.

De plus, certaines de ces bactéries résidentes peuvent produire des bactériocines susceptibles d'inhiber la croissance d'autres bactéries. Les *streptococcus viridans* sont ainsi capable d'inhiber la croissance de *S. pneumoniae* et *S. pyogenes* et de certaines bactéries gram

Négatif.

Ces mêmes bactéries ont joué un rôle dans la diffusion des gènes de résistance (par transformation) spécialement pour *S. pneumoniae* (Barry et Dacré , 1995)

III.3. Profil de résistance aux antibiotiques

Dans cette étude aucune résistance n'est détectée pour les espèces pathogènes, *streptococcus pyogenes* et *Streptococcus pneumoniae*. (Tableaux VI, VII, VIII et IX). Cela pourrait être expliqué par la nature de l'échantillon étudiée et sa faible taille.

Tableau VI. Résultat de l'antibiogramme pour streptococcus pyogenes prélèvement 04

	E Mm	CD Mm	RP Mm	C Mm	CIP Mm	RA Mm	NA Mm	AMP Mm
04	30	31	30	28	28	29	22	20

Tableau VII. Résultat de l'antibiogramme pour Streptococcus pyogenes prélèvement 28

	E Mm	CD Mm	RP Mm	C Mm	CIP Mm	RA Mm	VA Mm	TEI Mm	LE Mm	AMP Mm
28	30	31	30	27	27	33	23	20	28	38

- Il n'existe pas des souches résistantes aux β -Lactamine, et bien que la résistance de ce germe aux macrolides ait diminuée (5%) depuis 2005. La prescription première de β -lactamine (Amoxicilline) demeure recommandée.

Tableau VIII. Résultat de l'antibiogramme pour Streptococcus pneumoniae prélèvement 25

	OXA Mm	VA Mm	E Mm	LE	RAM Mm	C Mm	CM	DO Mm
25	22	24	29	17	33	25	19	28

Tableau IX. Résultat de l'antibiogramme pour *Streptococcus pneumoniae* prélèvement 26

	OXA	VA	E	LE	RAM	C	CM	DO
	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm	Mm
26	25	20	28	17	26	24	22	27

Les résultats de l'antibiogramme pour *Streptococcus pneumoniae* n'ont pas montrés aucune résistance remarquable, mais concernant la zone d'inhibition à l'oxacilline, une étude rapporte que y a des cas de PSDP (pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline) qui sont détectées par un disque d'oxacilline

En conséquent, notamment en cas d'infection sévère, d'échec clinique ou devant toute souche de PSDP (OXA<26), le CA-SFM recommande de déterminer la CMI d'au moins une de β lactamine dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique, en particulier l'antibiotique prescrit. (**Chardon, 2008**)

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les angines et les pneumonies sont des infections communautaires, les plus fréquentes. Elles représentent le motif principal de première ligne de consultation pédiatrique et médecine. Au cours de cette étude, effectuées dans le service pédiatrie CHU BEN BOULAI Blida, 30 prélèvements nasaux ont été réalisés pour des enfants venant consulter pour une angine et pneumonie, en excluant toute autre maladie ou perturbation respiratoire. L'objectif principal était d'étudier le portage nasal des streptocoques chez les enfants, à côté de l'évaluation du profil de résistance des deux espèces les plus incriminées dans les infections des voies respiratoires supérieures, le *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus pneumoniae*.

Les résultats obtenus dans cette étude ont permis de révéler plusieurs points suivants :

- La fréquence des angines est élevée dans la tranche d'âge qui varie entre [2-5] ans et aucun lien entre le sexe n'a été détecté ;
- Présence des *Streptococcus pneumoniae* chez les symptomatiques et les asymptomatiques, tandis que le *Streptococcus pyogenes* est exclusivement rencontré chez les enfants symptomatiques ;
- Aucune résistance n'a été révélée, en effet toutes les souches étudiées présentent une sensibilité *vis-à-vis* des antibiotiques utilisés.

Cette étude ouvre de nombreuses perspectives, il serait intéressant à :

- Élargir, le champ des prélèvements en s'étalant sur d'autres régions dans la wilaya de blida, et sur d'autres wilaya, afin de généraliser l'étude et avoir une cohorte plus représentative ;
- Cibler les enfants en scolarisation et durant la période hivernale marquée par des pics endémiques d'infections respiratoires ;
- Caractérisation moléculaire des isolats dans le but de déterminer leurs origines (commensales ou pathogènes) .

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Avril J , Dabrant H , Denis F et monteil H (1992) . Bactériologie clinique : Streptococcus Enterococcus . Ellipses 2 ed : 33 .

Brisou P , Chamouille M , Gaillard T , Muzellec Y,(2004) .infections à pneumocoque . EMC . Pédiatrie et maladies infectieuses volume 14 n°4

B .Barry,D.Decré,(1995),la flore respiratoire normale de l'adulte,In la colonisation microbienne des voies respiratoire .P 11_17

Blausen gallery ,(2014) .microbiologie medicale

bogaer, D., De Groot Ret ,Hermans W,(2004). streptococcus pneumoniae colonisation :the key to pneumococcal disease-Lancet Inf Dis.4: 144-154.

Bouskraoui M., Sorra.,Z., Arsalane L.,Doit C., .Mariani P et Bingen E ,(2011).Study of nasopharyngeal carriage of streptococcus pneumoniae and its antibiotics resistance in healthy children aged less than 2 years in the Marrakech region (Morocco). Archives de pédiatrie.18:1265-1270.

Bousquet J, Jeffery P. K, Busse W. W, Johnson M , Vignola A. M, (1999). Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. Am J Respir Crit Care Med 161,(n°5) .

Buchbinder N, Benzdira A, Belgaid A, Dufour D, Paon J.C, Morel A ,(2007).Angine streptococcique aux urgences pédiatriques : et impact d'un test de diagnostic rapide. Archives de Pédiatrie, Vol 14(n °9) ,1057–1061,

Charles W, Ali I. Musani, David W, (2019). Community-acquired Pneumonia and Hospitalacquired Pneumonia.Elsevier Inc .medical,theclinics.com .

Cho,E ,Kang H ,Lee J,(2012).changes in serotype distribution and antibiotic resistance of nasopharyngeal isolates of streptococcus from children in korea, after optimal use of the 7-valent conjugate vaccine.J Korean Med Sci.27:716-22.

Christian, P. 1993. L'essentiel en physiologie respiratoire. Montpellier : Sauramps médical.

D. Gendrela, C. Valleta, C. Gelmettia, F. Moulina, J.-F. Brasmea, M. Chalumeaua ,R. Cohenb, J. Raymondc,(2010). Pneumonies à pneumocoque hautement probables chez les enfants vaccinés gardés en collectivité . Archives de Pédiatrie volume17,p373-377, Elsevier Masson SAS.

Denis F , Bouchiat J , Loubinoux F et al , (2015) .cocci à gram positif , - In , Bacteriologie médicale , Identification et systematique bacterienne . Elsevier Mzsson SAS : 272-274

Denis F. Ploy M-C. Martin C. Bingen E. Quentin R. Bactériologie médicale : Techniques usuelles. 2ème édition, Paris. Elsevier Masson ; 2011. P : 299-319.

El Hilah F, et al,(2015). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. 2015. Vol. 25. ISSN 2071-7024.

Fecklam R,(2002).what happend to the streptococci : overview of taxonomie and nomenclature changes , clinical microbiology revieus 15 :613_630

Ferreira,D ,Jambo D et Gordon S ,(2011).Experimental human pneumococcal carriage models for vaccine research. Trends Microbiol.19-70. 944

Gaschignard J , Bidet P , et Fayet A ,(2019) . Infections à streptocoques et enterocoques . EMC pediatrie et maladies infectieuses , volume 14 n°4

Hox V , Pillette C , Huart C , Rombaux P , (2019),- Relation nez/branches , physiologie , exploration et pathologie , EMC oto-rhino-laryngologie , volume 14 n°13

Hubert chardon ,(2008).infection à pneumocoque et à staphylococcus aureus ,l'antibiogramme du pneumocoque .revue francophone des laboratoires.volume n°407

J .Dore ,G .Corthier ,(2010) .gastroerterology clinique et biologique ,le microbiote intestinal humain .volume 34n°,p7_16

Jacque Beraud ,(2004) . - Bacteriologie , In , Le technicien d'analyse biologiques guide , londre , Edition TEC .DOC , 979 (868-908)

Lancet 2009; 374: 154 www.thelancet.com Vol 374 October 31, 2009

Mark J. Jdrzejjas. Pneumococcal Virulence Factors: Structure and Function. juin 2001

Mezghani Maalej S, Rekik M, Boudaouara M, Jardak N, Turki S, Arous R, Chouchane S, Marrekchi F, Kassis M, Hammami A ,(2010). Les angines aiguës de l'enfant dans la région de Sfax (Tunisie) : épidémiologie et intérêt du test de diagnostic rapide Childhood pharyngitis in Sfax (Tunisia), Médecine et maladies infectieuses , 228_231 .

Michael A et James H ,(2015) . diagnostic stratigies and general topics , In Manuel of clinical Microbiologie

Michael A et James H ,(2015) . diagnostic stratigies and general topics , In Manuel of clinical Microbiologie

Michon et Marchandin., 2015 Michael A et James H ,(2015) . diagnostic stratigies and general topics , In Manuel of clinical Microbiologie

Nzame Vierin Y, Moutambi B, Moussavou A,(2015). Les pneumonies de l'enfant à Libreville : Une étude de 85 cas , : Centre Hospitalier Universitaire de Libreville, Faculté de Médecine de Libreville. Vol 16, (n°3),1-4.

Paton, J.C., and Ferrante, A, (1983). Inhibition of human polymorphonuclear leukocyte respiratory burst, bactericidal activity, and migration by pneumolysin. *Infect Immun* 41, 1212-1216.

Peter .A,vandamme. R,(2015).bacteriology :taxonomy and classification of bacteria ,In manual of clinical microbiology .11 edition ASM press,volume 1 ,P 255

Randrianandraina MP, Rasamimanana NG, Rakotomalala RS, Rasoanantenaina MG, Randaoharison PG, Rabesandratana HN, Andrianarimanana Koecher D ,(2020). Profil épidémiologique des infections oto-rhino- laryngologiques chez les enfants . *Rev Malg Ped*, Vol 3(n°1):90-97.t(

Razanakoto G.F.A, Tsifiregna R.L, Fare A.T.S, G.B. Andriamampionona G.B, Rakotoarison R.A, Rakotoarisoa A.H.N, Rakoto F.A ,(2016). Indications de l'amygdalectomie chez l'enfant au Centre Hospitalier de Soavianandriana, Antananarivo . *La Revue Médicale de Madagascar*, Vol 6(n°1), 694-697.

Song, J.,Moon H.,Nahm M et Moseley A,(2013).clinical Implications of pneumococcal serotypes: Invasive Disease potential, clinical presentations, and Antibiotique Resistance.*J Korean Med sci.*28:4-15.

Stripling J, Kumar R, Baddley J. W, Nellore A, Dixon A, Ptacek T, Lefkowitz E. J, Howard D, J.A Tallaj J.A, Benjamin Jr W. H, Morrow C. D, Rodriguez J M ,(2010). Loss of Vancomycin-Resistant Enterococcus Fecal Dominance in an Organ Transplant Patient With Clostridium difficile Colitis After Fecal Microbiota Transplant .

Taytard, A, et al,(2001). Prise en charge des infections respiratoires basses en médecine générale en France. *Rev Mal Respir*, 18, 163-170 pages.

Tinsa F, Boussetta K, Gharbi A, Bousnina D, Abdelaziz R, Brini I, Bousnina S ,(2009). Pneumopathies communautaires chez l'enfant. *La Tunisie médicale*, Vol 87 (n°12) ,851 – 856.

Warren .L,Peter .C .H ,Elizabeth. A.J , jesse .N ,Brian. S ,(2018).clinical bacteriology :Gram-positive cocci,Review of Medical Microbiology and Immunology (Guide to clinical infection diseases) .fifteenth Edition .P106

Weiser, N., J. Daniela., M. Ferreira et J. C. Paton (2018). Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev Microbiol*. Volume 16 ,p355-367.

Wollner A , 2014 ,- Infection respiratoire haute . traité de Médecine AKOS , volume 9 , n°2

World Health Organization, (2008). Global Health Observatory Data Repository - Cause-specific mortality.WHO region

Ziane,H(2015). Thèse de doctorat en science médicale. *Streptococcus pneumoniae* : résistance aux antibiotique fréquences des sérotypes, principaux sérotypes impliqués dans les infections invasives et aux portage nasopharyngé.

Les Sites Web :

http://www.who.int/entity/gho/mortality_burden_disease/global_burden_disease_DTH6_2008

<https://www.antibio-responsable.fr/maladies/orl/>

<https://www.bergeys.org/>

<https://www.passeportsante.net/>

Annexes

Fiche de renseignement patient

Portage des streptocoques chez les enfants (symptomatiques / asymptomatiques)

Coordonnées du patient

Nom : _____ prénom : _____
Date de naissance : _____ Sexe : _____
Lieu de résidence : _____
Type d'habitation : bidon ville immeuble traditionnel villa
Hospitalisation : oui Nom
Nom de l'hôpital : _____ service : _____

Information échantillon

Type de prélèvement :
 Nasal
 Nasopharyngée
 Oropharyngée

Renseignements cliniques et épidémiologiques

Infection : oui non
Pulmonaire : pneumopathie pleurésie
ORL : angine scarlatine

Antibiotique

L'enfant a pris des antibiotique : oui non
Type d'antibiotique : _____

Annexe 2

matériel non biologique

a/ verreries et autres	b/ appareillage
<ul style="list-style-type: none">-pince.-écouvillon en coton.-tubes à essai stériles.-pipettes pasteurs.-anse de platine.-lames et lamelles.-boite de pétri.-poire d'aspiration.-portoirs pour les tubes.-tubes secs stériles.-disques d'antibiotique.-disque d'oxydase.	<ul style="list-style-type: none">-microscope optique.-étuve.-bec bunsen.-réfrigérateur.-pied à coulisse.

c/Milieu de culture	d/solutions stériles et réactifs
<ul style="list-style-type: none">-Gélose nutritive.-Gélose au sang frais.-Gélose au sang cuit.-Muller Hinton au sang.-gélose Columbia au sang.-Bouillon BHIB.	<ul style="list-style-type: none">-violet de gentaine 1%.-lugol 10%.-Alcool à 90%.-Huile à immersion stérile.-fuchsine 1%.-eau physiologique stérile.-eau oxygénée.

Annexe 3

composition de milieu de culture (formules en g/L)

composition	
Gélose nutritive :	
-peptone.....	10g.
-extrait de viande.....	3g.
-extrait de levure.....	3g.
-chlorure de sodium.....	5g.
-agar.....	1g.
PH=7.5	
Gélose Muller Hinton au sang :	
-Infusion de viande de bœuf.....	300g.
-Hydrolysate de caséine	17.5g.
-Amidon.....	1,5g.
-Agar.....	10à17g.
-calcium.....	10à17g.
-magnésium.....	60à200g.
-Eau distillée.....	20à40g.
-sang.....	5%.
Gélose au sang cuit :	
-Peptone de viande.....	10g.
-peptone de caséine.....	5g.
-Extrait de levure.....	3g.
-Chlorure de sodium.....	5g.
-	
Agar.....	18g.
Ph=6,9	
Gélose au sang frais :	
-Mélanges spécial de peptones.....	23g.
-Amidon.....	1g.
-Chlorure de sodium.....	5g.
-	
Agar.....	10g.
-Sang	50ml.
-Eau distillée.....	1000ml.
PH=7,3.	

Gélose Columbia au sang :

- peptone pancréatique de cœur.....3g.
 - extrait autolytique de levure.....3g.
 - Agar bactériologique.....13,5g.
 - amidon de maïs.....1g.
 - chlorure de sodium.....5g.
 - eau distillée.....100ml.
 - polypepton.....17g.
 - sang.....50ml.
- PH=7.3.

Bouillon(BHIB) :

- peptones.....12g.
- Infusion de cervelle et de cœur.....3,5g.
- hydrolysat pancréatique de caséine.....10g.
- extrait de levure.....2g.
- glucose.....2g.
- chlorure de sodium.....5g.



Figure : photo original lors de l'ensemencement des prélèvements sur les milieux

Annexe 4



Figure : préparation des milieux (photo original).



Figure : examen microscopique des colonies (photo original).

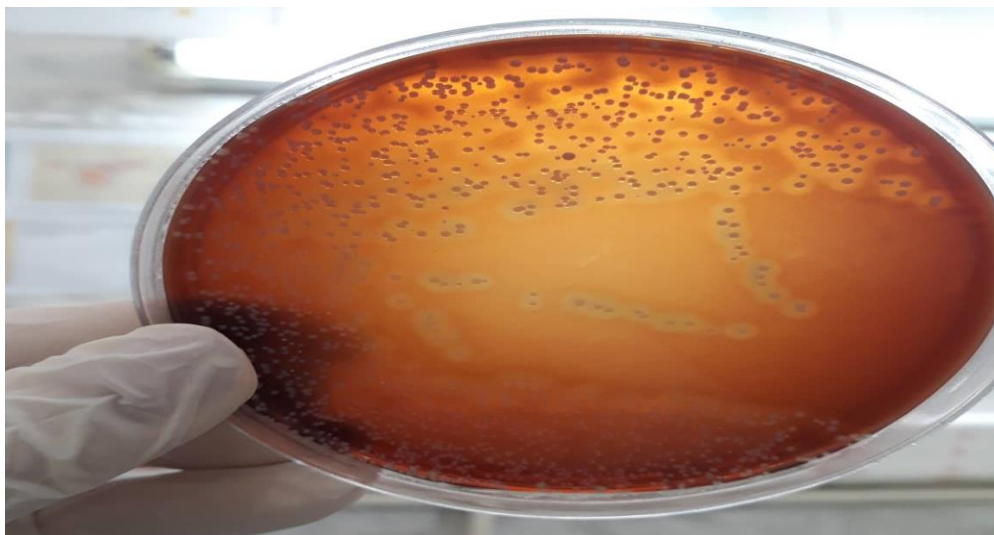


Figure : Croissance des *Streptocoques* sur Columbia au sang (photo original).

Annexe 5

Tableau : liste des antibiotiques à tester pour les *Streptocoques*.

Antibiotique	symbole	<i>Streptococcus Pneumoniae</i>	<i>Streptococcus Pyogenes</i>
Ampicilline	AMP	/	(20-38 mm)
Chloramphénicol	C	25mm	28mm
Clindamycine	CD	/	31mm
Ciprofloxacine	CIP	/	28mm
Clindamycine	CM	(19-22mm)	/
Doxycycline	DO	28mm	résistance
érythromycine	E	29mm	30mm
Levoflamicine	LE	17mm	28mm
Acide nalidixique	NA	/	22mm
Oxacilline	OXA	(22-25mm)	/
Pénicilline	P	/	résistance
Rifampicine	RA	(26-33mm)	29mm
Teicoplanine	TEI	/	20mm
Vancomycine	VA	(20-24mm)	23mm



Figure. L'ensemble des antibiotiques utilisés



Figure. préparation d'antibiogramme (photo original)

Annexe 6

- Galerie API 20 strep

API 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques, entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants

- Principe :

La galerie API 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

- Protocole :

- ❖ Préparation de l'inoculum
 - Ouvrir une ampoule d'API Suspension Medium (2 ml) ou utiliser un tube contenant 2 ml d'eau distillée sans additif.
 - A l'aide d'une pipette pasteur, prélever toute la culture préalablement préparée.
 - Réaliser une suspension très dense : opacité supérieure à 4 de McFarland.
 - Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
- ❖ Inoculation de la galerie

Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH) répartir la suspension précédente en évitant la formation de:

- pour les tests VP à LAP : environ 100 µl dans chaque cupule.
- Pour le test ADH : remplir uniquement le tube.

Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG) :

- Remplir les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de paraffine en formant un ménisque convexe.
- ❖ Incuber à $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en aérobiose pendant 4H00 - 4H30 pour une première lecture et 24 heures (± 2 heures) si nécessaire pour une deuxième lecture
- Lecture et interprétation :
 - ❖ Lecture de la galerie Après 24 heures d'incubation :
 - Ajouter les réactifs :
 - ✓ Test VP : 1 goutte de VP 1 et VP 2.
 - ✓ Test HIP : 2 gouttes de NIN.
 - ✓ Tests PYRA, DGAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP : 1 goutte de ZYM A et ZYM B.

- Attendre 10 minutes, puis lire toutes les réactions en se référant au Tableau de Lecture.
- ❖ Interprétation :
 - L'identification est obtenue à partir du profil numérique

Tableau : tableau de lecture des résultat galerie API 20 strep

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS			
				NEGATIF		POSITIF	
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min (3)			
				Incolore		Rose-Rouge	
HIP	acide hippurique	0,4	hydrolyse (acide HIPpurique)	NIN / jusqu'à 10 min			
				Incolore/Bleu pâle Gris-bleuté		Bleu foncé/Violet	
ESC	esculine citrate de fer	1,16 0,152	hydrolyse β-glucosidase (ESCuline)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incolore Jaune pâle	Incolore Jaune pâle Gris clair	Noir Gris	Noir
PYRA	acide pyroglutamique- β-naphtylamide	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclaircissement intense			
				Incolore ou Orange très pâle		Orange	
αGAL	6-bromo-2-naphtyl-αD- galactopyranoside	0,0376	α-GALactosidase	Incolore		Violet	
βGUR	acide naphтол-ASBI- glucuronique	0,0537	β-GLUcuRonidase	Incolore		Bleu	
βGAL	2-naphtyl-βD- galactopyranoside	0,0306	β-GALactosidase	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
PAL	2-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
LAP	L-leucine-β-naphtylamide	0,0256	Leucine AminoPeptidase	Incolore		Orange	
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune		Rouge	
				4 h	24 h	4 h	24 h
<u>RIB</u>	D-ribose	1,4	acidification (RIBose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>ARA</u>	L-arabinose	1,4	acidification (ARAbinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>MAN</u>	D-mannitol	1,36	acidification (MANnitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>SOR</u>	D-sorbitol	1,36	acidification (SORbitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>LAC</u>	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACTose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>TRE</u>	D-tréhalose	1,32	acidification (TREhalose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>INU</u>	inuline	5,12	acidification (INUline)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>RAF</u>	D-raffinose	3,12	acidification (RAFFinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>AMD</u>	amidon (2)	2,56	acidification (AMIDon)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>GLYG</u>	glycogène	1,28	acidification (GLYcoGène)	Rouge ou Orange		Jaune franc	



Figure : préparation des galerie (photo original)



Figure : lecture résultats des galerie API 20 strep après 24heur d'incubation (photo original)

Annexe 7

Tableau. Résultat de lecture macroscopique des colonies pour les symptomatiques

N°	Gélose au sang frais	Gélose au sang cuit	Gélose nutritive
02	Des petites colonies qui sont colorées en blanc crème présentant une hémolyse λ	Négatif	négatif
04	négatif	négatif	Des colonies beiges arrondies et régulières
07	Des petites colonies rondes avec une zone d'hémolyse incomplète α hémolytiques	Des colonies petites , grisâtres et régulières	négatif
08	Des petites colonies entourées d'un halo clair (β hémolytique)	Des petites colonies entourées d'un halo vert	négatif
09	des colonies petites , grisâtres , +/- transparente , lisse et régulières	Petites colonies arrondies avec un halo vert	négatif
12	Petite colonies , semi transparentes et mucoïdes	Des colonies arrondies, grisâtres et bombées avec un halo vert	négatif
13	Petites colonies entourées d'une zone de β hémolyse	Des colonies petites et arrondies entourées d'un halo vert	négatif
15	Des petites colonies arrondies et muqueuses	Des petites colonies bombées avec un halo clair	négatif
17	Petites colonies, rondes, fines et transparentes avec un halo clair de la β hémolyse	Des colonies petites , arrondies avec un halo vert	Grosse colonies , beiges et régulières
19	Des colonies blanchâtres et translucides entourées d'une α hémolyse	Un verdissement observé sur le milieu	Négatif
20	Petites colonies transparentes avec un halo clair	Petites colonies avec un halo vert	négatif
25	Des colonies transparentes, non pigmentées entourées d'une zone d' α hémolyse	Des petites colonies , beiges entourées d'un halo vert	négatif
26	Des petites colonies arrondies régulières transparentes avec un halo clair	Tres petites colonies sur le milieu avec un verdissement observé	Négatif
28	Des colonies petites, rondes et transparente avec un halo clair de la zone β hémolyse	Des colonies entourées d'un halo vert	négatif
29	Des petites colonies transparentes avec un halo clair	Des petites colonies avec un halo vert	négatif
30	Des petites colonies rondes avec une zone d'hémolyse incomplète α hémolytiques	Des colonies petites , grisâtres et régulières	négatif

Tableau : résultats de lecture macroscopique pour les asymptomatiques

N°	GSF	GSF	GN
05	Des petites colonies arrondies avec une zone d'hémolyse incomplète α hémolytiques et des colonies de β hémolyse	des colonies petites , grisâtres et régulières	négatif
06	Des petites colonies de α hémolyse et β hémolyse	Des petites colonies arrondies et régulière	négatif
07	des petites colonies	Petites colonies arrondies et bombées avec un halo vert	Négatif
09	Grosse colonies , semi jaunâtres entourées d'un halo clair	négatif	Négatif
10	Grosses colonies bombées	Petites colonies jaunâtres	Grosses , arrondies et blanchâtres
12	Petites colonies avec un halo clair	des colonies entourées par un halo vert	négatif
13	Des colonies jaunâtres	Verdissement du milieu	Négatif
16	Des colonies arrondies de couleur grise	Des colonies petites avec un halo vert	Négatif
17	Des petites colonies transparentes avec une zone d' α hémolyse	Des colonies entourées d'un halo vert	négatif
18	Des petites colonies incolores	Des colonies beiges entourées d'un halo vert	négatif
19	Des petites colonies entourées d'une β hémolyse	Plusieurs types de colonies avec un verdissement de milieu	Négatif
20	Des petites colonies semi transparentes avec un halo clair	Des petites colonies beiges avec un halo vert	négatif
21	Des colonies transparentes	Négatif	négatif
22	Des petites colonies avec une zone de β hémolyse	Halo vert autour des colonies	negatif
23	Des zones de β hémolyse autour des colonies	négatif	négatif
26	Des petites colonies de couleur jaunes, entourées de β hémolyse	Halo vert autour des colonies	négatif
27	Hémolyse β dans le milieu	Petites colonies entourées d'un halo vert	Négatif

Annexe 8

Tableau : les résultats obtenus après la lecture des galerie API 20 strep des cultures bactériennes positive chez les enfants symptomatiques

Prélèvement positif	Code api strep	Espèce identifiée
01	7061400	<i>Streptococcus constellatus</i>
02	4343650	<i>Enterococcus faecium</i>
04	7050400	<i>Streptococcus pyogenes</i>
07	7177550	<i>Streptococcus intermedius</i>
08	7071400	<i>Streptococcus constellatus</i>
09	7637550	<i>Aerococcus viridans</i>
12	7777552 7776552	<i>Streptococcus uberis</i> <i>Aerococcus viridans</i>
15	7001410	<i>Aerococcus viridans 2</i>
17	5660454	<i>Streptococcus anginosus</i>
19	7326330	<i>Aerococcus viridans</i>
20	7376550	<i>Enterococcus faecium</i>
25	4343454	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
26	4351471	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
28	6561404	<i>Streptococcus pyogenes</i>
29	7346550	<i>Enterococcus avium</i>
30	7176550	<i>Streptococcus intermedius</i>

Tableau : les résultats obtenus après la lecture des galerie API 20 strep des cultures bactériennes positive chez les enfants asymptomatiques

Prélèvement positif	Code api strep	Espèce identifiée
05	7166550	<i>Streptococcus intermedius</i>
06	6071416	<i>Streptococcus intermedius</i>
07	4000412	<i>Aerococcus viridans 2</i>
09	4346754	<i>Enterococcus avium</i>
10	2027754	<i>Aerococcus viridans 1</i>
12	4347750	<i>Enterococcus faecium</i>
13	7146750	<i>Enterococcus avium</i>
16	7000400	<i>Streptococcus intermedius</i>
17	4361471	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
18	7001410	<i>Aerococcus viridans 2</i>
19	7061400	<i>Streptococcus constellatus</i>
20	3463724	<i>Streptococcus agalatae</i>
21	7471704	<i>Streptococcus agalatae</i>
22	7051400	<i>Streptococcus constellatus</i>
23	7166750	<i>Enterococcus avium</i>
26	7071400	<i>Streptococcus constellatus</i>
27	7376550	<i>Streptococcus faecium</i>