

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET CDE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE
LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIES, ENVIRONNEMENT ET SANTE

MEMOIRE DE MASTER EN BIOLOGIE

OPTION : MICROBIOLOGIE

THEME

**Portage nasopharyngé de *Streptococcus pneumoniae*
chez les enfants asymptomatiques de moins de 5 ans.**

Présenté par

MAZROU Nesrine

ZERARKA Kenza

Président	CHELGHOU M. H.	MAA	USDB1
Examineur	BOUKRETA S.	MAA	USDB1
Promoteur	ZIANE H.	MCA	CHU Mustapha Pacha
Co-Promoteur	AISSANI-EL FERTAS R.	MCB	USDB1

Année universitaire : 2017 2018

Nous remercions Dieu Le Généreux, Le Tout Puissant qui a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas et qui nous a honorés d'être parmi ceux qui savent lire et écrire, Dieu merci de nous avoir donné le courage et la patience pour achever ce travail.

Nous tenons, sincèrement, à présenter nos vifs remerciements ainsi que notre profonde reconnaissance à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Nous remercions chaleureusement notre promotrice, le Dr. Ziane H., sans qui ce travail n'aurait pu avoir lieu. Merci de nous avoir accueillies au laboratoire de Microbiologie et au sein de votre équipe. Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail, et pour tous les encouragements que vous nous avez témoigné durant ce bref mais très enrichissant stage pratique. Nous remercions, également, le Dr. Aissani-El Fertas R., d'avoir co-encadré ce travail.

Nous souhaiterions que les membres de ce jury de mémoire de Master, soit assuré de notre profonde gratitude. C'est un grand honneur de soumettre notre travail à votre regard scientifique. Merci Mme. Chelghoum H. de présider le jury, c'est un honneur de vous avoir parmi nous. Mme. Boukreta S., permettez-nous de vous témoigner notre vive reconnaissance et notre profond respect. Merci d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons, aussi, à remercier tous les enseignants du département de Biologie et Physiologie Cellulaire, particulièrement, l'équipe de de Microbiologie, à leur tête le Dr. Hamaidi F., qui nous ont transmis le goût du savoir et de la science.

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents.

A mon très cher époux.

A ma très chère sœur et mes frères.

Et à mon chère binôme.

Kenza.

Tout d'abord, louange à Allah qui m'a guidée sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspirée les bons pas et les justes reflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Je dédie ce mémoire à :

Mes parents qui m'ont œuvrés pour ma réussite, leurs soutiens et de leurs amour infini, tous les sacrifices et précieux conseils, ainsi l'assistance total et l'aide d'avancer dans la vie, recevons à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

L'ensemble de la famille grand et petit pour leurs soutiens tout au long de mon parcours universitaire, suivi par de plus grande ampleur d'encouragement et de motivation.

A mon binôme de part du travail laborieux et son entière compassion et compréhension conjointé, sans oublier sa famille qui m'ont orienté durant toute cette période.

A toute personne m'ayant aidé de près et de loin.

Que dieu leur accorde santé, longue vie, bonheur et succès pleins de prospérités.

Nesrine.

Le pneumocoque a été et continue d'être parmi les principales causes de la misère humaine et de la mort. Il est à l'origine de nombreuses, y compris l'otite moyenne, les pneumonies, la septicémie et la méningite. En tant que colonisateur commensal du nasopharynx, le pneumocoque est le prototypique pathogène opportuniste.

Cette étude rapporte la fréquence du portage nasopharyngé de *Streptococcus pneumoniae* chez des enfants asymptomatiques moins de 5 ans, ainsi que leur sensibilité à différents antibiotiques. Un écouvillonnage nasal a été réalisé chez 210 enfants au niveau de la PMI à l'hôpital Mustapha Pacha, et au cours des visites systématiques de suivi des vaccinations de février à avril 2018. Un totale de 64 souches de *S. pneumoniae* ont été isolées. Le portage de pneumocoque a été retrouvé chez 30 % des enfants. Cette colonisation est dépendante de différents facteurs de risques dont aucun n'a été constaté dans notre étude. Cependant, le portage d'autres bactéries dans le nasopharynx a été révélé comme facteur protecteur. Parmi les pneumocoques, 56 % sont des Pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline, et 47 % sont des bactéries multirésistantes. Les pourcentages de résistance des pneumocoques aux autres familles d'antibiotiques, à l'érythromycine, au cotrimoxasol, à la clindamycine, à la tétracycline et la chloramphénicol sont respectivement de 69 %, 64 %, 44%, 36 %, 6%. 20 profils de résistance aux antibiotiques ont été mis en évidence.

Cette étude nous a permis de confirmer, d'une part, l'évolution du portage de *S. pneumoniae* dans le nasopharynx des enfants de moins de 5ans, et d'autre part, la présence de souches multirésistantes aux antibiotiques caractérisées par une diversité phénotypique importante.

Mots clés : *Streptococcus pneumoniae*, portage nasopharyngé, facteurs de risque, résistance aux antibiotiques.

باښل کڼډ يډ امې، يسيښل بايس وه اډه. رش بلا تومو س وبل قېښل بايسل انېن ل ازت ل او قېښل تاروکل تانک، يويول باهلا او، بسولا نډلا، يطاعنم رمعسک. ايحسلا باهلا او مډلا نډعو ضرمل يه قېښل تاروکل يطمزلا يزاښل.

تاوس 5 ن ع مهرا م ع ل و ب يتلا ءاحصلا ل ا ف ط ل ا د ن ع قېښل تاروکل ب ن ل ا موعبلا ل و ن ل ا قريو ر ق ت س ا ر د ل ا ه ذ ه ن ف ط ص م ب ف ت س م ف ص و ن س م ب و ت س م ي ل ع ل ن ط 012 ي ل ع ف ن ل ا ا ح س م ء ا ر ج ا م ت . ق ن ل ت خ م ل ا قېښل ت ا د ا ض م ل ا ا ه ن ي س ا س ح و ن م ق د ت م ق ن م ز ق ر ت ل ل ا خ ک ل ا ذ و ح ي و ل ن ا ق ع ا ت م ل ق ن ن و ر ل ا ت ا ر ا ي ز ل ا قېښل تاروکل ل ل ا خ ، ا ش ا ب ل ي ر ب ا ي ل ا ر ي ا ر ب 0212 . ل م ا و ع ي ل ع ر ا م ع س ل ا ا ذ ه د م ت ع ي . ل ا ف ط ل ا ا ن م % 02 ي ف ا ه پ ل ع ر و ن ع ل ا م . قېښل تاروکل ن م ق ن ل ا س 46 ه ع و م ج م ل ن ع م ت ي ن ل ا م موعبلا ي ف ب ر خ ل ا ا ا ب ر ي ن ک ب ل ل و ن ن ع ف ش ک ل ا م ت ، ک ل ذ ع م و . ا ن ت س ا ر د ي ف ا ه ن م ي ا ي ل ع ر و ن ع ل ا م ت ي م ل ، ق ن ل ت خ م ق ز ف ح م و ن ب ل س ي ز ب ل ا ق ن س ا س ح ل ا ق ن خ م ت ن ا ک ا ه ن م % 54 ق ل و ز ع م ل ا ت ل ا س ل ا ن ي ب ن م و ، قېښل تاروکل ن م . ي ن ا ق و ل م ا ع ک % 64 . ن ي س ي م و ر ن ي ر ل ا : قېښل ت ا د ا ض م ل ا ن م ب ر خ ا ت ل ا ي ا ع ي ل ا قېښل تاروکل م ل ا ق م و ا ق م ب س . ق د د ع ن م ق م و ا ق م ت ا ذ ت ن ا ک ا ه ن م م ، % 4 و % 44 04 ، % 46 ، % 46 ي ل ا و ت ل ا ي ل ع ي ه ل و ک ن ي ن م ا ر و ل ک ل ا و ن ي ک ي س ا ر ت ت ل ا ، ن ي س ي ا م ا د ن ي ک ل ا ، ل و ز ا س ک و م پ ر ت و ک ل ا ي ل ع ف ش ک ل ا 02 قېښل ت ا د ا ض م ل ا ق م و ا ق م ح م ل ا م . ن م و ، ق س م ا خ ل ا ن س ن و د ل ا ف ط ل ا ل ب ن ل ا موعبلا ي ف قېښل تاروکل ل م ح ر و ط ن ، ق ه ج ن م ، د ب ک ا ن م ق س ا ر د ل ا ه ذ ه ا ن ن ک م م ه م ي ر ه ظ م ع و ن ب ز ي م ن قېښل ت ا د ا ض م ل ا ق د د ع ن م ق م و ا ق م ت ا ذ ت ل ا ل ا س د و ج و ، ب ر خ ا ق ن ح ا ن

قېښل ت ا د ا ض م ل ا د ص ق م و ا ق م ل ا ، ر ط خ ل ا م ا و ع ، ي م و ع ب ل ل و ن ل ا ، قېښل تاروکل م ل ا : ق ن ل ت ف م ل ا ت ا م ل ک ل ا

Pneumococcus has been and continues to be among the leading causes of human misery and death. It is the cause of many, including otitis media, pneumonia, sepsis and meningitis. As a commensal colonizer of the nasopharynx, pneumococcus is the prototypical opportunistic pathogen.

This study reports the frequency of nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in asymptomatic children under 5 years, as well as their sensitivity to different antibiotics. Nasal swabbing was performed in 210 children at the PMI level at the Mustapha Pacha hospital, and during routine immunization follow-up visits from February to April 2018. A total of 64 strains of *S. pneumoniae* were isolated. Carriage of pneumococcus was found in 30% of children. This colonization is dependent on various risk factors, none of which were found in our study. However, carriage of other bacteria in the nasopharynx has been revealed as a protective factor. Of the pneumococci, 56% are PSDPs and 47% are multidrug-resistant bacteria. The percentages of pneumococcal resistance to other families of antibiotics, erythromycin, cotrimoxazol, clindamycin, tetracycline and chloramphenicol are 69%, 64% and 36%, 6%, respectively. 20 antibiotic resistance profiles were highlighted.

This study enabled us to confirm, firstly, the evolution of *S. pneumoniae* carriage in the nasopharynx of children under 5 years, and secondly, the presence of multidrug-resistant strains with antibiotics characterized by a phenotypic diversity. important.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, nasopharyngeal carriage, risk factors, antibiotic resistance.

INTRODUCTION	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3-20
I. Flore microbienne	3
II. Flore pharyngée	4
II. 1. Famille des <i>Streptococcaceae</i>	6
II. 2. Genre <i>Streptococcus</i>	6
III. L'espèce <i>Streptococcus pneumoniae</i>	8
III. 1. Caractéristiques bactériologiques de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	10
III. 1. 1. Caractères cultureux	10
III. 1. 2. Caractères morphologiques	10
III. 1. 3. Caractères biochimiques	11
III. 1. 4. Caractères antigéniques	11
III. 2. Pouvoir pathogène de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	13
III. 2. 1. Les éléments de surface du pneumocoque intact	14
III. 2. 2. Facteurs exprimés après la lyse du pneumocoque	14
III. 3. Infection à pneumocoques	15
III. 3. 1. Infections non invasives	15
III. 3. 2. Infections invasives	15
III. 3. 3. Etapes de l'infection par <i>Streptococcus pneumoniae</i> :	16
III.4 Résistance aux antibiotiques	16
III. 5. Pneumocoque et immunité	17
IV. Thérapies anti-pneumococcique	19
IV. 1. Antibiothérapies	19
IV. 2 Vaccinothérapie	19

MATERIEL ET METHODES	21-30
I. Matériel :	21
I. 1. Matériel biologique :	21
I. 2. Matériel non biologique	21
II. Méthodes	22
II. 1. Examen macroscopique des colonies	23
II. 2. Examen microscopique après coloration de Gram	23
II. 3. Identification bactérienne	24
II. 3. 1. Test de catalase	24
II. 3. 2. Sensibilité à l'optochine	25
II. 3. 3. Solubilité dans la bile	26
II. 4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	28
II. 5. Etude de l'antibio-résistance par automate MicroScan Walkaway	28
III. Etude statistique	30
RESULTATS ET DISCUSSION	31-43
I. Analyse descriptive des caractéristiques sociodémographiques des enfants asymptomatiques	21
II. Analyse du portage de <i>S. pneumoniae</i> chez les enfants asymptomatiques	33
II. 1. Taux de portage de <i>S. pneumoniae</i> chez les enfants asymptomatiques	33
II. 2. Taux de portage nasopharyngé selon le mois d'étude	34
II. 3. Taux de positivité du portage nasopharyngé selon les tranches d'âge	35
II. 4. Etude comparative de certaines caractéristiques de la population étudiée	36
III. Etude de la sensibilité des souches de <i>S. pneumoniae</i> aux antibiotiques	38
III. 1. Etude de la sensibilité des souches de <i>S. pneumoniae</i> aux antibiotiques par antibiogramme	38
III.2 Profil de résistance	42
CONCLUSION	44
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES 1	

Nouveau calendrier vaccinal en Algérie	i
ANNEXES 2	
Fiche de renseignement pour le portage nasopharyngé de <i>S. pneumoniae</i> .	ii
Matériel non biologique utilisé	iii
L'automate MicroScan Walkaway qui permet l'identification des germes et leur antibiogramme	iv
Composition des milieux de culture	v

Figure 1 : Représentation schématique des composants cellulaire	12
Figure 2 : Facteurs de virulence de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	13
Figure 3 : Etapes de l'infection par <i>Streptococcus pneumoniae</i>	17
Figure 4 : Schéma récapitulatif de l'identification de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	21
Figure 5(a) : observation de <i>S. pneumoniae</i> après coloration de Gram sous microscope optique GX 100	23
Figure 5(b) : observation de <i>S. pneumoniae</i> après coloration de Gram sous microscope optique GX 100	
Figure 6 : Test de Sensibilité à l'optochine de <i>S. pneumoniae</i>	24
Figure 7 : Etapes de préparation de plaque Micro STREP plus	28
Figure 8 : Taux de portage de <i>S. pneumoniae</i> chez les enfants asymptomatiques de moins de 5 en 2018	31
Figure 9 : Taux de positivité du portage nasopharyngé asymptomatique selon les tranches d'âges	33
Figure 10 : Résultats de l'étude de la résistance aux antibiotiques dans le portage nasopharyngé de <i>S. pneumoniae</i>	37

Tableau I : Microflore normale de l'homme	4
Tableau II : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	26
Tableau III : Concentrations et diamètres critiques pour <i>Streptococcus pneumoniae</i>	27
Tableau IV : Analyse descriptive des caractéristiques sociodémographiques des enfants asymptomatiques	29
Tableau V : Répartition des souches de <i>S. pneumoniae</i> en fonction des mois	32
Tableau VI : Etude comparative de certaines caractéristiques étudiées	35
Tableau VII : Concentrations minimales inhibitrices de la pénicilline concernant 17 souches, déterminées par l'automate MicroScane Walk away	38
Tableau IIX : Profil de résistance de l'ensemble des souches de <i>S. pneumoniae</i>	39

Tableaux annexes

Tableau 1 : Nouveau calendrier vaccinal en Algérie	i
Tableau 2 : Matériel non biologique utilisé	iv

ADN : Acide désoxyribonucléique

Adr : Atténuateur de résistance aux médicaments

ATCC : American Type Collection Culture

BMR : Bactérie multirésistante

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CbpA : Choline binding protein

CHL : Chloramphénicol

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CLSI : Clinical Laboratory Standard Institute

CMI : Concentrations minimales inhibitrice

CMN : Clindamycine

Dhfr : Dihydrofolate-réductase

Ery : Erythromycine

FqAP : Fluoroquinolones anti-pneumococcique

GSF : Gélose au sang frais

H₂O : Peroxyde d'hydrogène

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobulines M

LCR : Liquide céphalo-rachidien

LytA : Autolysine A

MDR : Multiple Drug Resistant

MH : Mueller-Hinton

MLST : Multi-Locus Sequence Typing

MRS : Milieu Man Rogsa et Sharpe

Nan A : Neuraminidase

OMA : Organisation mondiale de la santé

OXA : Oxacilline

PAC : Pneumopathie aigue communautaire

PCV 13 : Vaccin antipneumococcique 13 valents

PgdA : Peptidoglycane N-acétylglucosamine déacétylase

PLP : Protéines liant la pénicilline

PMI : Protection maternelle et infantile

PR : Profil de résistance

PSDP : Pneumocoque de sensibilité diminuée à la penicilline

PspA : Pneumococcal surface protein A

PspC : Pneumococcal surface protein C

PT : Pristinamycine

Spn : Souche *Sreptococcus pneumoniae*

SXT : Cotrimoxasole

TEI : Teicoplanine

TET : Tétracycline

Tn : Transposon

VA : Vancomycine

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

WHO : World Health Organization

Introduction

Streptococcus pneumoniae est un commensal habituel du nasopharynx de l'enfant dont la colonisation débute dès les premiers mois de la vie et atteint son maximum vers l'âge de 2 à 3 ans (**Bingen, 2005**). Ce portage pourrait être la source d'une dissémination de *S. pneumoniae* entre différents hôtes et la première étape vers une maladie invasive (**Weizer et al., 2018**). En effet, le pneumocoque représente une cause importante de morbidité et de mortalité en pathologie infectieuse pédiatrique ; il occupe actuellement la première place des infections bactériennes invasives de l'enfant âgé de trois mois à deux ans (pneumopathies, bactériémies, méningites, arthrites et mastoïdites) et la deuxième place des otites moyennes aiguës (**Bingen, 2005**).

S. pneumoniae est naturellement sensible à tous les antibiotiques notamment aux β -lactamines, mais dès 1979 sont apparues les premières souches de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline G. Depuis, une augmentation continue du nombre de ces souches a été observée, tout en devenant en quelques années un véritable problème de santé publique, alors que la pénicilline, fut longtemps l'antibiotique de choix des infections à pneumocoques (**Ferroni et Berche, 2000 ; Brieu et al., 2015**).

En raison de l'émergence de la résistance du pneumocoque et devant l'absence actuelle d'alternatives thérapeutiques, les espoirs résident dans la mise à disposition d'une vaccination généralisée (**Bingen, 2005**). En bloquant la colonisation ou l'état de porteur, les taux de transmission dans la communauté pour les souches incluses dans les formulations vaccinales, ont diminué tout en procurant une immunité collective aux populations non vaccinées (**Ahmad et al., 2018**). L'effet de la vaccination sur le portage a fait l'objet de plusieurs études, comparant le taux de portage d'un sérotype dans une population donnée avant et après vaccination, ou bien dans la même période, des vaccinés et des non vaccinés (**Gehanno et al., 1995**).

La colonisation des voies aériennes supérieures précède généralement l'infection, il est donc intéressant de connaître les facteurs de risque de ce portage (**Warda et al., 2012**) et de déterminer les sérotypes des souches présentes qui reflèteront celles qui sont en circulation et qui seront potentiellement pathogènes. Il est tout aussi important de surveiller le niveau de résistance des souches de *S. pneumoniae* isolées à partir du nasopharynx, le point de départ des infections invasives.

Dans le cadre du projet de fin d'étude, nous avons réalisé une étude au sein du service de microbiologie de l'hôpital Mustapha PACHA d'Alger. Ce travail avait pour objectif de déterminer les fréquences de portage nasopharyngé de *S. pneumoniae*, chez les enfants

asymptomatiques âgés de moins de 5 ans. L'exploitation de ces résultats présenterait plusieurs intérêts épidémiologiques et thérapeutiques.

Cette étude nous permet le suivi, d'une part, de l'évolution du portage de *Streptococcus pneumoniae* au sein de la population infantile algérienne, et d'autre part, de la résistance de ces souches aux différents antibiotiques utilisés en thérapie. Le rôle de la vaccination et l'étendue de la couverture vaccinale sera mieux appréciée grâce à ces données. Le clinicien saura orienter le choix des thérapies, dans le cas d'une infection, vers des molécules plus ciblées. Du point de vue biologique fondamentaliste, ce travail peut contribuer au développement des connaissances liées aux interactions hôtes-pathogènes, et à la compréhension des mécanismes à l'origine de la transition commensal-pathogène opportuniste.

Rappels
Bibliographiques

I. Flore microbienne:

Le microbiote est un écosystème complexe formé par l'ensemble des microorganismes (bactéries, champignons, virus) qui résident dans un site corporel donné, comme la peau ou la cavité orale, avec lesquels il entretient une relation de symbiose mutuelle (**Stedman et al., 2016**).

Chez l'homme, la flore normale est associée à différents tissus et muqueuses parmi lesquels nous citons : le tractus gastro-intestinal, la cavité orale, le nez, pharynx, la gorge, les yeux, la peau le tractus urinaire et l'appareil génital (**Corthier et Doré, 2010**). Le **tableau I** représente les principales espèces colonisatrices des différents tissus de l'organisme humain.

Le microbiote est constitué de plus de mille milliards de cellules et vit en étroite collaboration fonctionnelle avec l'hôte. Il contribue à son développement biologique dès la naissance, le protège contre les pathogènes et l'informe des changements qualitatif et quantitatif de son alimentation. Bien que les bactéries du microbiote, en particulier le microbiote intestinal, utilisent à leur profit les ressources disponibles chez leur hôte, elles exercent aussi des effets physiologiques bénéfiques. Notamment, elles apportent des activités enzymatiques non codées par le génome de leur hôte qui sont cruciales pour extraire l'énergie provenant de l'alimentation de ce dernier, et modifient ainsi son métabolisme. Les bactéries commensales jouent également un rôle protecteur vis-à-vis de l'invasion par des pathogènes, tout en régulant la maturation du système immunitaire intestinal, la croissance post-natale, et peut même influencer l'activité cérébrale (**Bouladoux et al., 2013 ; Burcelin et al., 2013 ; Stedman et al., 2016**).

La ligne de démarcation entre flore normale et flore pathogène n'est pas toujours claire. Prenons par exemple les méningocoques ou les pneumocoques, qui sont des pathogènes capables de donner des méningites, des pneumonies voir même des septicémies. Les uns comme les autres sont retrouvés dans la gorge d'environ 10% de sujets sains. Ce sont donc des germes commensaux de la flore normale chez ces individus. Ils peuvent aussi coloniser la gorge de façon sporadique, par conséquent, ils seront des membres transitoires de la flore normale (**Eisenstein et Schaechter, 1993**).

Tableau I : Microflore normale de l'homme (Madijan et al., 2015).

Sites anatomiques	Bactéries les plus fréquemment retrouvées
Peau	<i>Acinetobacter, Corynebacterium, Enterobacterie, Klebsiella, Malassezia, Micrococcus, Proprionibacterium, Proteus, Pseudomonas, Staphylococcus, Streptococcus.</i>
Bouche	<i>Streptococcus, Lactobacillus, Fusobacterium, Veillonella, Corynebacterium, Neisseria, Actinomyces, Geotrichum(f), Candida, Capnocytophaga, Eikenella, Prevotella, spirochetes</i>
Tractus respiratoire	<i>Streptococcus, Staphylococcus, Corynebacterium, Neisseria, Haemophilus</i>
Tractus gastro-intestinale	<i>Lactobacillus, Streptococcus, Bacteroides, Bifidobacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Ruminococcus, Clostridium, Escherichia, Klebsiella, Preteus, Enterococcus, Staphylococcus, Methanobrevibacte, bacterie à Gram positif, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria</i>
Tractus urogénital	<i>Escherichia, Klebsiella, proteus, Neisseria, Lactobacillus, Corynebacterium, Staphylococcus, Candida(f), Prevotella, Clostridium, Peptostreptococcus, Ureaplasma, mycolasma, mycobaterium, Streptococcus, Torulopsis</i>

II. Flore nasopharyngée :

Les narines et surtout le pharynx sont des sites abondamment colonisées, avec environ 10^8 bactéries/ml de sécrétion pharyngée. Le larynx et le tractus respiratoire inferieur (trachée, bronches et alvéoles pulmonaires) sont au contraire quasiment indemnes de bactéries, grâce à la présence d'une épaisse couche protectrice de mucus et de cils vibratiles de l'épithélium qui chassent les micro-organismes vers le pharynx. Les mêmes conditions défavorables à la colonisation bactérienne sont retrouvées au niveau des sinus et des fosses nasales, où peu de

bactéries se développent dans les conditions physiologiques normales. Les espèces *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Moraxella catarrhalis* font exception à la règle, puisqu'elles font partie de la flore normale des fosses nasales. La plupart des bactéries présentes au niveau des narines sont semblables à celles de la flore cutanée, avec principalement des staphylocoques, des corynébactéries, des propionibactéries, des streptocoques α -hémolytiques (streptocoques viridans) et, dans une moindre mesure, des microcoques et *Neisseria*. Ce sont les staphylocoques coagulase négatifs qui sont dominants, en particulier l'espèce *Staphylococcus epidermidis*. Les espèces *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Moraxella catarrhalis* peuvent aussi faire partie du microbiote nasal normal **(Coudeyras et Forestier, 2010)**.

Le rhinopharynx de l'enfant est colonisé par une flore bactérienne riche et variée et présente un écosystème complexe qui, d'une part constitue un effet barrière contre les bactéries étrangères, et d'autre part est un réservoir de germes potentiellement pathogènes. Ainsi, *Streptococcus pneumoniae*, appartient à cette flore et est incriminée dans les principales infections communautaires du jeune enfant (otite moyenne aiguë, pneumonie) **(Mudhune et Wamae, 2009 ; Chavanet et al., 2011)**.

Le pourcentage d'enfants colonisés par *S. pneumoniae* est dépendant de différents paramètres. Il est augmenté par le jeune âge des enfants, la garde en collectivité, la présence de frères et sœurs, les conditions socio-économiques défavorables, principalement la promiscuité, la saison et la présence d'une infection virale concomitante. L'antibiothérapie augmente le pourcentage de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline **(Raymond et al., 2002)**.

Le portage des pneumocoques chez le sujet sain a fait l'objet de peu d'étude à travers le monde, montrant des taux variables **(Dunais et al., 2012)**. En France le taux de portage asymptomatique était de 33,2 % et 47,2 % au cours des deux périodes pré (2008-2009) et post (2012-2013) vaccination par le PVC 13. **Abdullahi et al. (2008)**, **Joloba et al. (2001)** et **Hill et al. (2006)** ont démontré une prévalence de colonisation nasopharyngé chez des enfants africains moins de 5 ans, avec des fréquences qui variaient entre 22 % et 90% au Kenya et en Gambie respectivement. A Marrakech, le portage de *S. pneumoniae* a été retrouvé chez 45,8% des enfants de moins de deux ans **(Bouskraoui et al., 2011)**. En 2012 la fréquence de portage a atteint 30 % chez les enfants asymptomatiques en Algérie **(Ziane, 2015)**.

II.1. Familles des *Streptococcaceae* :

En 1874, le chirurgien viennois C. Bilroth observe dans des lésions d'érysipèle un micro-organisme en forme de chaînettes. En 1875, L. Pasteur observe le même micro-organisme dans les sécrétions vaginales et le sang de malades atteints de fièvre puerpérale. S. Coze et Feitz ont précédé L. Pasteur en observant, lors d'une épidémie de fièvre puerpérale, dans le sang d'une femme décédée, de nombreux "points" disposés en chaînettes. En 1884, Rosenbach décrit avec précision *Streptococcus pyogenes*. Au début du 20^{ème} siècle, M. Schottmuller fait une relation entre le caractère hémolytique des souches et son pouvoir pathogène ; Brown utilisa ce caractère comme critère de classification. En 1933, Rebecca Lancefield établit la classification moderne des streptocoques basée sur les propriétés antigéniques des hydrates de carbone (Avril et al., 1992).

Les familles des *Streptococcaceae* et des *Enterococcaceae* comprennent des cocci à Gram positif dépourvus de catalase et de cytochrome oxydase. Ils produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose et sont anaérobies-aérotolérants. Parmi toutes ces bactéries, les espèces des genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont le plus souvent impliquées en pathologie humaines (Denis et al., 2016).

L'absence de catalase et l'aspect caractéristique en paires (diplocoques) ou en chaînette permettent de distinguer les *Streptococcaceae* des *Micrococcaceae*. L'analyse de la structure chimique du peptidoglycane est à la base de la chimio-taxonomie qui était particulièrement utilisée pour la classification des streptocoques (Denis et al., 2016).

L'identification des Streptocoques repose sur l'étude des caractères morphologiques, culturels, antigéniques et biochimiques, et sur l'étude de la résistance éventuelle à des antibiotiques tels que la vancomycine. Les techniques moléculaires d'analyse des gènes des ARN ribosomiques ou de la superoxyde dismutase permettent l'identification des espèces difficiles à identifier par les techniques phénotypiques conventionnelles (Denis et al., 2016).

II. 2. Genre *Streptococcus* :

Les streptocoques sont ceux parmi les *Streptococcaceae* les plus souvent impliqués en pathologie humaine. Le genre *Streptococcus* comprend 113 espèces dont l'espèce type est *S. pyogenes*, décrite en 1884 par Rosenbach. Certaines espèces sont très virulentes telles que *S. pyogenes* et *S. pneumoniae* pouvant être à l'origine d'infections graves chez l'homme. D'autres

espèces sont le plus souvent commensales mais peuvent devenir, dans certaines circonstances, des pathogènes « opportunistes ». C'est le cas des streptocoques oraux responsables d'endocardites ou de syndrome de détresse respiratoires. D'autres espèces causent des lésions d'évolution subaiguë, comme *Streptococcus mutans* responsable de caries dentaires par exemple (Denis et al., 2016). La majorité des streptocoques (à l'exception des groupes A, C et G considérés comme des pathogènes) appartiennent à la flore commensale des cavités naturelles de l'homme : le rhino-pharynx, la cavité buccale, le tractus digestif, les voies génitales, où adhèrent à ces épithéliums et les colonisent (Robert, 2010).

Le genre *Streptococcus* est constitué de cocci à Gram positif, anaérobies facultatifs, non sporulants, catalase et oxydase négatifs, homofermentaires et forment des cellules disposées en chaînes ou en paires (Gillespie et Hawkey, 2006). En culture, certaines espèces ou souches se multiplient plus facilement en anaérobiose (*Streptococcus intermedius*) ou en présence de CO₂ (*S.pneumoniae*, *S.mutans*). Ils se multiplient en milieu Man, Rogsa et Sharpe (MRS) sans production de gaz, contrairement aux *Leuconostoc*. Les streptocoques nécessitent pour leur multiplication de nombreux facteurs de croissance présents dans les milieux de culture complexes tels que les géloses trypticase soja et Columbia (Denis et al., 2016).

Il n'existe pas de critères uniques qui permettent de classer les différentes espèces du genre *Streptococcus*. La classification usuelle fait appel à l'étude de trois types de caractères biologiques.

- **L'hémolyse :**

La détermination de l'hémolyse sur des plaques de gélose au sang est une caractéristique utile pour l'identification des streptocoques. Les membres de ce genre peuvent être largement divisés en groupes β -hémolytiques (pyogènes) et non- β -hémolytiques. Ce dernier groupe comprend des espèces qui sont α -hémolytiques sur gélose au sang (les streptocoques viridans qui produisent une décoloration verdâtre entourant les colonies sur des plaques de gélose au sang) ainsi que des souches non hémolytiques (γ -hémolytiques) (Gillespie et Hawkey, 2006).

- **La classification de Lancefield (1933) :**

Cette classification s'appuie sur des critères immunologiques qui permettent de détecter des antigènes spécifiques de groupe. La plupart des espèces de streptocoques, notamment bêta-hémolytiques, possèdent dans leur paroi un polysaccharide C dont la composition et les propriétés antigéniques permettent de définir des groupes sérologiques. La classification de Lancefield distingue 20 groupes sérologiques désignés par des lettres de A à H et de K à W (Avril, 1992).

- **Caractères cultureux et métaboliques :**

Ils permettent de classer les espèces non groupables par la méthode de Lancefield, mais aussi au sein de certains groupes de Lancefield de reconnaître différentes espèces : c'est le cas par exemple du groupe C qui est constitué de 4 espèces : *S. equi*, *S. equisimilis*, *S. dysgalactiae* et *S. zooepidemicus* (Avril, 1992).

III. L'espèce *Streptococcus pneumoniae* :

Le pneumocoque a été découvert en 1881 simultanément par Sternberg aux États-Unis, qui l'a nommé *Micrococcus pasteurii*, et par Pasteur en France, qui l'a nommé Microbe septicémique de la salive (Watson et al., 1995). L'identification de cet organisme comme la cause la plus fréquente de la pneumonie lobaire a conduit à l'utilisation commune du terme pneumocoque, et sa morphologie microscopique dans les expectorations Gram-colorées l'a mené à être renommé *Diplococcus pneumoniae* en 1926. Basée sur sa capacité à former des chaînes courtes dans des milieux liquides, l'organisme a ensuite été reclassifié dans le genre *Streptococcus* en 1974 et son nom a changé pour *Streptococcus pneumoniae* (Gillespie et Hawkey, 2006). Le pneumocoque a joué un rôle central dans l'élucidation du processus d'opsonisation dans les années 1890, fournissant la base de notre compréhension de l'immunité humorale. L'un des rôles les plus importants joués par le pneumocoque dans l'expansion de notre compréhension de la science, était dans la découverte de la molécule d'ADN par la mise en évidence du processus de transformation dans les années 1920 par Griffith (1928). Ce processus est resté quelque peu mystérieux jusqu'aux années 1940, quand Avery, MacLeod et McCarty (1944) ont démontré que la transformation est médiatisée par le transfert de l'ADN et que l'ADN est en fait le vecteur de l'information génétique (Gillespie et Hawkey, 2006). Les espèces principales du genre *streptococcus* se répartissent dans 4 ensembles et sous-ensembles (Delarras, 2010) :

- ✓ L'ensemble « pyogènes ».
- ✓ L'ensemble « streptocoques oraux ».
- ✓ L'ensemble « streptocoques du groupe D ».
- ✓ L'ensemble « streptocoques non classés ».

L'espèce *S. pneumoniae* est incluse dans l'ensemble des streptocoques oraux et constitue à elle seule le sous-ensemble « or3 » (Warda et al., 2012), mais reste dans le Bergey's manual, édition 1986 parmi le groupe des « streptocoques pyogènes » ce qui peut se justifier compte tenu de la gravité des infections dont il est responsable. L'analyse de la séquence des gènes codant pour l'ARNr 16S, montre une parenté (98,5% d'homologie) avec *Streptococcus oralis* ce qui permet de le placer dans le groupe des "streptocoques oraux" (Bere, 2010).

La systématique de *S. pneumoniae* telle que citée dans le **Bergey's manual (2009)** est la suivante :

Règne : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillale

Famille : Streptococcaceae

Genre : *Streptococcus*

Espèce : *Streptococcus pneumoniae*

III. 1. Caractères bactériologiques de *S. pneumoniae* :

III. 1. 1. Caractères culturels :

La culture des pneumocoques nécessite des facteurs de croissance ; les géloses trypticase-soja ou Columbia enrichies en sang (5 %) sont les plus utilisées. La gélose « chocolat »

Polyvitex ® représente aussi un milieu favorable à la culture des pneumocoques. Comme pour les autres streptocoques, une atmosphère enrichie en CO₂ (5 à 10 %) voire une atmosphère anaérobie favorise la croissance des pneumocoques et l'expression de l'hémolysine après 24h à 36h d'incubation. L'hémolyse est généralement α , mais en anaérobiose on peut observer une hémolyse β (**Garnier et Denis, 2016**).

Elle se présente sous forme de petites colonies rondes de 0,5 à 1,5 mm de diamètre, lisses, bombées, brillantes, entourées d'une zone d'hémolyse partielle (alpha) donnant à la gélose une couleur verdâtre (décoloration verte autour des colonies). Le pneumocoque peut prendre un aspect de petites colonies "ombiliquées"; l'aspect concave de leur surface résulte de leur destruction par une autolysine. Certaines souches de pneumocoques sécrètent une plus grande quantité de capsules, ce qui augmente la taille des colonies et leur donne un aspect muqueux (**Warda et al., 2012**).

III. 1. 2. Caractères morphologiques :

Au Gram, les pneumocoques présentent une morphologie caractéristique; ce sont des cocci à Gram positif (**Garnier et Denis, 2016**) de diamètre inférieure à 2 μ m, immobile et asporulé, groupés en diplocoques ou en courte chaînette (**Brisou et al., 2004**), lancéolés et capsulés en forme de 8 ou présentant un aspect en « flamme de bougie ». Dans les produits pathologiques tels que le LCR, autres liquides de ponction ou prélèvements pulmonaires, la présence de cocci à Gram positif en diplocoques entourés d'un halo intra- ou extraleucocytaire est en faveur d'une infection à pneumocoque (**Garnier et Denis, 2016**).

Cependant, il faut savoir que l'aspect n'est pas toujours aussi évocateur. Par exemple, si l'environnement est carencé en magnésium, on peut observer des chaînettes relativement longues. Le même phénomène se produit en présence d'anticorps dirigés contre le sérotype capsulaire. Dans certains cas, si le malade est sous traitement, on peut voir des pneumocoques prendre des formes pseudobacillaires. Dans certains produits pathologiques fibrineux et dans les cultures anciennes, le pneumocoque prend mal le Gram et peut apparaître à Gram négatif (**Mariko, 2005**).

III. 1. 3. Caractères biochimiques :

Le pneumocoque est catalase négative et cytochrome oxydase négative. Il fermente le glucose, le lactose, le raffinose, et le saccharose, sans production de gaz. *S. pneumoniae* provoque une acidification et une coagulation du lait (**Bere, 2010**).

Deux caractères bactériologiques permettent la différenciation de *Streptococcus pneumoniae* des autres streptocoques :

- **Phénomène de Neufield** : Correspond à la lyse des pneumocoques par la bile et les sels biliaires (phénomène de Neufield). Les pneumocoques possèdent un système inhibiteur d'enzymes autolytiques qui est détruit par les agents tensioactifs comme la bile, le desoxycholate de sodium 10%. Ainsi l'addition de bile ou de sels biliaires à une culture neutralisée, active une autolysine, impliquée dans la division cellulaire, qui clive la liaison entre l'acide N-acétylmuramique et l'alanine. Le peptidoglycane est ainsi altéré et la bactérie apparaît soluble dans la bile (**Bere, 2010**).
- **Sensibilité à l'optochine** : L'optochine (éthylhydrocupréine) inhibe la croissance du pneumocoque à des concentrations qui seraient sans effet (5µg par disque) sur la plupart des autres bactéries du genre *Streptococcus*. Cette sensibilité est habituellement recherchée en utilisant un disque de papier imbibé d'une solution d'optochine à 0,5%. Cette distinction n'est pas toujours aussi évidente. En effet, 0,5 - 5% des pneumocoques sont résistants à l'optochine et streptocoques verdissants sont inhibés par l'optochine (**Bere, 2010**).

III. 1. 4. Caractères antigéniques :

Le pneumocoque possède plusieurs propriétés antigéniques relatives à l'expression de nombreux antigènes (**Figure 1**) dont :

- **Les antigènes capsulaires** : La plupart des souches de pneumocoques possèdent une épaisse capsule, qui consiste en des polymères de haut poids moléculaire constitués d'unités d'oligosaccharides répétés qui comprennent deux à huit monosaccharides. Les polysaccharides capsulaires sont spécifiques du sérotype. La structure chimique des polysaccharides de la capsule détermine la possibilité pour une bactérie d'un sérotype donné de survivre dans le sang

et de provoquer une maladie invasive. La spécificité antigénique de la capsule des pneumocoques, permet de distinguer plus de 95 sérotypes capsulaires différents, par des réactions d'agglutination, de précipitation ou de gonflement de la capsule (Quellung reaction) à l'aide d'anticorps spécifiques (Cohen et al., 2017 ; Bere, 2010).

- **Les antigènes somatiques** : Plusieurs protéines sont associées à la paroi du pneumocoque ; il s'agit d'enzymes synthétisant ou détruisant le peptidoglycane, les protéines liants la pénicilline et les autolysines et des protéines de structure (Bere, 2010).

- **La substance C** : Elle est spécifique d'espèce, c'est un polysaccharide constitué d'acide téchoïque. Sa composition chimique est analogue au polysaccharide C des streptocoques, mais elle est différente du point de vue antigénique (Bere, 2010).

- **L'antigène R** : Il est de nature protéique, commun avec d'autres streptocoques. Il est souvent inapparent car masqué par l'antigène capsulaire. Il est visible en microscopie électronique sur les souches R « rough » dépourvues de capsules (Bere, 2010).

- **L'antigène M** : Il est de nature protéique, spécifique de type, mais sans rapport avec la spécificité capsulaire. Il n'entraîne pas l'apparition d'anticorps protecteurs (Bere, 2010).

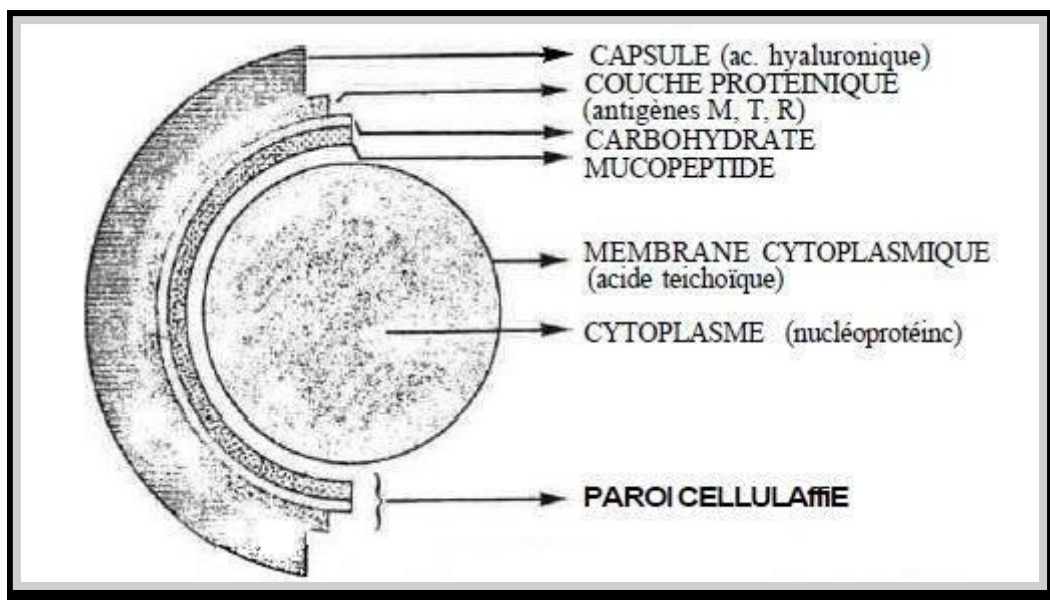


Figure 1 : Représentation schématique des composants cellulaires des pneumocoques (Ferron, 1984).

III. 2. Pouvoir pathogène de *S. pneumoniae* :

Le pouvoir pathogène des pneumocoques est lié à leur résistance à la phagocytose du fait de la présence d'une capsule protectrice, et à l'aptitude de ces bactéries à induire une réaction inflammatoire intense qui explique la gravité des symptômes et la fréquence de leur dissémination tissulaire (**Bere, 2010**). Les pneumocoques possèdent de nombreux facteurs de virulence (codés par plus de 125 gènes) (**Figure 2**), classés en fonction du type de réponse qu'ils induisent chez l'hôte. Il y a d'une part les éléments de surface du pneumocoque intact (capsule, PspA...) qui entravent la phagocytose *via* l'inhibition du complément et, d'autre part, les facteurs qui s'expriment lors de la destruction ou de la lyse du pneumocoque (pneumolysine, paroi et éléments associés) et qui conduisent à une réponse inflammatoire souvent délétère pour l'hôte *via* l'activation du complément. Les principaux facteurs de virulence produits par *S. pneumoniae* sont la capsule et la pneumolysine (**Rieux, 2002 ; Bere, 2010**).

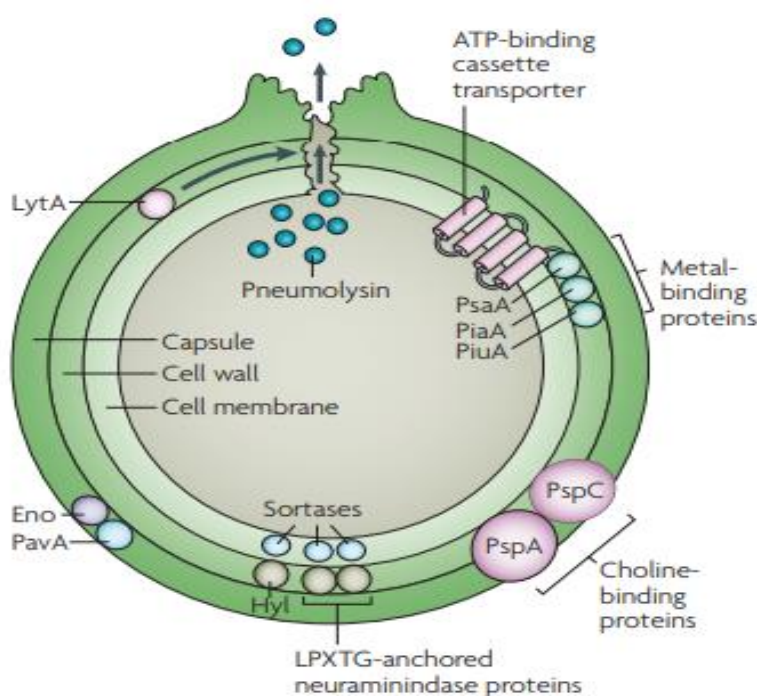


Figure 2: Facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae* (**Kadioglu, 2008**).

III. 2. 1. Les éléments de surface du pneumocoque intact :

- **La capsule :** C'est le premier facteur de virulence découvert et le plus important, ancrée dans le peptidoglycane de la paroi (**Rieux, 2002**), elle forme la couche la plus externe et a une épaisseur d'environ 200 à 400 nm (**Kadioglu et al., 2008**).

La virulence repose sur les caractéristiques différentes selon les sérotypes en ce qui concerne i) l'activation, le dépôt et la dégradation des composés du complément, ii) la résistance à la phagocytose et l'opsonisation ainsi que la capacité d'induire une production d'anticorps, et iii) la clairance dépendante de structures analogues aux lectines exprimées par les phagocytes. Le rôle de la capsule dans la virulence du pneumocoque est illustré par l'activité protectrice des anticorps dirigés contre les antigènes capsulaires (**Le Deist, 2002**).

- Les protéines de surface : PspA et PspC :

La protéine A de surface du pneumocoque PspA est une protéine de surface dont l'antigénicité varie d'une souche à l'autre et semble indispensable à la virulence du pneumocoque. Cette virulence est liée à l'inhibition de la fixation du complément par la PspA *via* la voie alterne (**Le Deist, 2002**). D'autre part, elle est capable de se lier à la lactoferrine (glycoprotéine humaine qui séquestre le fer), approvisionnant ainsi à la bactérie en fer nécessaire à sa croissance (**Rieux, 2002**). Les protéines PspA e PspC (ou CbpA) pourraient jouer un rôle d'adhésine, permettant l'adhésion du germe à l'épithélium du nasopharynx et sont de ce fait en partie responsables de l'invasion notamment neuroméningée (**Le Deist, 2002**).

III. 2. 2. Facteurs exprimés après la lyse du pneumocoque :

Parmi les facteurs exprimés après la lyse du pneumocoque les plus importants et les plus virulents, nous retrouvons la pneumolysine. Il s'agit d'une protéine de 53 kDa localisée dans le cytoplasme, elle est responsable de l'hémolyse de type α . Il s'agit d'une une toxine libérée dans le milieu extérieur sous l'action d'une autolysine, la LytA. Sa pathogénicité est d'une part liée à son activité cytotoxique sur les cellules respiratoires et endothéliales et d'autre part à un effet pro-inflammatoire (**Rieux, 2002 ; Hacini, 2011**).

III. 3. Infection à pneumocoques :

Les infections à pneumocoque représentent aujourd'hui un problème de santé publique. Le pneumocoque est une cause majeure des infections communautaires invasives mortelles, telles que les méningites, pneumonies bactériémies et septicémies et non invasives dites moins sévères mais plus fréquentes, comme les pneumonies non invasives, les otites moyennes aiguës et les sinusites du nourrisson et de l'enfant.

Tous les enfants de moins de 5 ans sont porteurs de pneumocoques à un moment ou l'autre de l'année, et c'est à partir du rhinopharynx que ces bactéries vont se transmettre par voie aérienne et provoquer éventuellement des maladies. Les jeunes enfants de moins de 2 ans, les sujets âgés de plus de 65 ans sont les sujets à risque et constituent les groupes dans lesquels l'incidence de la maladie est la plus élevée. Plus de 95 sérotypes de pneumocoques existent à ce jour, certains sont retrouvés fréquemment en portage et en pathologie (6B, 9V, 14, 19A, 19F et 23F), d'autres, beaucoup plus souvent en portage qu'en pathologie (6A, 6C, 11A, 15A, 15B-C, 23A, 35B et 38) d'autres enfin sont peu retrouvés en portage (car leur durée de portage est très courte) mais souvent impliqués dans les infections (1, 4, 5, 7F, 12F, 22F, 24F) (**Brisou et al., 2004 ; Cohen et al., 2017**).

III. 3. 1. Infections non invasives :

S. pneumoniae est à l'origine de pathologies non invasives tel que la bronchite, la sinusite et en particulier les otites moyennes aiguës (OMA). L'OMA est la première cause d'infection bactérienne en pédiatrie, puisque deux tiers des enfants de moins de 2 ans vont développer au moins une OMA et un tiers des enfants auront trois épisodes ou plus. Le pneumocoque est retrouvé dans environ 30 % des OMA où il arrive en deuxième position derrière *Haemophilus influenzae* alors qu'il représente la première étiologie au cours des échecs de traitement (**Bingen, 2002, 2005 ; Who, 2007**).

III. 3. 2. Infections invasives :

Le pneumocoque occupe actuellement la première place des infections bactériennes invasives de l'enfant âgé de 3 mois à 2 ans, en causant des pneumopathies, bactériémies, méningites, arthrites et mastoïdites (**Bingen, 2005**).

On entend communément par pneumococcie invasive, une pathologie révélée par l'isolement de pneumocoques dans un site corporel normalement stérile, tel que le sang ou encore, consécutivement à la propagation du courant sanguin, dans d'autres sites comme c'est le cas dans la méningite ou l'arthrite septique ; cette définition exclut des sites tels que l'oreille moyenne, par exemple, où l'infection se développe par propagation contiguë à partir du rhinopharynx. Ces affections sont sporadiques, pour la plupart. Les flambées de pneumococcies sont rares mais elles peuvent éclater au sein de populations confinées, par exemple dans les établissements de soins, les crèches et autres types d'établissements. D'importantes flambées

de méningite dues au sérotype 1 ont toutefois été signalées dans la «ceinture africaine de la méningite» (Yaro et al., 2006).

L'incidence des infections invasives à pneumocoques est fortement corrélée à l'âge, mais aussi à la présence de différents facteurs de risques comme le diabète, la bronchite chronique, une insuffisance cardiaque, une drépanocytose, la consommation d'alcool, le tabagisme, l'existence d'un cancer, d'une hémopathie ou d'une infection par le VIH (Loeb et al., 1999). L'existence de maladies chroniques sous-jacentes prédisposant aux méningites à pneumocoques est signalée chez l'adulte comme chez l'enfant (Floret, 2001).

III. 3. 3. Etapes de l'infection par *S. pneumoniae* :

Le pneumocoque est un micro-organisme non toxigène, invasif, à multiplication extracellulaire. Dans tous les processus infectieux, il va agir en trois étapes : la transmission l'adhésion- colonisation et l'invasion, des étapes qui sont illustrées dans la **figure 3 (Brisou, 2004 ; Weiser, 2018)**.

III. 4. Résistance aux antibiotiques de *S.pneumoniae* :

Streptococcus pneumoniae occupe une place prépondérante dans la pathologie infectieuse bronchopulmonaire (30 %). Cette espèce est naturellement sensible à un grand nombre d'antibiotiques mais, a peu à peu, développé des résistances aux sulfamides, tétracyclines, érythromycine et aux phénicolés. La résistance à la pénicilline G a été mise en évidence pour la première fois en 1967 en Australie. En 1977-1978, des souches de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) G ont été décrites en Afrique du Sud, parfois associées à une multirésistance aux antibiotiques. La fréquence de résistance de *S. pneumoniae* à la pénicilline G augmente régulièrement avec des différences importantes selon les zones géographiques, les incidences les plus élevées étant signalées en Afrique du Sud, en Espagne et en Hongrie (Poly et al., 1999).

III. 5. Pneumocoque et immunité :

Au cours de la colonisation par le pneumocoque, la réponse immune est dirigée contre les différents antigènes de la bactérie : les polysaccharides capsulaires et de la paroi (phosphorylcholine), la pneumolysine et d'autres protéines bactériennes (PspA).

La réponse humorale induite par l'infection pneumococcique est liée au développement d'anticorps spécifiques du type capsulaire des pneumocoques infectants, elle entraîne la

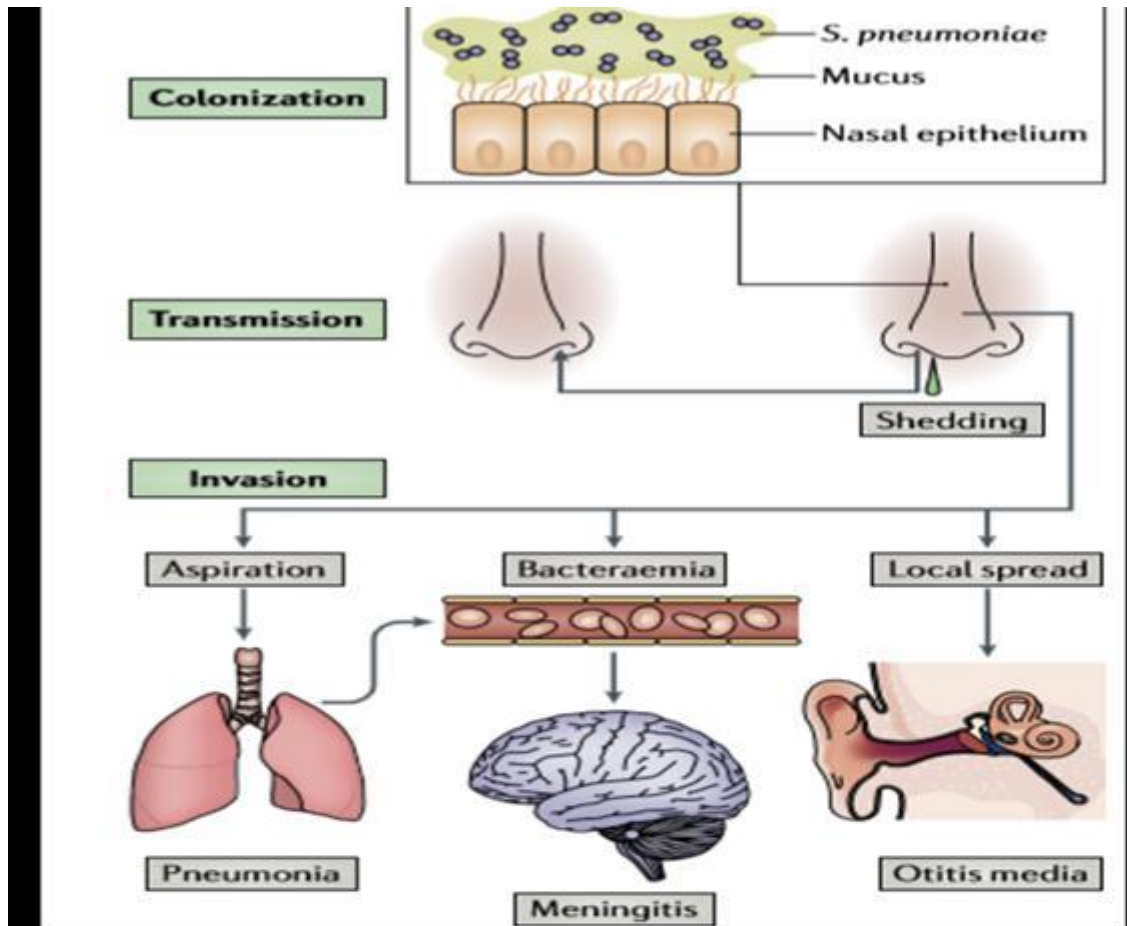


Figure 3: Etapes de l'infection par *S. pneumoniae* (Weiser, 2018).

- **Transmission :** La transmission d'un individu à l'autre se fait par le biais de gouttelettes de Pflügge provenant des voies aériennes supérieures (Brisou et al., 2002).

- **Adhésion-colonisation :** Le portage nasopharyngé est la source de la propagation de *S. pneumoniae* entre les hôtes et la première étape vers une maladie invasive. La colonisation et la persistance de *S. pneumoniae* est favorisée par de nombreux facteurs dont la peptidoglycan-N-acétylglucosamine déacétylase (PgdA), l'atténuateur de résistance aux médicaments (Adr), la choline binding protéine A (Cbp A) et la neuraminidase Nan A (Bingen, 2005 ; Weiser, 2018).

- **Invasion :** La colonisation nasopharyngée par *S.pneumoniae* permet une transmission aisée, de cette bactérie, à de nouveaux hôtes. L'invasion nécessite le franchissement des barrières épithéliales et / ou endothéliales et la pénétration des tissus, donnant finalement accès à la circulation sanguine (weiser, 2018).

protection quasi absolue des animaux immunisés vis-à-vis d'une souche ayant le même sérotype, mais pas vis-à-vis d'autres sérotypes (**Larange, 1994**). Les antigènes polysaccharides sont des antigènes thymo-indépendants. Ils ont comme limitation principale leur faible pouvoir immunogène et l'absence de développement de mémoire immunologique. Une deuxième injection n'entraîne aucun effet de rappel. Certains sérotypes (23F, 6A, 14, 19) sont plus faiblement immunogéniques que d'autres. La conjugaison des polysaccharides à des protéines porteuses est associée à une réponse thymo-dépendante donc au développement de cellules T-mémoire. Les réponses humorales anti-pneumococciques sont caractérisées, dans la grande majorité des cas, par les IgM et les IgG2 chez l'adulte et les IgG1 chez l'enfant. (**Sanders et al., 1991**).

IV. Thérapies antipneumococciques :

IV. 1. Antibiothérapies :

L'attitude thérapeutique évolue du fait de l'augmentation régulière de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques. Les molécules anciennes sont utilisées à de nouvelles posologies, et de nouveaux antibiotiques, actifs sur les PSDP, commencent à arriver sur le marché. Toutefois, les antibiotiques doivent être prescrits avec parcimonie, tenant compte du terrain, de la sévérité du tableau clinique, et surtout de la sensibilité du pneumocoque aux différents antibiotiques. Par exemple, devant une pneumopathie aigue communautaire (PAC) à pneumocoque, le traitement doit être rapidement instauré. L'amoxicilline, antibiotique à index thérapeutique élevé, reste la molécule de choix au cours des PAC, quel que soit l'âge, la sévérité, et même en cas de PSDP. En cas de non réponse ou d'aggravation, les macrolides, les fluoroquinolones anti-pneumococciques « FqAP » (lévofloxacine, moxifloxacine), pristinamycine, ou télichromycine peuvent être prescrits. En cas de deuxième échec, l'hospitalisation s'impose (**Ziane, 2015**).

IV. 2. Vaccinothérapie :

L'apparition d'une résistance des pneumocoques aux antibiotiques d'usage courant comme les pénicillines, les macrolides, les céphalosporines et le cotrimoxazole pose un sérieux problème dans certaines régions du monde. Toutefois, à la suite de la mise en place de la vaccination anti-pneumococcique à grande échelle on a observé une réduction dans la circulation des souches pharmacorésistantes (**Kyaw et al., 2006**).

Les vaccins contre le pneumocoque existent depuis plus de 50 ans, ils sont composés de polysaccharides, constituants principaux de la capsule des pneumocoques, spécifique de chaque sérotype. Actuellement, sur le marché algérien, 2 types différents de vaccins antipneumococciques sont retrouvés : un vaccin polysaccharidique 23-valent et le 13-valent (Prevenar®). Ce dernier est utilisé chez les enfants de moins de deux ans (**Ministère algérien de la santé et de population et la réforme hospitalière**).

Les premiers vaccins, uniquement polysaccharidiques, ne sont pas immunogènes chez l'enfant de moins de 2 ans. C'est en fixant de façon covalente les polysaccharides des pneumocoques sur des protéines porteuses que les vaccins anti-pneumococciques dits « conjugués » sont devenus immunogènes dès les premiers mois de vie (**Cohen et al., 2017**).

IV. 2. 1. Vaccin anti-pneumococciques polysaccharidique non conjugué

Le vaccin polysaccharidique 23-valent contient les sérotypes 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20F, 22F, 23F et 33F (**Bocchini et al., 2010**).

IV. 2. 2. Vaccin anti-pneumococciques polysaccharidique conjugué

Le vaccin anti-pneumococcique conjugué est un vaccin polysaccharidique à 13 valences 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F et 23F. Il est basé sur le couplage chimique des polysaccharides de *S. pneumoniae* avec une protéine immunogène de transport (protéine vectrice). Ce procédé permet d'amplifier la réponse anticorps et induit une mémoire immunitaire (**Atale, 2007 ; OMS, 2012**). Le nouveau calendrier vaccinal incluant le vaccin anti-pneumococcique en Algérie adopté en Avril 2016 est figuré dans le **tableau 1 en annexes 1**.

Matériel
&
Méthodes

Cette étude rapporte l'évaluation de la fréquence du portage nasopharyngé de *Streptococcus pneumoniae* chez les enfants en bonne santé, âgés de moins de 5 ans ainsi que l'étude du profil de résistance de ces souches vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotiques. Notre étude a été réalisée au niveau du service de microbiologie du CHU Mustapha Pacha d'Alger, durant une période de 4 mois, de février 2018 à mai 2018.

Nous avons réalisé un total de 210 prélèvements nasaux, effectués sur une population exclusivement pédiatrique âgée de 0 à 5ans au cours des visites systématiques de suivi des vaccinations. Les enfants étaient soigneusement examinés par le médecin pédiatre de la PMI de l'hôpital Mustapha Pacha qui déclare l'enfant asymptomatiques, et donc pouvant être inclus dans l'étude. Tout signe clinique évocateur d'une infection constitue un motif d'exclusion.

I. Matériel :

I. 1. Matériel biologique :

✓ Souches étudiées :

Les souches objets de notre étude, *Streptococcus pneumoniae*, ont été isolées du nasopharynx de l'enfant après écouvillonnage du nez en utilisant un écouvillon stérile. Le recueil et le transport ont été soumis à des règles strictes afin d'éviter toute sorte de contamination, accompagné d'une fiche de renseignement clinique spécifique de chaque enfant (**Annexe 2**).

✓ Souche de référence

Nous avons utilisé des souches de référence de type ATCC (American Type Culture Collection ATCC). La souche ATCC 49619 (sérototype 19F) a été utilisée comme souche témoin positif pour l'identification de *S. pneumoniae* ; elle est sensible à l'optochine, lysée par la bile et agglutine aux pneumokit. Elle est aussi utilisée en tant que témoin négatif pour l'étude de l'antibio-résistance (sensibilité aux antibiotiques, résistance intermédiaire à la pénicilline G).

I. 2. Matériel non biologique :

Nous avons eu recours à différents milieux de culture dont la composition est résumée dans l'**annexe 2**, divers appareils, équipements et verrerie mentionnés dans le **tableau II** en **annexe 2**.

II. Méthodes : Pour identifier *Streptococcus pneumoniae*, nous avons suivi le schéma représenté ci-dessous (**Figure 4**) :

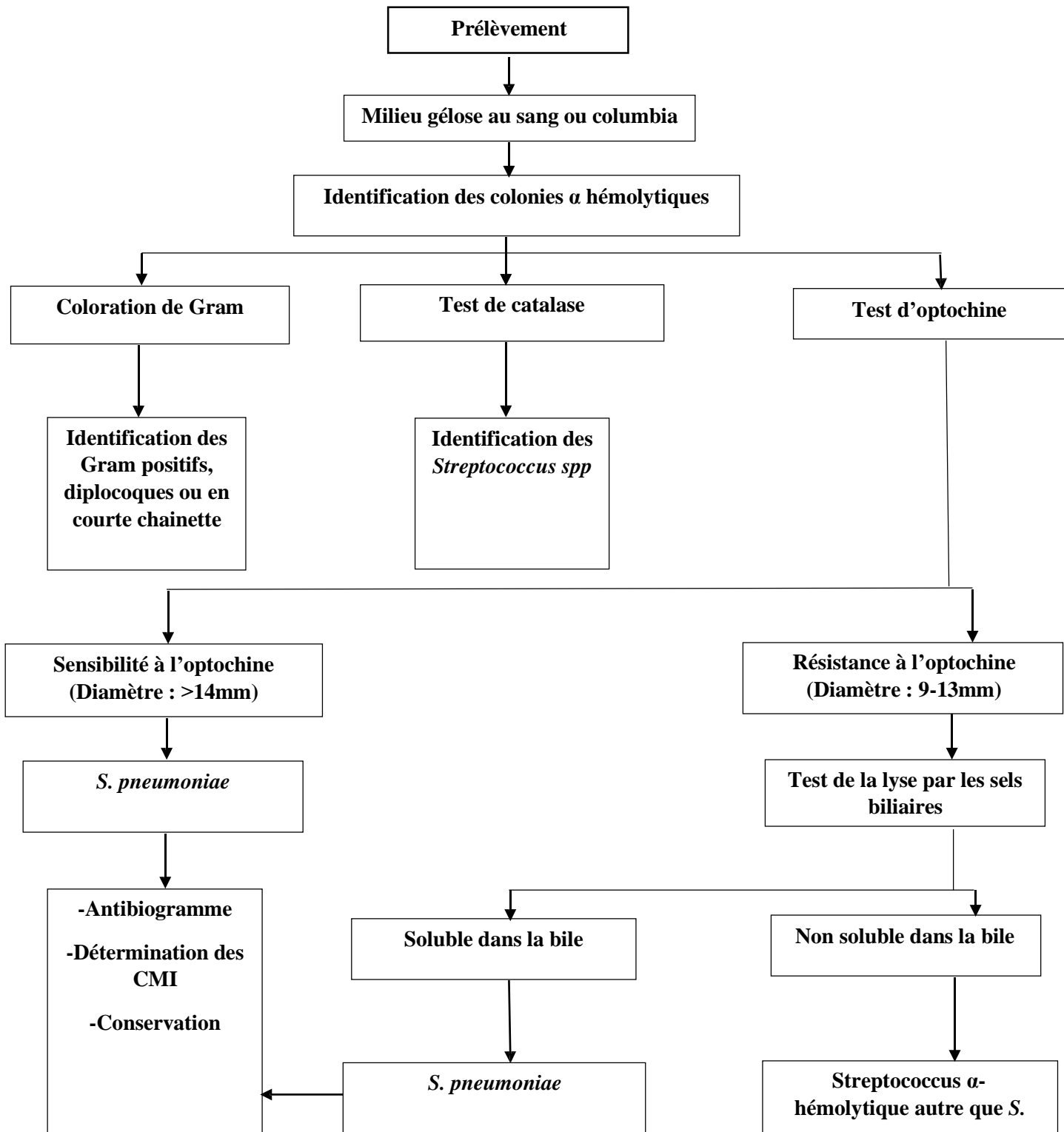


Figure 4 : Schéma récapitulatif de l'identification de *S. pneumoniae*.

II. 1. Examen macroscopique des colonies :

La mise en culture de chaque prélèvement a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie dans les heures qui ont suivi son recueil :

0.5 ml de bouillon glucosé tamponné est additionné rapidement aux prélèvements et après une bonne agitation, le prélèvement est ensemencé sur milieu Columbia ou GSF.

L'ensemencement des boîtes a été effectué selon la technique des quatre quadrants sur gélose au sang frais, 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. Un disque de gentamycine à bas niveau (10µg/ml) est déposé entre le premier et le deuxième quadrant pour la sélection des souches de *S. pneumoniae* qui sont naturellement sensibles à la gentamycine parmi les autres commensaux de la flore nasopharyngée qui, eux sont sensible à cette antibiotique. La boîte est ensuite incubée à 37°C et à 5% de CO₂ pendant 18 à 24h, dans le but d'isoler *Streptococcus pneumoniae*.

S. pneumoniae donne sur gélose au sang de petites colonies à dépression centrale, transparentes, rondes, et développant une hémolyse de type alpha.



Figure 5(a) : Observation de *S. pneumniae* apres culture sur milieu columbia

II. 2. Examen microscopique après coloration de Gram :

La coloration de Gram permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et de classer rapidement les bactéries selon leur morphologie et leur mode de regroupement. 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 essentielles :

- **Coloration** au violet de gentiane pendant 1 min.

- **Fixation** au lugol pendant 20secondes. Rinçage avec l'eau.
- **Décoloration** avec l'alcool pendant 3 secondes ensuite rinçage avec l'eau.
- **Contre-coloration** avec la fuschine pendant 40 secondes et rinçage avec l'eau du robinet.

L'observation au microscope optique après coloration de Gram (objectif 100) avec l'ajout d'une goutte d'huile à immersion, montre des diplocoques à Gram positif à forme lancéolée, immobiles, en flamme de bougie, encapsulés, groupés par paire (diplocoque), parfois en courtes chainettes (**Figure 05**). L'examen microscopique peut être très indicateur pour les pneumocoques qui ont une morphologie bien spécifique, mais il n'est pas suffisant.



Figure 05 : Observation de *S. pneumoniae* après coloration de Gram sous microscope optique G X 100 (photo originale).

II. 3. Identification bactérienne :

Les isolats de pneumocoque ont été identifiés selon deux critères, le premier étant l'aspect des colonies sur la boîte avec présence d'une hémolyse α , et le deuxième la sensibilité à l'optochine. Cependant, 5 % des souches peuvent être résistantes, d'où la nécessité parfois de l'utilisation d'un test de confirmation par la lyse par la bile qui est d'une grande fiabilité. De plus, il est nécessaire de rechercher la catalase, car elle présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à Gram +. Ce test est utilisé pour différencier les bactéries qui produisent l'enzyme catalase, telles que les staphylocoques des bactéries qui n'en produisent pas telles que les streptocoques.

II. 3. 1. Test de catalase :

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène. Le test consiste à prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame. La présence de catalase est marquée par la formation immédiate de bulles d' O_2 . L'absence de production d' O_2 provenant de la dégradation d' H_2O_2 traduit une souche catalase négative selon la réaction suivante :



II. 3. 2. Sensibilité à l'optochine :

L'identification du pneumocoque repose sur la sensibilité à l'optochine (chlorhydrate d'éthylhydrocupreine), les colonies de *Streptococcus pneumoniae* en sont généralement sensibles.

Une boîte de gélose au sang frais ou Columbia est inoculée avec une culture pure présumée de *S. pneumoniae*. Le disque d'optochine est déposé à la surface du premier et deuxième quadrant. L'incubation de la boîte se fait à 37°C en atmosphère enrichi de CO₂ pendant 18 à 24 heures, au bout desquelles la présence ou non de zone d'inhibition, matérialisée par un halo clair, est recherchée et le diamètre est mesuré (**Figure 6**).

Pour les pneumocoques, la zone d'inhibition est supérieure ou égale à 14 mm Si le diamètre est inférieur à 14 mm, des tests complémentaires sont effectués.



Figure 6 : Test de sensibilité à l'optochine de *S. pneumoniae* (Photo originale).

II. 3. 3. Solubilité dans la bile :

Il existe de rares pneumocoques résistants à l'optochine, ce qui nécessite un test complémentaire traduisant le phénomène de NEUFELD. Parmi les streptocoques, seuls les pneumocoques sont solubles ou dissoutes dans la bile, par activation du système autolytique de la bactérie (phénomène de NEUFELD).

Le test consiste en la préparation d'une suspension dense à partir d'une culture pure de 24 heures sur gélose au sang. À 500 µl de cette solution, deux gouttes d'une solution de désoxycholate de sodium à 10 % sont ajoutées. Après 30 minutes à 37 °C, nous noterons, en cas de positivité, un éclaircissement de la solution, en comparaison avec une suspension témoin où le désoxycholate de sodium est remplacé par de l'eau.

Nous pouvons, aussi, déposer directement une goutte de désoxycholate de sodium à 10 % sur une colonie de la souche en question et attendre 15 à 30 minutes à température ambiante. Les colonies de *S. pneumoniae* disparaissent ou deviennent aplaties, tandis que les autres streptocoques semblent inchangés. Contrairement à la susceptibilité du test d'optochine, les tests de solubilité biliaire démontrent une meilleure sensibilité.

II. 4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

L'antibiogramme est nécessaire pour déterminer la sensibilité des pneumocoques à différentes familles d'antibiotiques. Dans notre étude nous avons réalisé un antibiogramme pour déterminer le niveau de sensibilité des souches de *S. pneumoniae* à 09 molécules d'antibiotiques appartenant à 6 familles (**Tableaux II et III**).

À partir d'une culture de 18-24 h sur gélose au sang ou sur milieu MH additionnée de 5 % de sang, nous procédons à la préparation d'une suspension bactérienne équivalente à 0.5 McFarland ($\sim 10^8$ UFC/ml). L'ensemencement se fait par la méthode de diffusion par ensemencement sur milieu solide, par écouvillonnage qui consiste à imbiber un écouvillon stérile de la suspension bactérienne, essorer sur le rebord du tube et effectuer un passage de l'écouvillon sur toute la surface de la gélose par simple rotation de 120° tout en s'assurant que toute la boîte est bien ensemencée.

Le dépôt des disques d'antibiotiques est ensuite accompli à l'aide d'une pince stérile, en prélevant un disque d'antibiotique et le déposer à la périphérie de la boîte. Le nombre de disques ne doit pas dépasser 6 disques par boîte.

Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures dans une atmosphère enrichie en CO₂ (5 à 10%).

La lecture des boîtes est faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibition, entourant chaque disque d'antibiotique, en se référant aux recommandations du « Clinical and Laboratory Standards Institute » (CLSI) pour les antibiotiques mentionnés dans le **tableau II** et du comité d'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie « CA-SFM » pour les antibiotiques indiqués dans le **tableau III**. Les souches sont classées en sensibles, intermédiaires ou résistantes.

La détection de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G est réalisée avec un disque d'oxacilline 5 mg (OXA-5) selon les critères suivants :

- Diamètre OXA-5 >26 mm : souche sensible à la pénicilline G et aux autres β-lactamines.
- Diamètre OXA-5 ≤ 26 mm : souche de sensibilité diminuée.

Ce test ne peut pas apprécier le niveau de résistance à la pénicilline G ou aux autres β-lactamines.

L'utilisation d'autres disques de β-lactamines ne permet pas de déterminer le niveau de résistance à ces β-lactamines. En conséquence devant toute souche de sensibilité diminuée, il y a lieu de déterminer la CMI de la pénicilline et celle d'au moins une des β-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutiques (Chardon, 2008).

Tableau II: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Streptococcus pneumoniae* (CLSI, 2014).

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques testés	Abréviations	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
				R	I	S
Macrolides	Erythromycine	ERY	15 µg	≤15	16-20	≥21
	Lincosamycine/Clindamycine	CMN	2 µg	≤15	16-18	≥19
	Pristinamycine	PT	15 µg	≤15	16-18	≥19
Glycopeptides	Vancomycine	VA	30 µg	-	-	≥17
Sulfamides	Cotrimoxazole	SXT	25 µg	≤15	16-18	≥19
β-Lactamines	Oxacilline	OXA	5 µg	<26	-	≥26

Tableau III : Concentrations et diamètres critiques pour *Streptococcus pneumoniae*

(CA-SFM, 2014).

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques testés	Abréviations	Charge des disques	Concentrations critiques (mg/l)		Diamètres critiques (mm)	
				S	R	S	R
Phénicolés	Chloramphénicol	CHL	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23
Tétracyclines	Tétracycline	TET	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 23	< 21
Glycopeptides	Teicoplanine	TEI	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 17	-

II. 5. Etude de l'antibio-résistance par automate MicroScan Walk away :

Pour des raisons internes au laboratoire la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) a été réalisée par l'automate MicroScan Walk away (plaque Micro STREP plus) pour 17 souches, selon les recommandations du CLSI.

Pour chaque souche de *S.pneumoniae* confirmée, une suspension bactérienne de 0.30 Mac Farland est préparée. A l'aide d'une micropipette, 100µl de cette suspension sont prélevés et mélangés au sang de cheval.

Cette préparation est versée dans un bac inoculateur, puis aspirée à l'aide du Renok, et enfin inoculée sur la plaque MicroSTREP plus, contenant des antibiotiques déshydratés dans ces puits qui seront par ce processus réhydratés. Parallèlement il faut introduire les informations liées aux patients et à la souche dans l'ordinateur à fin d'avoir un code barre spécifique pour chaque microplaque. Les plaques préparées sont ensuite incubées dans l'étuve Walk away pendant au moins 16h à 35°C (**Figure 7**).

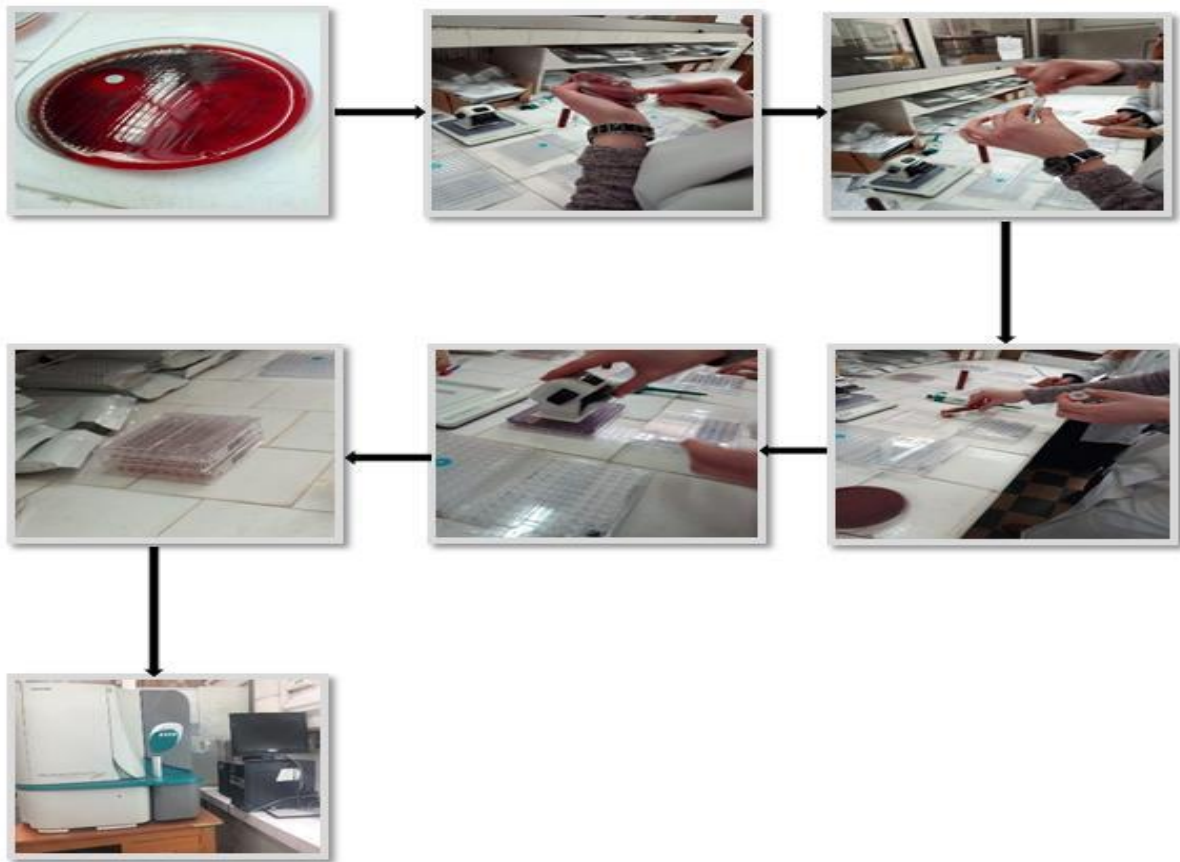


Figure 7 : Etapes de preparation de plaque Micro STREP plus (**Photo originale**).

III. Etude statistique :

Pour la comparaison des prévalences, une analyse statistique a été effectuée à l'aide du test de Fisher en ligne <http://graphpad.com/quickcalcs/contingency1.cfm>.

*Résultats
& Discussion*

I. Analyse descriptive des caractéristiques sociodémographiques des enfants asymptomatiques :

Durant notre travail, nous avons réalisé une enquête épidémiologique sur l'ensemble des enfants (n=210) objet de notre étude. Ceci nous a permis de décrire les caractéristiques sociodémographiques de ces enfants asymptomatiques. Les résultats de cette enquête sont résumés dans le **tableau IV**.

Tableau IV : Analyse descriptive des caractéristiques sociodémographiques des enfants.

Caractéristiques		
Age	Moyenne	Pourcentage
Moyenne (Mois)	12,3	/
Sexe	Nombre de Patient	Pourcentage
Féminin	94	45%
Masculin	116	55%
Type d'habitation	Nombre de Patient	Pourcentage
Bidon ville	2	1%
Immeuble	156	74%
Traditionnel	10	5%
Villa	42	20%
Conditions socioéconomiques	Nombre de Patient	Pourcentage
Mauvaise	16	8%
Moyenne	91	43%
Bonne	103	49%
Tabagisme passif	Nombre de Patient	Pourcentage
Non	143	68%
Oui	67	32%
Vaccination correcte (n=210)	Nombre de Patient	Pourcentage
Non	49	23%
Oui	161	77%
Type d'allaitement (n=210)	Nombre de Patient	Pourcentage
Artificiel	11	5%
Maternel	55	26%
Mixte	144	69%
Durée d'allaitement moyenne	Moyenne	Pourcentage
Moyenne (Mois)	7,3	/

Maladie infectieuse	Nombre de Patient	Pourcentage
Non	101	48%
Oui	109	52%

Mode de garderie	Nombre de Patient	Pourcentage
Crèche	10	5%
Maison	176	84%
Nourrisse	24	11%

Personnes vivants sous le même toit	Moyenne	Pourcentage
Moyenne	5,0	/

Nombre de fratrie	Moyenne	Pourcentage
Moyenne	1,1	/

Enfants de moins de 5 ans	Nombre de Patient	Pourcentage
Non	118	56%
Oui	92	44%

ATB reçu dans le mois précédent	Nombre de Patient	Pourcentage
Non	129	61%
Oui	81	39%

Vaccination anti-pneumo	Nombre de Patient	Pourcentage
Non	34	16%
Oui	176	84%

L'analyse de ce tableau montre que :

- ✓ la moyenne d'âge des enfants asymptomatiques était de 12.3 mois.
- ✓ La majorité des enfants inclus dans cette étude, soit 77%, étaient correctement vaccinés, et 84% avait reçu une vaccination anti-pneumococcique correcte.
- ✓ 45 % des enfants inclus dans cette étude étaient de sexe féminin et 55% de sexe masculin.
- ✓ 26% des enfants étaient allaité exclusivement au sein.

- ✓ les conditions socioéconomiques étaient bonnes dans 49% de la population étudiée, moyennes pour 43% et mauvaises pour 8%.
- ✓ 74% des enfants habitaient dans des appartements. En moyenne, les enfants vivaient avec 5 personnes, dont une fratrie estimée à 1. La quasi-totalité sont gardés à la maison (84%), 11% chez la nourrisse et 2.2% à la crèche.
- ✓ la majorité des enfants concernés par notre étude n'étaient pas exposés au tabac (68%).
- ✓ 39% des enfants ont pris des antibiotiques dans le mois précédent le prélèvement, contre 61% qui n'avaient pas pris.

L'étude du portage nasopharyngé de *S.pneumoniae* chez les enfants dans la région d'Alger, a ciblé les enfants âgés de 0 à 5 ans, asymptomatiques c'est-à-dire indemnes de tout signe infectieux cliniquement décelable. Ces enfants consultaient au niveau de la PMI de l'hôpital Mustapha Bacha pour la vaccination, raison pour laquelle 98% des enfants inclus étaient âgés de moins de 2 ans, et 2% étaient âgés de 2 à 5 ans. Cependant, les enfants de moins de 2 ans sont connus comme porteurs fréquents de *S. pneumoniae* (Bogaert et al., 2004 ; Ferreira et al., 2011 ; Song et al., 2013).

II. Analyse du portage de *S. pneumoniae* chez les enfants asymptomatiques :

II. 1. Taux de portage de *S. pneumoniae* chez les enfants asymptomatiques :

Sur les 210 prélèvements effectués en 3 mois (du 19 février au 29 Avril 2018), 30 % (n=64) des enfants asymptomatiques âgés de moins de 5 ans portaient *S. pneumoniae* dans leur nasopharynx, comme nous pouvons le constater dans la **figure 8**.

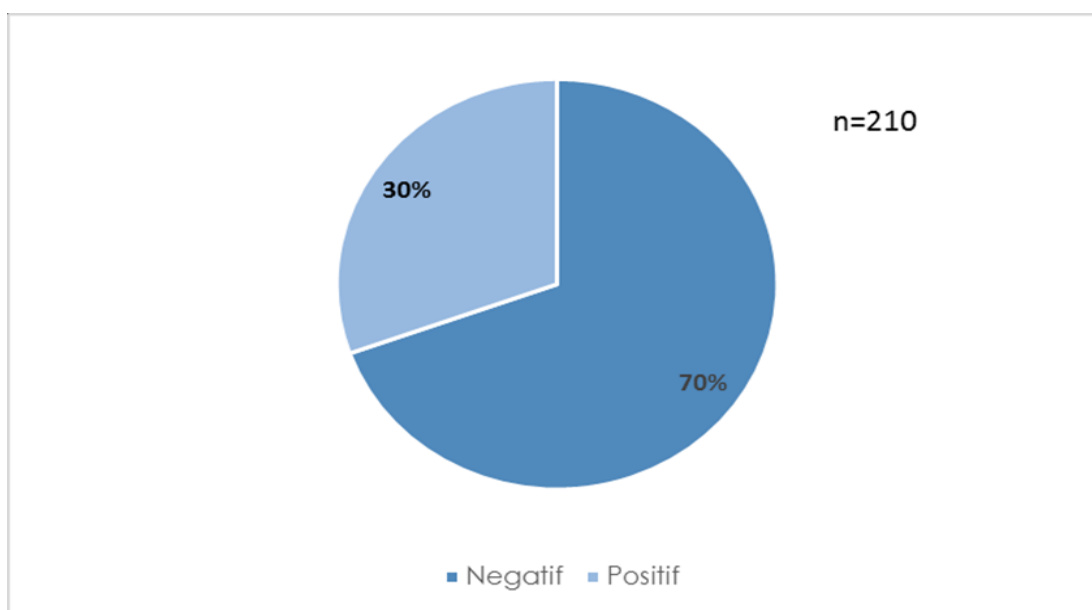


Figure 8: Taux de portage de *S. pneumoniae* chez les enfants asymptomatiques de moins de 5 ans en 2018.

Le prélèvement utilisé est celui du nasopharynx, qui est nettement supérieur à celui de l'oropharynx en matière de sensibilité pour la détection de *S.pneumoniae* chez les enfants (**Hernandez-Bou et al., 2012**). L'enquête du portage s'est déroulée en 3 mois (Février à avril 2018). Il est bien établi que le nombre des prélèvements et la durée de l'étude influencent le taux de portage, il est donc évident que des prélèvements multiples réalisés à différentes périodes amélioreraient le taux de positivité (**Ercibongoa et al., 2012**).

La fréquence du portage de *S. pneumoniae* était de 30 % chez les enfants asymptomatiques de moins de 5 ans dans la région d'Alger dans notre étude. La proportion des enfants colonisés varie entre 15 % et 70 % dans les pays industrialisés (**Bogaert et al., 2004**).

Un taux de 32% a été enregistré en Algérie en 2012 (**Ziane, 2015**), 45.8% au Maroc (**Bouskraoui et al., 2011**), 22 % à 60 % au Kenya (**Abdullahi et al., 2008**), 62% en Uganda (**Joloba et al., 2001**) et 90% en Gambie (**Hill et al., 2006**). En Egypte, le taux de portage chez les enfants asymptomatiques de 2 mois à 60 mois, était de 29.2% (**El-Nawawy, 2015**).

Un taux de 34.3% a été observé en Corée chez les enfants de moins de 5 ans et de 16.5% chez les moins de 18 ans (**Kim, 2003 ; Cho, 2012**).

En France le taux de portage asymptomatique est de 33.2% entre 2008-2009 en période de pré-vaccination par PCV13, et de 47.2% en 2012-2013 en post-vaccination par le PCV13 (**Varon, 2015**).

Ces différences pourraient s'expliquer par les fluctuations géographiques, le type de la cohorte, les modalités de prélèvement, les techniques utilisées pour le diagnostic, ainsi que les conditions de travail et les variations naturelles (**Hernandez-Bou, 2012 ; Ercibongoa, 2012**).

II. 2. Taux de portage nasopharyngé selon les mois d'étude

L'analyse de la répartition des prélèvements nasopharyngés selon le mois d'étude montre que le taux de positivité variait entre 36% au mois de février, 22% au mois de mars, 35% au mois d'Avril (**Tableau V**).

Selon les données de la littérature, la fréquence du portage varie peu tout au long de l'année. Des pics d'acquisition de souches de *S. pneumoniae* ont été mis en évidence pendant la saison froide (**Raymond et al., 2002**). Dans notre étude, le taux du portage le plus faible durant le mois de mars. Ces taux étaient similaires concernant le mois de février et d'avril où nous avons enregistré des taux de 36% et 35% respectivement. Du fait des changements climatiques qu'a connu l'Algérie en général et tout particulièrement la ville d'Alger, nous n'avons pas constaté

de variations significatives entre les mois. Il est donc nécessaire de reproduire l'étude sur une longue période.

Tableau V : Répartition des souches de *S.pneumoniae* en fonction des mois.

Mois	Effectif (n, %)
Février	44(36%)
Mars	81(22%)
Avril	85(35%)

II. 3. Taux de positivité du portage nasopharyngé selon les tranches d'âge :

Le taux de positivité variait en fonction des différentes tranches d'âge fixées en 5 catégories ou tranches (**Figure 9**):

- ✓ Tranche A varie de 0 à 6 mois.
- ✓ Tranche B varie de 6 à 12 mois.
- ✓ Tranche C varie de 12 à 18 mois.
- ✓ Tranche D varie de 18 à 24 mois
- ✓ Tranche E varie de 24 à 30 mois.

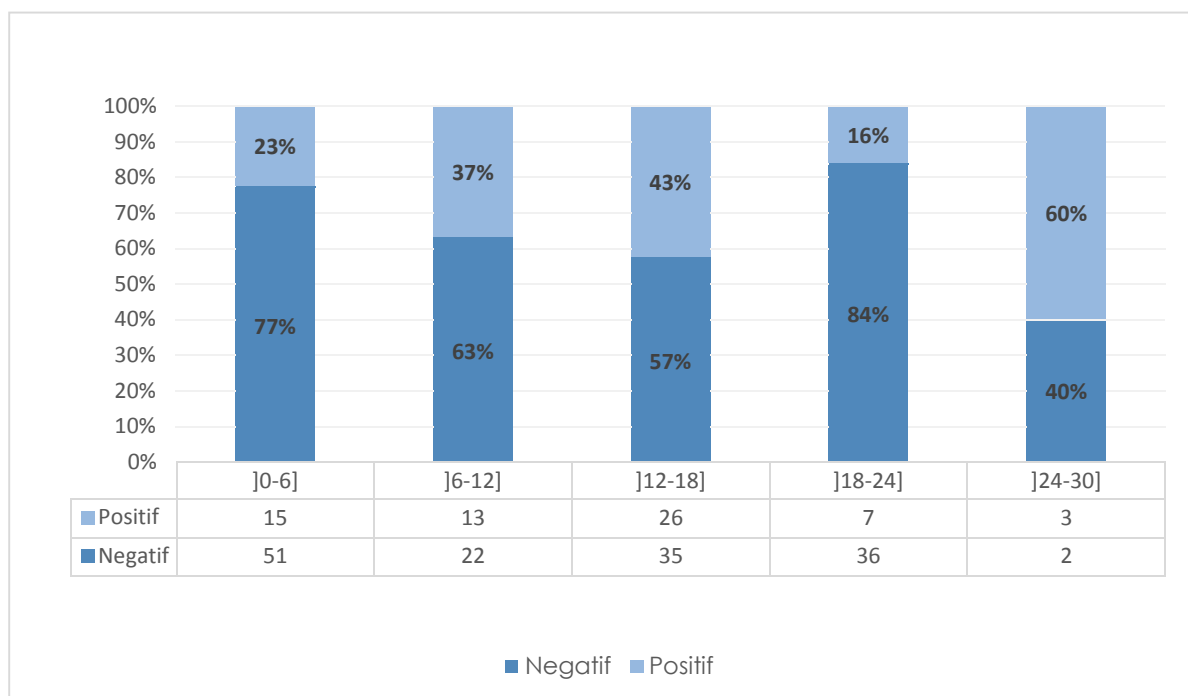


Figure 9 : Taux de positivité du portage nasopharyngé asymptomatique selon les tranches d'âge.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que le taux de positivité du portage nasopharyngé le plus élevé se situe dans la tranche d'âge E (60%) suivie de la tranche C (43%) et B (37%), vient ensuite les tranches A et D avec des taux de 23% et 16% respectivement.

Streptococcus pneumoniae colonise les voies aériennes supérieures dès les premiers mois de vie et fait partie de la flore commensale du nasopharynx. Cependant, il est aussi responsable de méningites, de pneumonies et d'otites moyennes aiguës, particulièrement sévères chez les jeunes enfants (**Charvériat et al., 2005**).

Dans notre étude, la moyenne d'âge obtenue des enfants porteurs de *S. pneumoniae* est de 13 mois. A Alger et en 2012, la moyenne d'âge des enfants porteurs était de 11.7 mois (**Ziane, 2015**). En France au cours des deux périodes (2008-2009 et 2009-2013) les enfants porteurs de *S. pneumoniae* avaient une moyenne d'âge de 13 mois (**Varon et al., 2012**).

Le taux le plus élevé a été observé dans la tranche D (24-30 mois), composée de 5 enfants ce qui fait de cette catégorie une tranche non significative, contrairement aux tranches 12-18 mois et 6-12 mois qui sont représentatives (n=61 ; n=35) avec des taux élevés de 43% et 37% respectivement. En effet, la colonisation nasopharyngée par *S.pneumoniae* commence dès les premiers mois de vie pour atteindre son maximum en âge préscolaire (**Song et al., 2013**).

II. 4. Etude comparative de certaines caractéristiques de la population étudiée :

Dans cette étude, nous avons essayé d'identifier plusieurs facteurs de risque qui contribueraient au portage nasopharyngé de *S. pneumoniae*. Les résultats que nous avons obtenus, résumés dans le tableau VII, montrent qu'aucun des facteurs étudiés n'a influencé le portage de *S. pneumoniae* chez les enfants asymptomatiques de notre étude. Il semblerait qu'il n'y ait pas de différence concernant ces caractéristiques chez les porteurs et non porteurs.

Nous avons constaté que les 146 enfants (100%) non porteurs de *S. pneumoniae* portaient d'autres bactéries dans leur nasopharynx. Ainsi, le portage d'autres bactéries serait un facteur protecteur dans notre étude.

Le portage de *S. pneumoniae* est lié à plusieurs facteurs : le type d'habitation, nombre de personnes vivants sous le même toit, nombre de fratrie, la présence d'enfants de moins de 5 ans dans l'entourage et l'allaitement.

Tableau VI : Etude comparative de certaines caractéristiques de la population étudiée.

Caractéristiques	Non porteurs (n=146) (n ; %)	Porteurs (n=64) (n ; %)	Valeur P
Type d'habitation			
Bidon ville (n=2)	2 (1%)	0 (0%)	0.05
Immeuble (n=156)	115 (79%)	41 (64%)	
Traditionnel (n=10)	5(3%)	5 (8%)	
Villa (n=42)	24 (16%)	18 (28%)	
Allaitement maternel			
<6 (n=28)	23 (55%)	5 (38%)	0.35
>6 (n=27)	19 (45%)	8 (62%)	
Personne vivant sous le même toit			
Moyenne	4,99	5,14	
Nombre de fratrie			
Moyenne	1,05	1,23	
Enfants de moins de 5 ans dans l'entourage			
Oui (n=92)	58(40%)	34(53%)	0.09
Non (n=118)	88(60%)	30(47%)	
Portage d'autres bactéries			
Oui (n=206)	146(100%)	60(94%)	0.008
Non (n=4)	0(0%)	4(6%)	
Portage de <i>Staphylococcus sp</i>			
oui (n=170)	121(83%)	49(77%)	0.3
non (n=40)	25(17%)	15(23%)	

L'allaitement maternel supérieur à 6 mois ainsi que la présence d'enfants de moins de 5 ans dans l'entourage semblent être des facteurs favorisant le portage de *S. pneumoniae* dans l'étude réalisée en 2012 dans la même région (Ziane, 2015).

La fréquentation des crèches et les infections virales concomitantes, sont également des facteurs de risques majeurs du portage qui n'ont pas été retrouvés dans notre étude ni dans celle réalisée en 2012 dans la région d'Alger (Ziane, 2015). En effet 84% des enfants inclus dans notre étude sont gardés à la maison (Tableau VII).

Les conditions socioéconomiques défavorables représentent un facteur important de diffusion de *S. pneumoniae* (Dunais et al., 2008). Les conditions socioéconomiques des enfants inclus dans cette étude étaient bonnes pour 49% et moyennes pour 43%.

Le portage d'autres bactéries dans le nasopharynx paraît être un facteur protecteur dans notre étude, puisque 100% des enfants non porteurs de *S. pneumoniae* portaient d'autres bactéries dans leur nasopharynx. Effectivement, une compétition négative entre *S. pneumoniae*, *S. aureus* et Streptocoques alpha hemolytique a déjà été rapporté (Bogaert et al., 2004).

III. Etude de la sensibilité des souches de *S. pneumoniae* aux antibiotiques

III. 1. Etude de la sensibilité des souches de *S. pneumoniae* aux antibiotiques par antibiogramme :

Le taux de résistance de *S. pneumoniae* aux antibiotiques testés était de 56% à l'oxacilline, 69% à l'érythromycine, 44% à la clindamycine, 6% au chloramphénicol, de 64% aux cotrimoxazole et de 36% à la tétracycline (Figure 10). Toutes les souches étaient sensibles à la pristina mycine, la teicoplanine et la vancomycine.

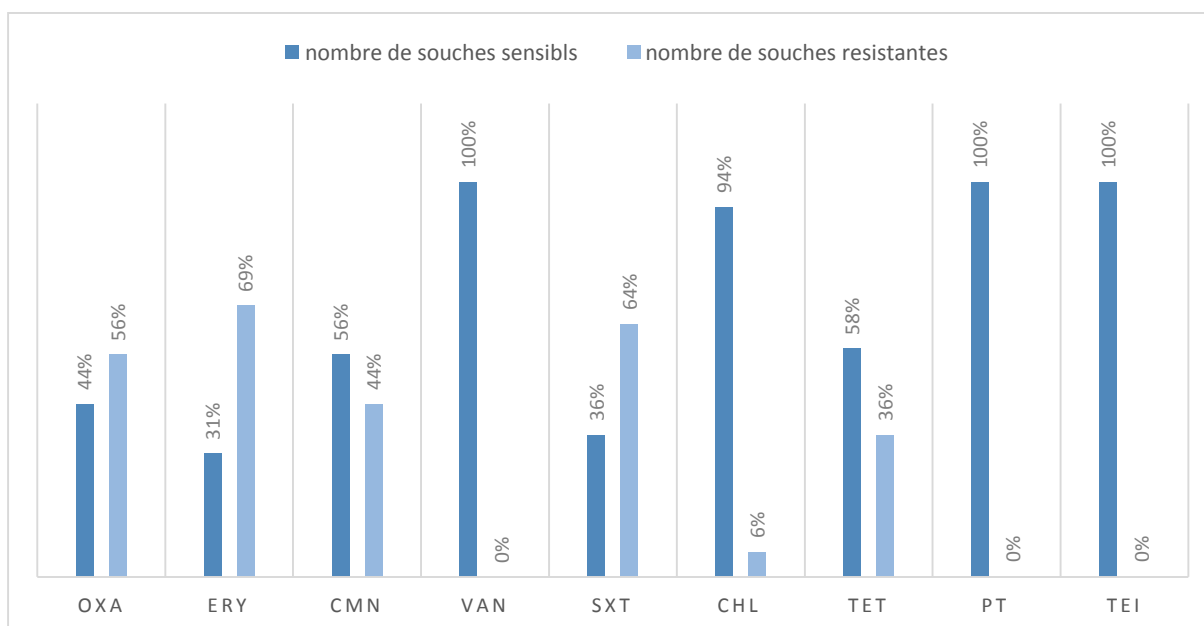


Figure 10 : Résultats de l'étude de la résistance aux antibiotiques dans le portage

Les souches dites « PSDP » sont les pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G. Dans notre étude, nous avons observé 56% (n=36) de résistance à l'oxacilline, ce qui reflète le taux des souches PSDP. Les CMI ont été réalisés pour 17 souches parmi les 64, nous avons déterminé les CMI concernant la pénicilline, en milieu liquide par l'automate Walkaway et 13 souches étaient des PSDP (CMI ≥ 0.12) (Tableau VII).

Tableau VII : Concentrations minimales inhibitrices de la pénicilline concernant 17 souches, déterminées par l'automate MicroScan Walk away.

Souches	Diamètre d'oxacilline (mm)	CMI de la pénicilline (mg/l)	Interprétation
Spn1	20	≥ 0.5	R
Spn2	20	0,12	R
Spn3	24	≥ 0.5	R
Spn4	20	≥ 0.5	R
Spn5	26	0,12	R
Spn6	26	0,12	R
Spn7	24	≥ 0.5	R
Spn8	26	≥ 0.5	R
Spn9	26	≥ 0.5	R
Spn10	30	≥ 0.5	R
Spn11	30	0,03	S
Spn12	>30	0,03	S
Spn13	22	≥ 0.5	R
Spn14	30	≥ 0.5	R
Spn15	24	≥ 0.5	R
Spn16	>30	0,03	S
Spn17	30	0,03	S

Spn : souche *Streptococcus pneumoniae* ; R : résistant ; S : Sensible.

Une souche est dite multi résistante ou « MDR » quand une résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques différentes est enregistrée (Magiorakos et al., 2011). Dans notre étude, la multi résistance a concerné 47% (n= 30) des souches (Tableau IIX).

Tableau IIX : Profils de résistance de l'ensemble des souches de *Streptococcus pneumoniae*.

Nombre de familles	Nombre de molécules	Profil de résistance	Souches	Effectifs (n, %)
1	1	PR1 : SXT	Spn16, Spn17, Spn44	3 ; 5%
		PR2 : ERY	Spn6	1 ; 2%
		PR3 : TET	Spn13, Spn14	2 ; 3%
	2	PR4 : ERY-CMN	Spn37, Spn40	2 ; 3%
2	2	PR5 : OXA-SXT	Spn34, Spn3, Spn49, Spn53	4 ; 6%
		PR6 : ERY-SXT	Spn2, Spn12, Spn18, Spn51, Spn61	5 ; 8%
		PR7 : OXA-ERY	Spn45, Spn57	2 ; 3%
		PR8 : ERY-TET	Spn10	1 ; 2%
	3	PR9 : OXA-ERY-CMN	Spn5, Spn38	2 ; 3%
		PR10 : ERY-CMN-TET	Spn11, Spn16	2 ; 3%
		PR11 : ERY-CMN-SXT	Spn55	1 ; 2%
3	3	PR12 : ERY-SXT-TET	Spn7	1 ; 2%
		PR13 : OXA-ERY-SXT	Spn30, Spn36	2 ; 3%
	4	PR14 : ERY-CMN-SXT-TET	Spn2, Spn23, Spn62	3 ; 5%
		PR15 : OXA-ERY-CMN-TET	Spn43	1 ; 2%
		PR16 : OXA-ERY-CMN-SXT	Spn19, Spn33, Spn41, Spn52, Spn60, Spn63	6 ; 9%
		PR17 : OXA-ERY-SXT-CHL	Spn4, Spn8	2 ; 3%
4	4	PR18 : OXA, ERY, SXT, TET	Spn27, Spn29, Spn31, Spn64	4 ; 6%
		PR19 : OXA-ERY-CMN-SXT-TET	Spn1, Spn15, Spn28, spn9, Spn39, Spn47, Spn50, Spn54, Spn59	9 ; 14%
	5	PR20 : OXA-ERY-CMN-SXT-CHL	Spn 26, Spn56	2 ; 3%

L'incidence clinique croissante des bactéries résistantes aux antibiotiques est un problème majeur partout dans le monde. Ce problème devient plus inquiétant lorsque les souches incriminées sont signalées chez des enfants asymptomatiques en bas âges. En effet, les infections pneumococquiques représentent un problème majeur de santé publique pédiatrique à travers le monde (**Mudhune et al., 2009**). *S. pneumoniae* est aujourd'hui, la première cause de méningite bactérienne et de mortalité par infection bactérienne communautaire chez l'enfant de moins de 2 ans (**Bingen, 2002 ; Jenkins et al., 2008 ; Benouda et al., 2009**).

Le taux de PSDP du portage nasopharyngé trouvé dans notre étude est de 56% sur antibiogramme avec le disque d'oxacilline. Dans la même région en 2012 au cours de l'enquête faite d'avril à juillet 2012 le taux de PSDP était de 69.4% (**Ziane, 2015**)

Au Maroc, l'étude réalisée de mai 2007 à mai 2009 a révélé un taux 38,7% des enfants portaient des PSDP (87.9% de bas niveau et 12.1% de haut niveau de résistance), 10%, et 1.3% des souches avaient une résistance de bas et de haut niveau respectivement à l'amoxicilline, tandis que la résistance au céfotaxime était de 7.3% de type intermédiaire (**Bousekraoui et al., 2011**). Une étude menée en Egypte, chez des enfants asymptomatiques de 2 mois à 2 ans, rapportait un taux de PSDP à 55% avec 15% de haut niveau de résistance (**El-Nawawy et al., 2015**).

Les cibles des β -lactamines sont les protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Chez *S. pneumoniae*, six PLPs sont identifiées dont cinq de haut poids moléculaire, les PLP 1a, 1b, 2x, 2a et 2b, et une de bas poids moléculaire, la PLP 3. La résistance aux β -lactamines résulte de modifications qualitatives et quantitatives des PLP particulièrement les PLP 1a, 2x et 2a. Une résistance significative à la pénicilline G implique souvent au moins trois PLP altérées. Pour les céphalosporines, une seule PLP altérée peut suffire. Les modifications génétiques à l'origine de ces résistances sont chromosomiques.

Les souches de pneumocoque PSDP possèdent des gènes « mosaïques », résultant d'une recombinaison génétique, impliquant des gènes de résistance d'espèces voisines (*S. mitis*, *S. sanguis*, *S. oralis*) par conjugaison entre pneumocoques sensibles et résistants. L'acquisition de la résistance aux β -lactamines des pneumocoques peut résulter de mutations dans des gènes préexistants, où sont observées des substitutions d'acides aminés. Les PLPs ainsi modifiées sont caractérisées par une grande diversité de profils de mobilité électrophorétique et d'affinité. La résistance à la pénicilline est croisée avec toutes les β -lactamines, mais l'expression de cette résistance varie selon les molécules (**Brisou et al., 2004**). La modification des PLPs entraîne une augmentation des CMI pour toutes les β -lactamines, mais l'ampleur de cette augmentation est variable selon les molécules (**Chardon, 2008**). La colonisation par des souches résistantes est donc le résultat de modifications génétiques et de diffusion de clones résistants.

L'émergence des PSDP est généralement attribuée à la pression de sélection des antibiotiques sur les bactéries présentes en portage nasopharyngé qui les rend plus résistantes. Cette pression de sélection est en rapport avec l'utilisation inadaptée en quantité ou en durée des antibiotiques (**Van de sande-Bruisma et al., 2008**). Dans notre enquête 39% des enfants ont reçu des antibiotiques dans le mois qui précédait l'étude. Ce taux est supérieur au taux retrouvé lors de l'enquête effectuée dans la même région, en 2012 19.8% (**Ziane, 2015**).

La résistance aux autres antibiotiques était de 69% à l'érythromycine 64% au cotrimoxazole, 36% la tétracycline et 6% au chloramphénicol (**Figure 10**). A Alger, en 2012 la résistance était de 48% 40.2% et 3.9% à l'érythromycine, cotrimoxazole et chloramphénicol respectivement (**Ziane, 2015**).

Au Maroc, chez les enfants porteurs, la résistance à l'érythromycine, cotrimoxazole et chloramphénicol était de 62% à l'érythromycine, 49.3% au cotrimoxazole, et 38 % à la chloramphenicol (**Boussekraoui et al., 2011**). En Egypte, la résistance était de 55%, 49%, 40% et 25% au cotrimoxazole, tétracyclines, l'érythromycine et à la clindamycine respectivement (**El-Nawawy et al., 2015**).

Le taux de souches multi résistantes trouvé dans notre étude est de 47%. Ce taux est supérieur à celui rapporté à Alger en 2012 (35,3%) (**Ziane., 2015**). Il est proche des taux signalés au Maroc (48%) chez les enfants porteurs (**Boussekraoui et al., 2011**).

La résistance du pneumocoque aux macrolides (erythromycine) est due à la méthylation de l'ARN 23S qui diminue l'affinité des macrolides pour leur cible. La résistance aux tétracyclines est codée par le gène *tetM* entraînant une diminution de la concentration intracellulaire de cet antibiotique. Cette résistance est croisée à tous les membres de la famille. La résistance au chloramphénicol se fait par action d'une acétyltransférase inductible responsable de l'inactivation de cet antibiotique. Cette résistance est codée par le gène *cat* porté par le transposon conjugatif Tn5253 (**Soussy, 2003**). Concernant le cotrimoxazole la résistance est liée à une diminution d'affinité des enzymes cibles par mutations dans le gène de la dihydrofolate-reductase (*dhfr*) (**Lynch et al., 2009**).

III. 2. Profil de résistance

La combinaison des différents antibiotiques nous a permis de distinguer 20 profils de résistance aux antibiotiques (PR) différents pour 64 souches de *S. pneumoniae*. Les profils PR19 et PR16 étaient prédominants avec des taux respectifs de 14% et 9% (n=9, n=6) (**Tableau IIX**). Les profils PR19 et PR16 étaient caractérisés par la résistance combinés à l'oxacilline, l'érythromycine, la clindamycine le cotrimoxazol, la tétracycline et à l'oxacilline, l'érythromycine, la clindamycine et le cotrimoxazol respectivement.

Ces résultats révéleraient une importante diversité génétique des souches, suspectée par leur phénotype hétérogène, lié à une diversité dans les profils de résistance aux antibiotiques. Ces résultats renforcent le caractère inquiétant de ces souches présentes chez le jeune enfant. Ce

dernier, ayant un système immunitaire encore immature, le rend plus vulnérable et le prédispose à la survenue de graves infections telles que la méningite. La présence de souches PSDP multirésistantes augmente le risque de dissémination de ces souches dans la communauté et impose d'importantes mesures tant pour les patients que pour les cliniciens. Ces résultats confortent la décision du ministère algérien de la santé et de la réforme hospitalière d'introduire le PCV13 dans le nouveau calendrier vaccinale de 2016.

Conclusion

L'étude du portage nasopharyngé de *S. pneumoniae* a permis d'apprécier son taux chez les enfants asymptomatiques de moins de 5 ans, vivant dans les alentours d'Alger. Ainsi la colonisation par les pneumocoques s'est avérée fréquente avec un taux de 30 % et dépendante de la présence d'autres bactéries qui est considéré comme facteur protecteur.

Notre étude a été réalisée en l'espace de 3 mois, constituant ainsi la limite de cette étude. Il est donc intéressant de la reproduire sur une durée plus longue et à intervalle régulier.

L'étude de la résistance aux antibiotiques confirme la forte prévalence des pneumocoques de sensibilité diminuée aux pénicillines avec un taux de 56 % de souches résistantes. Quant aux taux de résistance à l'érythromycine et au cotrimoxzole ils étaient de 69 % et de 64 % respectivement. Les souches multirésistantes ou de phénotype « MDR » représentaient presque la moitié des souches isolées.

20 profils de résistance aux antibiotiques ont été identifiés dans cette étude, traduisant une importante diversité phénotypique et par conséquence génotypique. Ces résultats soutiennent le danger que peuvent représenter des souches avec un tel potentiel, présentes dans la communauté et chez le jeune enfant.

Cette étude nous a permis de confirmer l'évolution du portage, les fluctuations ainsi que l'estimation du taux de résistance aux antibiotiques. Au terme de ce travail, nous proposons comme perspectives:

- La surveillance et le suivi du portage nasopharyngé de *S. pneumoniae* chez les enfants asymptomatique sur une longue durée, à intervalle régulier avec un grand nombre de prélèvements.
- La surveillance de l'antibiorésistance et de la multirésistance pour suivre l'évolution de la résistance dans le but de réduire les échecs thérapeutiques.
- La surveillance des sérotypes circulants pour connaître l'impact du vaccin anti-pneumococcique.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abdullahi O., J. Nyiro., P. Lewa., M. Slack et J. A. Scott (2008). "The descriptive epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* and Haemophilus influenza nasopharyngeal carriage in children and adults in Kilifi district, Kenya." *Pediatr Infect Dis J.* **27** :59-64.
- Ahmad. Z., R.M. Harvey., J.C. Paton., A.J. Standish et R. Morona (2018). Role of *Streptococcus pneumoniae* OM001 operon in capsular polysaccharide production, virulence and survival in human saliva. *PLoS One.* **13** :15-2.
- Atale. A (2007).Thèse: la baisse des résistances aux antibiotiques dans les crèches dijonnaises : l'effet conjugué du bon usage de ces médicaments et du respect du calendrier vaccinal. Université de Dijon, 14-34.
- Avril, J. L., H. Dabarnt., F. Denis et H. Monteil (1992). Bactériologie clinique : Streptococcus Enterococcus. Ellipses 2ed: 33.
- Benouda, A., S. Ben Redgeb et A. Hammami (2009). Antimicrobial resistance of respiratory pathogens in north African countries. *J Chemoth.* **6**: 627-632.
- Bere, CL (2010). Thèse de doctorat : Résistance des souches de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques à BoboDioulasso : aspects phénotypiques et génotypiques université de Ouagadougou.
- Bingen E. (2002). Place du pneumocoque en pathologie infectieuse pédiatrique. *Pathol Biol* ; **50** : 374-9.
- Bingen, E (2005). Physiopathologie des infection à pneumocoques en pediatrie. *Med. Therap./ Pediat.*, **8** : 248-254
- Bocchini, JA Jr et al (2010). Recommendations for the prevention of *Streptococcus pneumoniae* infections in infants and children: use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) and pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV23). *Pediatrics.* **126**:186–190.
- Bogaert, D., R. De Groot et PW. Hermans (2004). *Streptococcus pneumoniae* colonisation : the key to pneumococcal disease- *Lancet Inf Dis.* **4** :144-154.
- Bouladoux,N., T.W. Hand., S. Naik et Y. Belkaid (2013). Microbiote et lymphocytes T, Les meilleurs ennemis. *Med Sci (Paris).* **29** : 349–352
- Bouskraoui, M., N. Sora., K. Zahlane., L .Arsalane., C. Doit., P. Mariani et E. Bingen (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.

- Brieu, AN., E. Varon., R. Baraduc., et al (2015). Observatoires régionaux du pneumocoque : évolution de la résistance aux antibiotiques et des sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* isolés en France entre 2009
- Brisou, P., J. M. Chamouilli., T. Gaillard et Y. Muzellec (2004). Infection invasive. Elsevier. **1** :410–431.
- Burcelin, R., C. Chabo., V. Blasco-Baque., M. Sérino., J. Amar (2013). Le microbiote intestinal à l'origine de nouvelles perspectives thérapeutiques pour les maladies métaboliques ?. médecine/sciences. **29** : 800-6
- Chardon, H (2008). L'antibiogramme du pneumocoque. Elsevier Masson SAS. **407** :45-59.
- Charvériata, M. A., M. Chomarab, M. Watsonc et B.Garina (2005). Étude du portage rhinopharyngé de *Streptococcus pneumoniae* chez les enfants sains âgés de 2 à 24 mois en Nouvelle-Calédonie. Médecine et Maladies Infectieuses. **35** : 500-506.
- Chavanet, P., A. Atale., S. Mhy., C. Neuwirth., E. Varon., H. Dabernat., H. Portier (2011). Portage nasopharyngé. sensibilités et sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* chez les enfants de crèches. Elsevier Masson. **41** :307-317.
- Cho, EY., HM. Kang., J. Lee., JH. Kang., EH. Choi., HJ. Lee (2012). Changes in serotype distribution and antibiotic resistance of nasopharyngeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* from children in Korea, after optional use of the 7-valent conjugate vaccine. J Korean Med Sci. **27**:716-22.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing In: Sixteen informational supplement(2014) CLSI; M100- S16.
- Cohen, R., A. Rybak., M. Tauzin et C. Levy (2017). Vaccins conjugués contre le pneumocoque chez l'enfant. La revue de praticien. **67** :1056-1058.
- Corthier, G., J. Doré (2010). Une ère nouvelle dans le domaine des interactions entre le microbiote et la santé humaine. Elsevier Masson SAS. **34** : 1-6.
- Coudeyras, S et C. Forestier (2010). Microbiote et probiotiques : impact en sante' humaine. Presses scientifiques du CNRC. **56** : 611–650.
- Delarras, C (2010). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux, Reglementation- Micro-organisme- Prelevement-Analyses : Micro-organismes des eaux. tec&doc 2éme ed: 96
- Denis, F., C.Bouchiat., J. Loubinoux et al (2016). «Cocci à Gram positif, » dans Bactériologie médicale : Identification et systématique bactérienne.Elsevier Masson SAS : 272-274.

Références Bibliographiques

- Dunais B, Laurans C, Bruno P, et al. (2008). Portage de pneumocoques dans les établissements d'accueil du jeune enfant des Alpes-Maritimes et du Nord : 1999–2006. *Med Mal Infect*;38(2):30–4.
- Dunais, B., C. Laurans., H. Carsenti-Dellamonica et M. Roussel-Delvallez (2012). Portage de pneumocoques dans les établissements d'accueil du jeune enfant des Alpes-Maritimes et du Nord : 1999 – 2006. Elsevier Masson. **38** :30-34.
- Eisenstein. B.I., M. schaechter (1993). La flore microbienne normale dans *Microbiologie et pathologie infectieuse* : 16-18
- El-Nawawy, AA., SF. Hafez., MA. Meheissen., NM. Shahtout., EE. Mohammed (2015). Nasopharyngeal carriage, capsular and molecular serotyping and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* among asymptomatic healthy children in Egypt. *Journal Tropical pediatrics*. **61** :455–463.
- Ercibengoa, M., N. Arostegi., J. M. Marimón., M. Alonso et E. Pérez-Trallero (2012). Dynamics of pneumococcal nasopharyngeal carriage in healthy children attending a day care center in northern Spain. Influence of detection techniques on the results. *BMC Infectious Diseases*. **12** :69.
- Ferreira, DM., K. C. Jambo et S. B. Gordon (2011). Experimental human pneumococcal carriage models for vaccine research. *Trends Microbiol*. **19**: 464-70.
- Ferron, A (1984). *Bactériologie médicale : à l'usage des étudiants en médecine*. C. et R 12e éd : 374.
- Ferroni, A., P. Berche (2000). *Streptococcus pneumoniae*: résistance aux antibiotiques. John Libbey eurotext. **6** :443-41.
- Floret, D. (2001). Les décès par infection bactérienne communautaire. Enquête dans les services de réanimation pédiatrique français. *Archives de Pédiatrie*. **8** : 705-711.
- Garnier, F., M. C. Ploy et F. Denis (2016). *Bactériologie médicale : Cocci à Gram positif*. Elsevier masson. Chapitre 32 : 291–299.
- Gehano. P., P. Léophonte et Y. Mouton (1995). La colonisation microbienne des voies respiratoires. John Libbey eurotext : 74.
- Gillespie, S. H et P. M. Hawkey (2006). *Principles and Practice of Clinical Bacteriology : Oral and Other Non-β-Haemolytic Streptococci*. John Wiley & Sons. 2^e ed :21.
- Hecini-Hannachi A (2014), thèse de doctorat :*Streptococcus pneumoniae* dans les infections invasives: identification, résistance aux antibiotiques et sérotypage.constantine, Université Constantine I, 24-29.

- Hernandez-Bou, S., J. J. Garcia., A. Gene., C. Esteva, E. Amo., C. Muñoz-Almagro (2012). Pneumococcal carriage in children attending a hospital outpatient clinic in the era of pneumococcal conjugate vaccines in Barcelona. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. **74** :258-62.
- Hill, P. C., A. Akisanya., K. Sankareh., Y. B. Cheung., M. Saaka., G. Lahai., B. M. Greenwood et R.A. Adegbola (2006). Nasopharyngeal carriage of 376 *Streptococcus pneumoniae* in Gambian villagers. *Clin Infect Dis*. **43** :673-679.
- <http://graphpad.com/quickcalcs/contingency1.cfm>.
- Jenkins, S. G., S. D. Brown, D. J. Farrell (2008). Trends in antibacterial resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolated in the USA: update from PROTEKT US years 1–4. *An Clin Microbiol Antimicrob*. **7**: 1.
- Joloba, M. L., S. Bajaksouzian, E. Palavecino., C. Whalen et M. R. Jacobs (2001). High prevalence of carriage of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in children in Kampala Uganda. *Int J Antimicrob Agents*. **17** :395-400.
- Kadioglu, A., J. N. Weiser, J. C. Paton, et P.W.Andrew (2008).The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and disease. *Nature reviews. Microbiology*. **6** :288-301.
- Kim, K. S (2003). Pathogenesis of bacterial meningitis: from bacteraemia to neuronal injury. *Nat Rev Neurosci*. **4** :376-85.
- Kyaw, M. H et al (2006). Effect of Introduction of the Pneumococcal Conjugate Vaccine on Drug-Resistant *Streptococcus pneumoniae*. *New England Journal of Medicine*. **354** :1455–1463.
- Larange, H. (1994). Infections par *Streptococcus pneumoniae* : physiopathologie et réponses immunitaires. *Médecine et Maladies Infectieuses*. **24** : 927-938.
- Le Diest, F (2002). Mécanismes de défense antipneumococcique.**5** :26-30
- Loeb M., A. McGeer, M. McArthur, S. Walter et A. E. Simor (1999). Risk factors for pneumonia and other lower respiratory tract infections in elderly residents of long-term care facilities. *Archives of Internal Medicine*. **159**: 2058–2064.
- Lynch, JP., GG. Zhanel (2009). *Streptococcus pneumoniae* : does antimicrobial resistance matter. *Semin Respir Crit Care Med*. **30** :210-238.
- Madigan, M.T., J. M. Martinko., K.S. Bender., D.H. Buckley., D.A. Stahl., T. Brock (2015). Brock biology of microorganisms: Pathogenicity and immunology. Pearson14ed. *Microbial Interactions with Humans* : 1041-706.

Références Bibliographiques

- Magiorakos, A. P., A. Srinivasan, R. B. Carey, Y. Carmeli, M. E. Falagas, C. G. Giske, S. Harbarth, J. F. et G. Hindler (2011). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infections*. 18: 268-281.
- Mariko, R (2005), Thèse de pharmacie : Caracteres bacteriologiques et place de *Streptococcus pneumoniae* dans les infections bacteriennes invasives chez les enfants hospitalisés dans le service de pediatrie de l'hopital Gabriel toure. Bamako, université de Bamako : 136
- Ministère algérien de la santé et de population et la réforme hospitalière.
- Mudhune, S., M. Wamae (2009). For the Network Surveillance for Pneumococcal Disease in the East African region. *C.I.D.* 48: 147-152.
- Organisation mondiale de santé (2012)
- Poly, M., C. Grélaud., F. Celerier., D. Chagnaud et al (1999). Enquête épidémiologique sur la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques : résultats de l'observatoire régional Limousin. Elsevier. 29 : 520-524.
- Raymond, J., R. Cohen., F. Moulin., D. Gendrel et P. Berche (2002). Facteurs influençant le portage de *Streptococcus pneumoniae*. Elsevier. 32 :13-20.
- Recommandations du Comité de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (2014).
- Rieux, V (2002). Les facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae*. *Med Mal Infect.* 32: 1-12.
- Robert, J. C. (2010). Cour de bactériologie. Faculté d'odontologie de Rennes 1.
- Sanders. W., James F. Morris., P. Alessi. Et al (1991). Oral ofloxacin for the treatment of acute bacterial pneumonia: Use of a nontraditional protocol to compare experimental therapy with "usual care" in a multicenter clinical trial. *PlumX Metrics*. 91 :261–266
- Song, J. Y., H. Moon., M. H. Nahm et M. Allen Moseley (2013). Clinical Implications of Pneumococcal Serotypes: Invasive Disease Potential, Clinical Presentations, and Antibiotic Resistance. *J Korean Med Sci*. 28: 4-15.
- Soussy, C. J (2003). État actuel de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* aux fluoroquinolones en France et dans le monde. *Méd Mal Infect.* 33 :125–33.
- Stedman, A., G. Nigro et P. J. Sansonetti (2016). Le dialogue microbiote-cellules souches, Un élément clé pour la régénération intestinale. *Med Sci (Paris)*. 32 :983–990

- Van de sande-Bruinsma, N., H. Grundmann., D. Verloo., E. Tiemersma., J. Monen., H. Goossens et al (2008). Antimicrobial drug use and resistance in Europ. Emerg. Infect. Dis. **14** :1722-30.
- Varon, E (2015). Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae*. Med. Mal. Infect. **42** :361-365.
- Varon, E., R. Cohen., S. Béchet., C. Doit et C. Levy (2012). Invasive disease potential of pneumococci before and after the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine implementation in children. Vaccine. **33** :6178-85.
- Vos, P., G. Garrity., D. Jones., N.R. Krieg., W. Ludwig., F.A Rainey., K.H. Schleifer., W. Whitman (2009). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. **3**: The Firmicutes.
- Warda, K., K. Oufoud. et M. Bousekraoui (2012). Portage rhinopharyngé de *Streptococcus pneumoniae* chez les enfants. International Journal of Biological. **6**: 427-437.
- Watson, A., Musher. D.M., Verhoef. J (1995). Pneumococcal virulence factor and host immune responses to them. Eur J Clin Micro- biol Infect Dis. **4** : 479-90
- Weiser, N., J. Daniela., M. Ferreira et J. C. Paton (2018). *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. Nat Rev Microbiol. **16** :355-367.
- World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization- WHO position paper. Wikly Epidemiol Rec (2007); **82**: 93-104.
- Yaro, S., M. Lourd, Y. Traoré, B. M. Njanpop-Lafourcade, A. Sawadogo, L. Sangare, A. Hien, M. S. Ouedraogo, O. Sanou, I. Parent du Châtelet, J. L. Koeck et B. D. Gessner (2006). Epidemiological and molecular characteristics of a highly lethal pneumococcal meningitis epidemic in Burkina Faso. Clin Infect Dis. **43**: 693-700.
- Ziane, H (2015). Thèse de doctorat en science médicale. *Streptococcus pneumoniae* : résistance aux antibiotiques, fréquences des sérotypes, principaux sérotypes impliqués dans les infections invasives et aux portage nasopharyngé.

Annexes

Tableau I : Nouveau calendrier vaccinale en Algérie (www.sante.gov.DZ/)

Age de la vaccination	Vaccins
Naissance	BCG Anti-poliomyélique (polio orale) Anti-hépatite B
2 mois	Anti-diphtérique anti-tétanique Anti-coquelucheux Anti-haemophilusunfeluenzae B Anti-hépatite B Anti-poliomyélique orale. Anti-pneumococcique
3 mois	Anti-poliomyélite injectable
4 mois	Anti-diphtérique anti-tétanique Anti-coquelucheux Anti-haemophilusunfeluenzae B Anti-hépatite B Anti-poliomyélique orale. Anti-pneumococcique
11 mois	Anti-rougeoleux. Anti ourlien Anti-rubéoleux
12 mois	Anti-diphtérique anti-tétanique Anti-coquelucheux Anti-haemophilusunfeluenzae B Anti-hépatite B Anti-poliomyélique orale. Anti-pneumococcique
18 mois	Anti-rougeoleux. Anti ourlien Anti-rubéoleux
6 ans	Anti-diphtérique anti-tétanique Anti-coquelucheux Anti-poliomyélique orale
11- 13 ans	Anti-diphtérique anti-tétanique adulte (dt) Anti-poliomyélique orale
16- 18 ans	Anti-diphtérique anti-tétanique adulte (dt)
Chaque 10 ans à partir de 18 ans	Anti-diphtérique anti-tétanique adulte (dt)

Fiche de renseignement pour le portage nasopharyngé de *S. pneumoniae*

Service de Microbiologie CHU Mustapha Bacha

Pr W. Amhis

Fiche de renseignement du portage nasopharyngé de *S. pneumoniae* chez l'enfant

Numéro du patient :

Nom : Prénom : Age : Sexe : M F

Adresse : Numéro de Tél :

Milieu : Rural Urbain

Type d'habitation : Traditionnel Immeuble Bidonville Villa

Conditions socio-économiques : Mauvaises Moyennes Bonnes

Tabagisme passif : Oui Non

Vaccination : Correcte Oui Non Anti pneumococcique Oui Non

Doses anti pneumococcus reçues: 2 mois 4 mois 6 mois 12 mois autres

Antécédents

- Maladies infectieuses : Oui Non : Otites Angine Infections

Respiratoires préciser..... Nombre d'épisodes : Date de la dernière infection

- ATCDS d'hospitalisation : Oui Non motif :

- Autres ATCDS:

Mode de garderie : Crèche Maison Nourrisse

Nombre de personnes vivant sous le même toit : Nombre de fratrie

Nombre d'enfant dont l'âge est < 5 ans : fratrie nourrisse

Type d'allaitement : Maternel Artificiel durée.....

Traitement antibiotique (ATB) reçu dans le mois précédent : Oui Non

Type d'ATB Durée de la prise.....

Antibiotique en cours : Oui Non

Type d'ATB :

Diagnostic : portage de :

Streptococcus pneumoniae : Oui Non

Observations :

Tableau II : Matériel non biologique utilisé

Consommables	Appareillage et équipements
-Bac inoculateur	-MicroScan Walk away
-Boite de Pétrie	-Etuve
-Desoxycolate de sodium	-Hôte
-Disque d'optochine	-Bec bunsen
-Disque de gentamycine	-Bain marie
-Eau distillée	-Balance
-peroxyde d'hydrogène= eau oxygénée	-Entonnoir
-Eau physiologique stérile	-Gants
-Ecouillons stérile	-Agitateur magnétique
-Embouts	-Réfrigérateur
-Micropipette	-Densitomètre
-Micro-tube	
-Pince	
-Pipette pasteur	
-Plaque Mstrp+1 et couvercle	
-Renok (inoculateur)	
-Sang humain	
-Sang de cheval	
-Tube à essai stérile	

Tableau III. L'automate MicroScan Walkaway qui permet l'identification des germes et leur antibiogramme.

Microscan Walkaway SI	
Fabricant / Représentant	Siemens / Lapropharm Plus
Principe	CMI en milieu liquide
Normes	CLSI
Version du logiciel Expert	Mises à jour régulières
Groupes de germes ciblés	Entérobactéries BGN non fermentaires Staphylocoques Staphylocoques B et entérocoques Pneumocoques et Streptocoques (autre que streptocoques B) <i>Haemophilus spp</i>
Description	Résultats en CMI CMI mesurés Valeurs des CMI ne dépendent pas de l'identification Plaques à capsules Ajouts de réactifs biochimiques au niveau de l'appareil Consommables : Système d'inoculation, milieux pour antibiogrammes pneumocoque et <i>Haemophilus spp</i>
Maintenance	Equipe technique installée en Algérie.

Composition des milieux de culture**• Muller-Hinton AGAR :**

Infusion de viande de bœuf déshydratée	2.0 g
Hydrolysate acide de caséine	17.5 g
Amidon soluble	1.5 g
Agar	17.0 g
pH	7.3
Eau distillée	100 ml

• Gélose Columbia (1 L):

Peptone pancréatique de cœur	3.0 g
Extrait autolytique de levure	3.0 g
Agar agar bactériologique	13.5 g
Amidon de maïs	1.0 g
Chlorure de sodium	5.0 g
Eau distillée	100 ml
Polypepton	17.0 g
pH	7.3

