

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

UNIVERSITE DE BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



# *Mémoire de fin d'étude*

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques

Option : Microbiologie-Bactériologie

Thème

**Etude de l'antibiorésistance des souches de streptocoques  
isolées au niveau de l'établissement  
public hospitalier de Koléa**

Date de soutenance : 03-07-2016

Présenté par :

M<sup>elle</sup> : BELKORANE HEDJALA Fatma Zohra et M<sup>elle</sup> : TOUMI Soumia

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> BOUJEMAA N.	MCB	UB 1	Présidente
M <sup>me</sup> KHALDOUN H.	MCB	UB 1	Examinatrice
M <sup>me</sup> BOKRETA S.	MAB	UB 1	Promotrice
M <sup>me</sup> MECHERARA N.	MA	EPH koléa	Co -Promotrice

Promotion : 2015-2016

# Remerciement

*Louanges à Allah le miséricordieux, le très miséricordieux, qui nous a aidé tout au long de notre vie et qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*Un grand Merci à notre promotrice **M<sup>me</sup> Bokreta. S** pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour sa rigueur scientifique, pour son assistance, pour son aide et son soutien.*

*Nous vifs remerciements s'adressent aux honorables membres du jury :*

***Dr BOUDJEMA N.** nous faire honneur en acceptant de présider le Jury de cette mémoire, Soyez assuré de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.*

*Nous voudrais également remercier **Dr Khaldoune H.** pour l'examinasson de notre travail, Veuillez accepter nos remerciements ainsi que le témoignage de notre respect et notre gratitude.*

*Nous remercions également notre co-promotrice Mme Mecherara pour ses conseils et sa patience.*

*Nous adressons un merci chaleureux et sincère à toute l'équipe du laboratoire central « Unité de microbiologie » de l'hôpital de Kolea pour leur sympathie, leur coopération et leur soutien.*

*Nous n'oublions pas à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs ayant participé à notre formation durant les cinq années de nos études.*

*Enfin, nous remercions toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*Louange et Gloire à DIEU le Tout Puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail.*

*A mon père Maamar:*

*Vous m'avez enseigné le sens de l'honneur, de la dignité, de la probité morale et le respect de soi.*

*Votre affection, votre soutien moral et matériel ne m'ont jamais fait défaut. Vos conseils m'ont beaucoup aidé et je crois avoir atteint en partie vos objectifs. Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour moi jusqu'à cet instant. Qu'Allah puisse vous accorder santé, bonheur, et longévité.*

*A ma mère Cherifa : Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ;*

*Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale. Merci pour vos encouragements et vos conseils*

*A mes grandes mères Malika et Fatma Zohra et mon grand père Moussa: Merci pour tous les efforts, et pour vos conseils.*

*A mes frères : Abderrahmane et Fayçal :*

*Merci pour tous les efforts auxquels vous avez toujours consenti pour moi. Merci pour vos encouragements et vos onseils. Vous restez dans mes pensées et dans mon cœur.*

*A mes sœurs : Meriem, Fatima Zohra, Ahlem : Merci pour vos conseils et vos encouragements.*

*Et je dédie ce travail à mes oncles :Bouaza,Abderazek,Rachid ,Ahmed Et aussi mes tantes : Abassya, Aicha, Nacira, khayra, Habiba , Merci pour vos encouragements et vos conseils*

*A mes cousins et cousines : Merci pour vos encouragements et vos conseils.*

*Je remercie particulièrement mes amis :Fatma Zohra ,Nesrine, Ahlem,Hanna,Nadjet,Meriem, ,Sarra, Horia, Rima. Pour leur humour, leur vivacité d'esprit, et pour leur encouragements*

**Soumia**

## بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui ont consenti à sa réalisation, en particulier :*

*A celui qui n'a cessé de me procurer son aide durant mes Années d'étude : à toi mon père, je dédie ce travail qui est le Fruit de ta patience et de ton éducation.*

*A celle qui m'a imprégné de l'essence de son être, de sa générosité, et de sa gentillesse n'a jamais cessé d'être là pour moi. c'est à toi ma mère que je dédie ce travail.*

*A mes grands parents*

*A toute ma famille*

*A mes chers frères : oussama, Mohamed , ahmed, adem, idriss*

*A ma grande sœur : Kenza*

*A tous mes oncles*

*A toutes mes tantes*

*A mes cousins et cousines*

*A tous mes amies Soumia, Hanna, Ahlem ,Amina, Asma,*

*Sara ,Nesrine et Horia*

***Fatma z***

## Résumé

L'objectif de cette étude est l'isolement et l'identification des souches de streptocoques ainsi que l'étude de leur profil de résistance aux antibiotiques. 21 souches des streptocoques ont été isolées à partir de 1518 prélèvements de nature différentes provenant des malades hospitalisés et externes. L'identification des souches a été réalisée par les méthodes bactériologiques conventionnelles. L'étude de la sensibilité *in vitro* aux antibiotiques a été faite par la méthode de diffusion de disques en milieu solide.

Les résultats d'identification des germes révèlent la prédominance de *streptococcus spp* (57.14%), suivie par les streptocoques du groupe D (19.04%) et les streptocoques du groupe B (14.28%). Alors que les streptocoques du groupe A et *S.pneumoniae* ne présentent que 4.76% des souches isolées. Sur les 21 souches isolées, 38.09% proviennent de prélèvements vaginaux, 33% de pus, et 23.8% d'urines. Dans notre étude, le nombre de prélèvements de LCR est le plus faible (4.76%). Le sexe féminin est le plus touché par les infections streptococciques (76%) par rapport au sexe masculin (24%) avec un sexe ratio F/H de 3.17. Nos résultats montrent une prédominance des souches communautaires (67%) par rapport aux souches hospitalières (33%).

Les résultats d'antibiogrammes des souches isolées vis-à-vis quelques antibiotiques de différentes familles sont décrits. La majorité des souches isolées présente une résistance accrue vis-à-vis les antibiotiques testés principalement à la tétracycline, l'érythromycine et la clindamycine.

**Mots clés :** Antibiorésistance, Isolement, Identification.

## Abstract

The objective of this study is to isolate and identify streptococcus strains and to study their antibiotic resistance profile. 21 streptococcus strains were isolated from 1518 samples from hospitalized patients and outpatients. The identification of the strains was carried out by conventional bacteriological methods. The study of in vitro antibiotics susceptibility was made by disk diffusion method in solid medium.

The germs identification results show the predominance of *Streptococcus spp* (57.14 %), followed by Streptococcus group D (19.04 %) and group B streptococci (14.28 %). While the group A streptococci and *S. pneumoniae* present only 4.76 % of isolates. Of the 21 isolated strains, 38.09 % come from vaginal swabs, 33% of pus, and 23.8 % of urine. In our study, the number of CSF samples is the lowest (4.76 %). Females are more affected by streptococcal infections (76%) compared to males (24%) with a sex ratio F / M of 3.17. Our results show a predominance of community strains (67%) compared to hospital strains (33%)

The results of antibiotic susceptibility testing of isolated strains towards some antibiotics from different families are described. The majority of isolated strains present an increased resistance versus tested antibiotics mainly to tetracycline, erythromycin and clindamycin.

**Keywords:** Antibiotics, Resistance, Isolation, Identification

## ملخص

كان الهدف من هذه الدراسة عزل وتحديد سلالات streptocoques ودراسة مقاومتها للمضادات الحيوية. وقد أجري عملنا خلال الفترة الممتدة من يناير حتى مايو 2016 في المختبر المركزي لمستشفى القليعة. تم عزل 21 سلالة من عينات مختلفة لمرضى من داخل وخارج المستشفى. و قد تم التعرف على السلالات باستخدام الطرق البكتريولوجية التقليدية. تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية باستعمال طريقة الأقراس في وسط صلب.

أظهرت نتائج التعرف على الميكروبات تصدر *streptococcus spp* بنسبة 57.14 % تليها streptocoques du groupe D بنسبة 19.04% ثم streptocoques du groupe B بنسبة 14.28 % في حين مثلت كل من les streptocoques du groupe A و *S.pneumoniae* نسبة 4.76% من 21 سلالة معزولة % 38 كان مصدرها العينات المهبلية، 33% من القيح، و 23.8% من البول، اما بالنسبة لعدد عينات السائل النخاعي في دراستنا فكان هو الأدنى بنسبة 4.76%. أظهرت دراستنا ان النساء هن الأكثر إصابة بالتهاب العقديات (76%) مقارنة بالرجال (24%) بنسبة جنس 3.17 كما بينت نتائجنا تفوق نسبة السلالات المكتسبة في المجتمع (67%) على مثلتها المكتسبة في المستشفى (33%).

تم وصف نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للسلالات المعزولة ضد بعض المضادات الحيوية من عائلات مختلفة في دراستنا. معظم السلالات المعزولة أظهرت مقاومة عالية ضد المضادات الحيوية المختبرة خاصة ل la clindamycin ، tétracycline, l'érythromycine يبقى الإنسان هو المتسبب الرئيسي في ظهور هذه المقاومة من خلال سوء استخدام المضادات الحيوية دون داع أو بشكل غير صحيح. و بالتالي فان أفضل طريقة لمكافحة هذه المشكلة هي إجراء حملات توعية للاستخدام الصحيح للمضادات الحيوية

**الكلمات المفتاحية :** العقديات، سلالات ، المضادات الحيوية، المقاومة، العزل، تحديد

## Liste des abréviations

**ADN**: désoxy ribonucléique

**ASLO** : Antistreptolysine O

**ARN**: Adénoside ribonucléique

**ATB** : Antibiotique

**BGT** : **Bouillon** glucosé tamponné

**CATH** : Cathéters

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**ECBU** : Examen cytbactériologique des urines

**EPH** : Etablissement public hospitalier

**GN** : gélose nutritif

**GSC** : gélose au sang cuit

**GSF** : gélose au sang frais

**GS** : gélose au sang

**HK** : Hektoen

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**IU** : Infection urinaire

**LCR** : Liquide céphalorachidien

**MH** : Muller Hinton

**NAM** : Acide N-acétylmuramique

**PV** : Prélèvement vaginal

**S** : Sensible

**SGA** : Streptocoque du groupe A

**SGB** : Streptocoque du groupe B



**SGC** : Streptocoque du groupe C

**SGD** : Streptocoque du groupe D

**R** : Résistant

**UFC** : Unité Forma Colonie.

.

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	<i>Streptococcus spp</i>	5
<b>Figure 2</b>	Les différents types d'hémolyse des streptocoques	7
<b>Figure 3</b>	Mode de dispersion du pneumocoque chez l'humain et les manifestations cliniques principales associées	10
<b>Figure 4</b>	Ecouvillon pour prélèvement vaginale	24
<b>Figure 5</b>	Coloration de Gram de <i>streptococcus spp</i>	28
<b>Figure 6</b>	Test de catalase	29
<b>Figure 7</b>	Test d'esculine	30
<b>Figure 8</b>	Sensibilité à l'optochine	30
<b>Figure 9</b>	Les étapes de test d'agglutination par pastorex <i>Streptococcus</i>	31
<b>Figure 10</b>	Test d'agglutination	32
<b>Figure 11</b>	Répartition des souches de streptocoques en fonction du sexe.	36
<b>Figure 12</b>	Répartition des souches selon l'origine des prélèvements	37
<b>Figure 13</b>	Le profil de résistance des SGB vis-à-vis différentes familles d'ATB	38
<b>Figure 14</b>	Le profil de résistance des SGD vis-à-vis différentes familles d'ATB	39
<b>Figure 15</b>	Le profil de résistance des <i>Streptococcus spp</i> vis-à-vis différentes familles d'ATB	39
<b>Figure 16</b>	La culture de streptocoque sur milieu gélose au sang	Annexe
<b>Figure 17</b>	Antibiogramme de streptocoque sur milieu MH au sang	Annexe

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	Classification des streptocoques humain et animale sérologiquement groupables selon Lancefelde	3
<b>Tableau II</b>	Classification des streptocoques humain et animale sérologiquement non groupables selon Lancefelde	4
<b>Tableau III</b>	La nature des prélèvements et leurs effectifs	21
<b>Tableau IV</b>	Les principaux liquides internes et leurs localisations	23
<b>Tableau V</b>	Composition des parois bactériennes (Gram+, Gram-) en protéines et en lipides	27
<b>Tableau VI</b>	Principales étapes de la coloration de Gram	27
<b>Tableau VII</b>	Résultats des tests biochimiques	34
<b>Tableau VIII</b>	Résultat de test d'agglutination	34
<b>Tableau IX</b>	Répartition des souches de streptocoques selon l'espèce	35
<b>Tableau X</b>	Répartition des souches en fonction de la nature du prélèvement	36
<b>Tableau XI</b>	Compositions des Milieux de culture	Annexe II

## Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
<b>CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>I. RAPELLS SUR LES STREPTOCOQUES</b>	
I.1. Historique.....	2
I.2. Classification .....	2
I.3. Systématique .....	4
I.4. Habitat .....	5
I.5. Caractères bactériologiques .....	5
I.5.1. Caractères morphologiques.....	5
I.5.2. Caractères culturaux .....	6
I.5.3. Caractères biochimiques .....	7
I.5.4. Caractères antigénique .....	7
I.6. Pouvoir pathogène .....	9
I.7. Epidémiologie .....	11
I.8. Diagnostic bactériologique .....	12
I.9. Diagnostic sérologique .....	13
<b>II. ANTIBIOTIQUES</b>	
II. 1. Définition .....	13
II. 2. Classification des antibiotiques .....	13
II. 3. Principales familles d'antibiotiques actifs sur les streptocoques .....	14
<b>III. ANTIBIORESISTANCE</b>	
III. 1. Définition .....	16
III.2. Types de résistance .....	16
III. 2.1. Résistance naturelle .....	16

<b>III. 2.2.</b> Résistance acquise .....	16
<b>III. 3.</b> Supports génétiques de la résistance acquise .....	17
<b>III. 3.1.</b> Résistance par mutation chromosomique .....	17
<b>III. 3.2</b> Résistance par acquisition de gènes .....	17
<b>III. 4.</b> Mécanismes biochimiques de la résistance .....	18
<b>III. 4.1.</b> Imperméabilité .....	18
<b>III. 4.2.</b> Excrétion par des systèmes d'efflux .....	18
<b>III. 4.3.</b> Inactivation de l'antibiotique .....	18
<b>III. 4.4.</b> Modification de l'affinité de la cible .....	18
<b>III.5.</b> Évolution de la résistance .....	19
<b>III.6</b> Notion de Sensibilité / Résistance des streptocoques .....	19

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

### **II.1 Matériel**

<b>II.1.1.</b> Matériel biologique .....	21
<b>II.1.2.</b> Matériel non biologique .....	21

### **II.2 Méthodes**

<b>II.2.1</b> Méthodes d'isolement de streptocoques à partir des différents produits pathologiques	21
<b>II.2.2</b> Techniques d'identification .....	24
<b>II. 2.2.1</b> Examen macroscopique .....	24
<b>II.2.2.2.</b> Examen microscopique .....	24
<b>II.2.2.3.</b> Mise en culture .....	25
<b>II.2.2.4.</b> Identification .....	26
<b>A.</b> Identification macroscopique .....	26
<b>B.</b> Identification microscopique .....	27
<b>C.</b> Identification biochimique .....	29
<b>D.</b> Identification antigénique .....	31
<b>II.2.3.</b> Antibiogramme .....	33

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>III -1-Prélèvements</b> .....	34
<b>III -2- Identification</b> .....	34
<b>III -2-1- Identification microscopique</b> .....	34
<b>III -2-2- Identification biochimiques des streptocoques</b> .....	34
<b>III -2-3- Identification antigénique</b> .....	34
<b>III -3-Répartition des souches</b> .....	35
<b>III-3-1- Répartition des souches de streptocoques selon les espèces</b> .....	35
<b>III-3-2- Répartition des souches de streptocoques en fonction du sexe</b> .....	35
<b>III -3-3-Répartition des streptocoques selon la nature du produit pathologique</b> .....	36
<b>III -3-5- Répartition des streptocoques selon l'origine des prélèvements</b> .....	36
<b>III -4- La résistance des souches de streptocoques aux antibiotiques</b> .....	37
<b>III -4-1- Antibiorésistance de Streptocoques du groupe B isolées</b> .....	37
<b>III-4-2- Antibiorésistance de Streptocoques du groupe D isolées</b> .....	38
<b>III-4-3- Antibiorésistance de <i>Streptococcus spp</i> isolées</b> .....	39
<b>III-4-5- Antibiorésistance de <i>Streptococcus pneumoniae</i> isolées</b> .....	39
<b>CONCLUSION</b> .....	46
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	48
<b>ANNEXES</b>	



## Introduction

Les streptocoques sont parmi les bactéries impliquées dans la pathologie humaine. la plupart des espèces sont habituellement commensales mais peuvent devenir pathogènes dans certaines circonstances particulières, et être responsables d'un grand nombre d'infections streptococciques sévères (**Le Bouar *et al.*, 1970**). Ces maladies infectieuses sont parmi les principales causes de mortalité au niveau mondial. (**Kardos et Demain, 2013**).

La prescription du traitement approprié consiste à une antibiothérapie, dont la réussite est dépendante de la fiabilité des analyses biologiques appliquées. Les bénéfices les plus significatifs au plan de la santé humaine suite à l'introduction des agents antimicrobiens ont été une diminution massive des décès relatifs aux maladies infectieuses (**Kardos et Demain, 2011**).

Au cours des dernières décennies, l'utilisation fréquente et parfois inadéquate des antibiotiques à large spectre, a conduit à l'émergence et à la multiplication de bactéries résistantes aux antibiotiques. Or, la résistance bactérienne aux antibiotiques constitue une menace pour l'avenir entraînant des choix thérapeutiques de plus en plus limités (**Soussy, 2007**).

En Algérie, ce phénomène préoccupe les pouvoirs publics qui engagent différentes stratégies pour maîtriser la progression de ces résistances. Une bonne connaissance de la sensibilité usuelle mais aussi des résistances naturelles ou acquises des streptocoques sera donc indispensable pour orienter le clinicien dans l'antibiothérapie de ces maladies.

C'est dans cette optique que ce projet de mémoire a comme objectif l'isolement et l'identification des souches de streptocoques ainsi que l'étude de leur profil d'antibio-résistance en réalisant une étude cyto-bactériologique des différents prélèvements.



## I. RAPPELS SUR LES STREPTOCOQUES

### I.1. Historique:

Le nom de *Streptococcus* (streptus = flexible ; coccus = grain) fut pour la première fois attribué par Billoth et Ehrlich (1877) à des coques formant des chaînettes observées dans les prélèvements provenant de blessures infectées. En 1879, PASTEUR décrit dans le pus d'un abcès chaud des microorganismes en grains de chapelet. ROSENBAACH leur donne, en 1884, le nom des streptocoques (**Kagoet al., 1990**).

NOCARD et MOLLEREAU (1887) découvrirent le « *Streptococcus* » de la mammite de Nocard » qui ensuite, fut appelé *Streptococcus agalactiae*. En 1933, LANCEFIELD a démontré qu'il était possible de classer les streptocoques en groupes en fonction de leur équipement antigénique (groupes A, B, C...). En 1984, SCHLEIFER réalisa la séparation des deux genres *Streptococcus* et *Enterococcus* (**Avril et al., 1988, Diop, 2003, ESKA, 2000**).

Les infections à streptocoques qui, autrefois, étaient considérées comme propres aux pays froids et humides, sont maintenant fréquentes en zone tropicale particulièrement en Afrique de l'Ouest (**Denis et al., 1978**).

### I.2. Classification :

Il existe plusieurs critères qui permettent de classer en pratique les différentes espèces du genre *Streptococcus*.

#### **Selon leur pouvoir hémolytique, on distingue :**

- des souches alpha hémolytiques : hémolyse incomplète.
- des souches bêta hémolytiques : hémolyse complète.
- des souches non hémolytiques (gamma) : pas d'hémolyse.

Ce critère ancien garde toujours sa valeur d'orientation.

#### **Selon leur équipement antigénique :**

La classification de Lancefield (1933) 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. D'autres dépourvues de polysaccharide C sont dites « non groupables ».

La classification de Lancefield distingue 20 groupes sérologiques (désignés par des lettres de A à M et de K à W). La technique de Lancefield comprend une extraction du polysaccharide C à

partir d'une suspension de la souche par l'acide chlorhydrique à chaud ou par l'acide nitrique ou la formamide. (Avril *et al.*, 2000).

GROUPES	ESPECES	HABITAT
A	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Homme, rhino-pharynx, peau , intestin
B	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Vache :mamelles Homme :intestin ,voies génitales, rhino- pharynx
C	<i>Streptococcus agtassimitis</i>  <i>Streptococcus Zooepidemicus</i> <i>Streptococcus equi</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Homme : rhino- pharynx Peau Animaux divers  Cheval vache
D	<i>Streptococcus faecalis</i> <i>Streptococcus faectium</i> <i>Streptococcus durans</i> <i>Streptococcus avium</i> <i>Streptococcus bovis</i> <i>Streptococcus equimus</i>	Homme : intestin, voies génitales  Volaille et autre animaux Vache , Homme Cheval et autre animaux
E	<i>Streptococcus uberis</i>	Vache
F	<i>Streptococcus anginosus</i>	Homme : rhino- pharynx intestin
GHKLM	<i>Streptococcus sp</i>	Homme :rhino-pharynx
N	<i>Streptococcus lacns</i>	Lait et produit divers
R	<i>Streptococcus suis</i>	Intestin (porcs)

**Tableau II** : Classification des streptocoques humain et animale sérologiquement non groupables selon Lancefielde (Ducaet *al .* ,1979).

ESPECES	HABITATS
<i>Streptococcus salivarius</i>	Salive-intestin
<i>Streptococcus mitis (mitis)</i>	Rhino-pharynx
<i>Streptococcus sanguis I</i>	Rhino-pharynx
<i>Streptococcus sanguis II</i>	Peau , intestin
<i>Streptococcus mutans</i>	Rhino-pharynx,dents
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Rhino -pharynx
<i>Streptococcus morbillorum</i>	Homme – Animaux
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Lait – yaourt
<i>Streptococcus milleri</i>	Rhino-pharynx,dents, intestin

### Selon les critères de la taxonomie moléculaire :

La taxonomie des streptocoques a rencontré de nombreux changements au cours des 20 dernières années. Ces changements sont principalement dus à l'application de techniques de biologie moléculaire telle que les expériences de réassociation ADN-ADN et le séquençage de l'ARNr 16S (Facklam,2002 ;ALAUZET,2009 ;Bergy,2011).

### I.3. Systématique

Selon la systématique de Bergy, le genre *streptococcus* appartient au :

Domaine: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Classe: Bacilli

Ordre: lactobacillales

Famille: *Streptococace* Genre: *Streptococcus*

Le genre *streptococcus* comporte des espèces et sous- espèces (Delarras , 2014).

### I.4. Habitat

Les streptocoques sont des bactéries ubiquistes, saprophytes des eaux, de l'air, du sol, ect

Sont retrouvés à l'état commensal sur la peau et les muqueuses. Au niveau des voies aériennes supérieures, on retrouve les pneumocoques et les streptocoques bêta-hémolytiques.

Les Streptocoques du groupe D sont retrouvés dans l'intestin et ceux du groupe B dans les voies génitales. Dans la bouche on a les streptocoques non groupables appelés *S.salivarius*, *S.sanguis*, *S.mitis*, *S.mutans*; qui donnent des dextrans jouant un rôle dans les caries dentaires (Delarras, 2014).

### **I.5.Caractéristiques bactériologiques:**

#### **I.5.1Caractères morphologiques**

Les streptocoques sont des coques ovoïdes ou sphériques à Gram positif, immobiles, non sporulé, souvent disposés en paire (diplocoque) et/ou en chaînettes plus ou moins longues. Les chaînettes résultent de la non séparation des paires de coques en division et se présentent comme une succession de diplocoques (Le Minor, 1989) (Voir figure 1).

Les Streptocoques des groupes A, C, G caractérisés par de longues chaînettes donnent sur milieux liquides une culture en dépôt. Les autres donnent un trouble homogène du bouillon et se présentent alors sous la forme de diplocoques (*S. pneumoniae*) ou de courtes chaînes (streptocoques du groupe B, *S. bovis*). Le phénomène de capsulation peut être observé avec les streptocoques du groupe A et surtout du groupe C dans la phase exponentielle de croissance (Le Minor, 1989).



**Figure 1 :***Streptococcus spp*

#### **I.5.2Caractères cultureux :**

Tous les streptocoques sont aéro-anaérobies. Ce sont des germes très fragiles. La température idéale de croissance est de  $36 \pm 2^\circ\text{C}$ . Les streptocoques peuvent pousser sur des milieux usuels mais néanmoins, ils ont des exigences nutritives très complexes.

#### **I.5.2.1 Culture sur milieux usuels**

La plupart des streptocoques poussent sur ces milieux et réalisent sur gélose nutritive des colonies très fines transparentes dispersées à la surface en grain de semoule avec une couleur légèrement bleutée. Cette culture étant difficile, il est préférable de la réaliser sur milieux enrichis (Avril *et al.*, 1992).

#### **I.5.2.2 Culture sur milieux enrichis**

Certaines substances sont habituellement utilisées pour enrichir les milieux. Ce sont les peptones, les extraits de viande ou infusion de coeur-cervelle, le sang, le sérum et / ou l'ascite. Les milieux peuvent se présenter soit sous forme liquide, soit sous forme solide.

##### **➤ Milieux liquides d'enrichissement**

Les streptocoques supportent très mal les milieux glucosés. En effet, le glucose par voie fermentative donne de l'acide lactique avec un abaissement du pH qui rend le milieu hostile. C'est la raison pour laquelle on utilise le bouillon glucosé tamponné (B.G.T.).

On peut également utiliser le bouillon streptosel. Les streptocoques donnent soit un trouble homogène avec ou sans dépôt (groupe B, D), soit une pousse granulaire avec sédimentation rapide, le surnageant pouvant être limpide ou légèrement trouble (A, C, G) (Le Minor, 1989).

##### **➤ Milieux solides d'isolement**

Les milieux les plus généralement utilisés sont les géloses enrichies au sang (sang de mouton ou de cheval). Ces milieux permettent de voir la capacité des streptocoques à lyser les hématies.

On peut observer une pousse des streptocoques 24 heures après incubation à l'étuve sous une atmosphère enrichie en  $\text{CO}_2$ . L'aspect de la zone d'hémolyse et sa dimension sont en fonction de l'hémolysine élaborée par la souche, du sang utilisé mais également du milieu (Le Minor, 1989).

Sur ces milieux enrichis, on distingue différents types d'hémolyse (voir figure2) :

##### **❖ Hémolyse bêta**

C'est une hémolyse complète. Les hématies sont complètement lysées sur un diamètre d'environ 3 à 4 mm autour des colonies. Cette hémolyse s'observe en général avec les

Streptocoques des groupes A, C, G double et quelque fois quadruple celle de la zone en question. Les SGB présentent une zone d'hémolyse très petite et par conséquent pas claire.

❖ **Hémolyse alpha**

Elle est incomplète. Les globules rouges ne sont que partiellement lysés sur un diamètre d'environ 1 à 2 mm. Cette hémolyse est accompagnée d'un verdissement du milieu. On parle alors d'une hémolyse alpha viridans. Le mécanisme de cette coloration est mal connu.

❖ **Hémolyse gamma ou absence d'hémolyse**

Il n'existe aucune trace d'hémolyse. On utilise plus couramment le terme streptocoque non hémolytique. *S. salivarius* et *S. milleri* présentent une telle hémolyse (Avrilet *al.*, 1992)



**Figure 2 :** Les différents types d'hémolyse des streptocoques

**I.5.3.Caractères biochimiques :**

Les Streptocoques sont caractérisés par :

- ❖ Absence de catalase
- ❖ Sensibilité à l'optochine
- ❖ Hydrolyse de l'esculine

**I.5.4.Caractères antigéniques :**

Les cellules des streptocoques sont composées de substances antigéniques localisées dans la paroi. La constitution antigénique des streptocoques est complexe et on retrouve de la périphérie à l'intérieur :

❖ **La capsule**

Sa composition chimique est variable selon l'espèce.

**❖ La paroi cellulaire :**

Elle conditionne la forme et la rigidité de la paroi bactérienne. Elle porte également les facteurs les plus importants de l'interaction hôte-parasite. Elle est composée de trois couches successives :

- ◆ Protéines (M, R, T)
- ◆ Polyoside C
- ◆ Mucopéptide (Peptidoglycane)

**➤ Le polyoside C :**

On l'appelle aussi antigène C. Il est enchâssé dans la muréine. Est spécifique de groupe et se situe entre la couche protéinique et le peptidoglycane. Les polyosides C, non toxigènes, sont des haptènes et ne deviennent antigéniques que lorsqu'ils sont attachés au peptidoglycane par des liaisons covalentes.

**➤ Le peptidoglycane :**

Responsable de la rigidité de la paroi streptococcique, le mucopéptide représente la structure de base de la paroi cellulaire. Il est composé d'un polyoside (unités répétitives de N-acétyl-glucosamine et acide N-acétyl-muramique) et d'un peptide (alanine+ acide glutamique + lysine). Le peptidoglycane possède plusieurs propriétés biologiques. Il est antigénique, immunologique, pyrogène et peut provoquer une réaction dermique locale.

**➤ L'acide teichoïque :**

Il se localise entre le mucopéptide et la membrane cytoplasmique. Composé d'un polyglycérophosphate, l'acide teichoïque a pour rôle primordial de lier les cations bivalents. Associé à un composant lipidique, il prend le nom d'acide lipoteichoïque (LTA) qui serait responsable de l'adhérence des streptocoques aux différentes muqueuses et cellules épithéliales.

**❖ La membrane cytoplasmique :**

Elle est composée de 72 % de protéines, 25% de lipides et de 2% de polyosides.

**❖ Le cytoplasme :**

Il est composé d'enzymes, et d'une fraction nucléoprotéinique dont celle des SGA qui est hétérogène antigéniquement, donnerait des réactions croisées avec les staphylocoques, les pneumocoques et les streptocoques non hémolytiques (**Traore H, 1947**).

## I.6. Pouvoir pathogène

Les infections dues aux streptocoques en général occupent une place très importante dans les infections communautaires. Chez l'homme, les espèces les plus pathogènes sont :

- Les Streptocoques du groupe A (*Streptococcus pyogenes*).
- Les pneumocoques (*Streptococcus pneumoniae*).
- Les Streptocoques du groupe B (*Streptococcus agalactiae*) (**Bekhti, 2012**).

### A- *Streptococcus pyogenes* ou Streptocoque du groupe A +6

Les SGA sont responsables de la quasi-totalité d'infections provoquées par les streptocoques, allant d'infections localisées non compliquées telles que les pharyngites aiguës ou des infections cutanées superficielles (abcès, phlegmon, impétigo, érysipèle...), à des infections invasives pouvant engager le pronostic vital. Les plus sévères, à l'heure actuelle, sont représentées par les dermo-hypodermes bactériennes nécrosantes pouvant évoluer jusqu'à la fasciite nécrosante, et les syndromes de choc toxique streptococcique. Les SGA peuvent également engendrer des séquelles post-streptococciques non suppuratives telles que le rhumatisme articulaire aigu, la glomérulonéphrite aiguë, la chorée et l'érythème noueux. Les SGA sont également incriminés dans les toxi-infections alimentaires dont la clinique se présente sous forme d'angines aiguës (**Kaplan, 1991**).

### B- *Streptococcus agalactiae* ou streptocoque du groupe B

Les SGB sont des bactéries communément présentes au niveau des tractus gastro-intestinal, urinaire et génital (**Money et Dobson, 2004**). Le portage du streptocoque B est relativement fréquent, puisqu'il est retrouvé chez 5 à 30 % des femmes. Il est le plus souvent asymptomatique et sans danger pour la femme, cependant il peut causer des infections urinaires, amniotiques et des endométrites du postpartum (**De Guerke, 2009, Thomas, 2010**). Chez le nouveau-né, il peut être responsable d'infections graves telles que des pneumonies, des méningites ou des septicémies (**Blanc et Bland, 1997**).

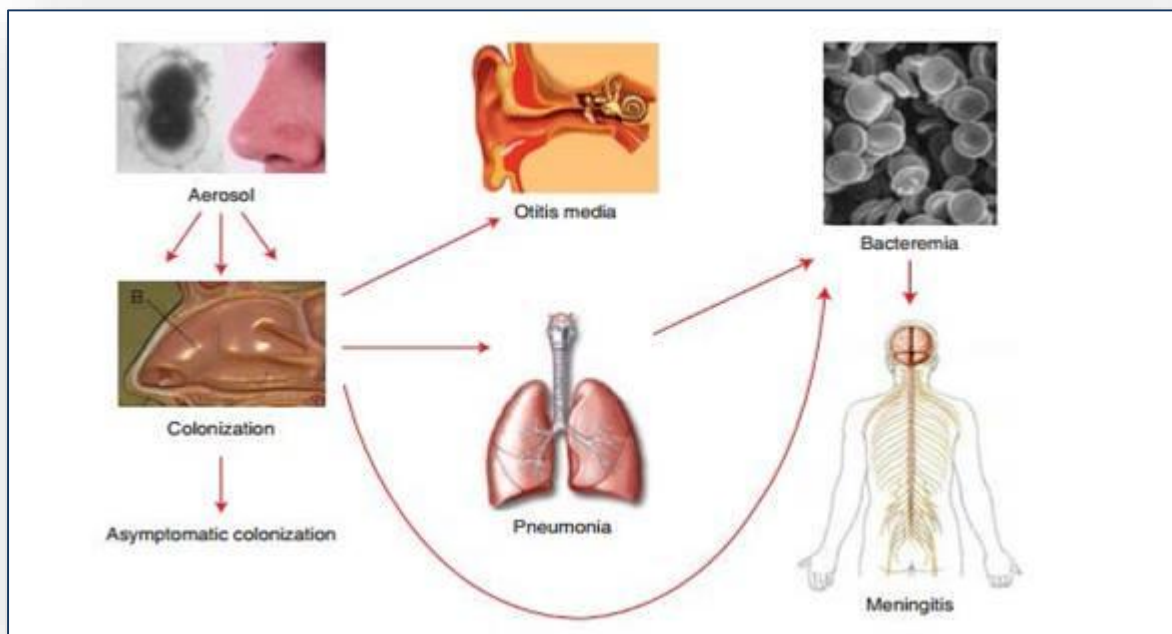
D'autres infections à SGB observées chez les adultes dont la femme enceinte comme l'endométrite, l'infection de plaies, l'ostéomyélite, l'endocardite, la cystite et la pyélonéphrite ont également été décrites (**Koeng et Keenan, 2009**).



### ***C-Streptococcus pneumoniae* ou pneumocoque :(voir figure3)**

*S. pneumoniae* est l'une des causes bactériennes dans le monde de septicémies, pneumonies, méningites, otites moyennes aiguës (OMA), et sinusites. Il est responsable d'une morbi-mortalité importante en particulier dans les infections pulmonaires et les méningites.

L'incidence de l'infection est plus importante chez les enfants âgés de moins de 2 ans et chez les sujets âgés de plus de 60 ans. Chez les sujets âgés et/ou immunodéprimés, les septicémies ou les méningites sont fréquemment mortelles. Les infections à pneumocoques s'accompagnent d'intenses phénomènes inflammatoires qui augmentent la gravité des lésions (Tuomanen, 2004).



**Figure 3** : Mode de dispersion du pneumocoque chez l'humain et les manifestations cliniques principales associées

### **D- Autre groupe de streptocoques**

Les infections provoquées par les Streptocoques du groupe C ont d'une extrême gravité mais sont plus rarement rencontrées que celles dues aux Streptocoques du groupe A et G.

Les SGC peuvent coloniser l'organisme et les infections les plus couramment rencontrées sont les angines, les méningites, les septicémies et les pneumonies surtout chez les

immunodéprimés. L'incidence des bactériémies de SGC est faible. Quant aux Streptocoques du groupe G, on rencontre également d'autres infections comme les infections cutanées, celles des voies respiratoires, les endocardites aiguës et subaiguës, les arthrites purulentes, les péritonites et les méningites.

Les streptocoques du groupe D sont responsables d'infections urinaires, de septicémies, d'infections hépatobiliaires et même d'intoxication alimentaire (**Correaet al., 1979**) alors que les streptocoques non groupables sont à l'origine d'endocardites (**Horodniceanu et al., 1977**).

### **I.7.Epidémiologie :**

L'incidence des infections streptococciques varie avec l'âge, la zone géographique, le niveau socioéconomique et la saison. Cette incidence est liée aussi directement aux propriétés biologiques du germe : adhérence aux cellules des muqueuses, virulence associé à certains types de protéines M (**Horaud et Bouguenec,1989**).

L'épidémiologie des infections à SGA varie grandement en fonction du lieu, du temps et du type d'infection. La scarlatine et la fièvre rhumatismale, relativement fréquentes en Occident jusque dans les années1940, sont devenues plutôt rares aujourd'hui. Dans les climats nordiques et même dans les pays développés, la pharyngite n'a pas diminué depuis un siècle (**Stevens, 2004**). Depuis les années 1980, on constate une augmentation marquée des cas d'infection invasive à SGA associés à des chocs toxiques ou à des fasciites nécrosantes, et ce, dans une majorité de pays industrialisés (**Stevens, 2004; Nguyen et al., 2003**).

En 1987-1988, la Norvège et la Suède ont été touchées par une épidémie de septicémie à SGA dont la létalité s'élevait à 25 % (**Martin et al., 1990**). Pour l'année 2000, le nombre de cas de septicémie à SGA a été estimé à 1000 (**Bouvet, 2006**).

En France, les SGB est la cause de 50% des infections néonatales et de 15 % des infections maternelles, et les infections materno-foetales représentent les 2/3 des infections à Streptocoque du groupe B (**Quentin, 2002**). L'incidence des infections materno-foetales est de 0,4 à 2 cas pour 1000 naissances (**Didier et al ., 2012, Kuhnet al.,2010, Anaes, 2001**). Le taux actuel de mortalité global des infections néonatales est de 9,6% avec un taux pour les

infections précoces de 12,1% et de 6,8% pour les infections tardives (**Edmond et al., 2012**). Ces taux varient en fonction du terme et du poids de naissance.

Aux Etats-Unis, le taux de mortalité est d'environ 4% à 6% (**Verani et al.,2010, Phareset al.,2005**).En France, le taux de mortalité des infections précoces est de 6% à terme, de 42% chez les prématurés et de 36% chez les hypotrophes, Pour les infections tardives, le taux de mortalité est compris entre 2 à 6% (**Quentin, 2002**).

La pneumonie à pneumocoque serait responsable de 500 000 à 1 400 000 décès dans le monde (**Mufson et al., 1990**). Aux Etats-Unis, la fréquence des cas de pneumonie avec une mortalité de l'ordre de 40 000 par an. Les autres infections à pneumocoque représenteraient 40 000 cas annuels, avec une mortalité de 6 000 à 7 000 cas. (**Klugman, 1990**). En Afrique, les données sur *S. pneumoniae* sont rapportées le plus souvent par l'OMS sur les méningites, données recueillies dans la « ceinture Africaine de la méningite ». Cette ceinture s'étend du Sénégal à l'Ethiopie et concerne 350 à 400 millions de personnes dans 21 pays.

### **I.8.Diagnostic bactériologique :**

Après prélèvement aseptique fait avant le début du traitement antibiotique, l'examen microscopique recherche la présence de cocci à Gram positif, de taille irrégulière, groupés en chaînettes. La culture est faite sur des milieux enrichis type gélose au sang. L'origine du prélèvement et la nature de l'hémolyse sur gélose au sang orientent le diagnostic:

- Si le prélèvement provient d'une cavité close (pus d'abcès, liquides d'épanchement, liquide céphalorachidien, urines) ou s'il s'agit d'une hémoculture, tous les streptocoques isolés peuvent être pathogènes même s'ils ne sont pas bêta-hémolytiques ;
- S'il s'agit au contraire d'un prélèvement de gorge (angine), seuls les streptocoques bêta-hémolytiques doivent être pris en considération. En plus il faut vérifier qu'ils appartiennent bien aux groupes A, C ou G.
  
- En cas de méningite néonatale, l'agglutination de particules de latex portant des anticorps anti-streptocoques B permet parfois d'identifier la présence d'antigène dans le LCR.
- Et enfin l'antibiogramme viendra toujours compléter le diagnostic direct (**Le Minor et Veron 1989**).

**I.9. Diagnostic sérologique** : Il repose sur le dosage dans le sérum (sérodiagnostic) des anticorps contre les enzymes du streptocoque. L'anticorps le plus souvent recherché est l'antistreptolysine O (ASLO) dont le taux normal est inférieur ou égal à 200 unités/ml (**Schroeter et al., 1972**).

## II. ANTIBIOTIQUES

### II.1. Définition :

Un antibiotique (du grec *anti*, contre et *bios*, la vie) est une substance chimique naturelle ou synthétique, ayant un mode d'action spécifique contre les bactéries. La majorité des antibiotiques sont des molécules naturelles, produites essentiellement par des bactéries ou certains champignons afin d'éliminer les micro-organismes sensibles (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (**Kohanski et al, 2010**). De plus, il existe des antibiotiques semi-synthétiques, qui sont en fait des antibiotiques naturels modifiés par l'addition de groupements chimiques (**Prescott et al, 2010**).

### II. 2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en se basant sur différents critères :

- 1-Origine: élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
- 2- Mode d'action: il agit sur la paroi, la membrane cytoplasmique, la synthèse des protéines ou la synthèse des acides nucléiques
- 3 -Spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- 4- Nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse (**Yala et al., 2001**).

Les antibiotiques ayant une même structure chimiques, à l'origine de leur mécanisme d'action, se classent dans une même famille ; au sein d'une même famille, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes ; au sein d'un même groupe, l'activité antimicrobienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leur propriété pharmacologique ou leur tolérance (**TALBERT et al ., 2009**).

## II. 3. Principales familles d'antibiotiques actifs sur les streptocoques

### A- Bêta-lactamines

Les  $\beta$ -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibioprofylaxie et en antibiothérapie (LAURENT, 2009). Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base: le noyau  $\beta$ -lactame. Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides. Il s'agit d'une famille qui comprend 5 groupes majeurs : les Pénames, les pénèmes, les oxapénames, les céphèmes et les monobactames (Fisher *et al.*, 2005).

Les  $\beta$ -lactamines ont un mécanisme d'action identique, elles inhibent la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne en se fixant de façon covalente sur certaines enzymes responsables de la transpeptidation , étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane, ainsi les empêchant d'assurer leurs fonctions (Pourriat *et al.*, 2005).

### B- Quinolones:

Les quinolones sont des antibiotiques synthétiques, qui dérivent de l'acide nalidixique (Meradi *et al.*, 2009). Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4 (Faure, 2008).

Le mécanisme d'action de cette classe pharmacologique consiste en une inhibition de l'ADN gyrase, topoisomérase II et de la topoisomérase IV. Ces enzymes sont essentielles à la réplication et à la transcription de l'ADN bactérien; l'inhibition par les quinolones du complexe ADN bactérien-enzymes empêche le «surenroulement» de l'ADN, le relâchement de l'ADN «surenroulé» et entraîne la séparation de la double chaîne hélicoïdale de l'ADN. Les quinolones sont spécifiques à l'ADN bactérien et exercent une activité bactéricide pendant la phase de multiplication et de repos des bactéries (Larouche, 2001).

### C- Fosfomycines:

La fosfomycine est un antibiotique bactéricide atypique. Elle est produite par des bactéries du genre *Streptomyces* et par *Pseudomonas aeruginosa*. C'est un dérivé de l'acide phosphonique. La fosfomycine agit en inhibant la synthèse du peptidoglycane. Elle bloque ainsi la synthèse de l'acide NAM qui est un composant essentiel du peptidoglycane (Moulin *et al.*, 2002).

**D- Glycopeptides:**

Les antibiotiques importants que renferme cette famille sont la vancomycine et teicoplanine. Ces deux molécules n'agissent que sur les bactéries à Gram positif en inhibant la synthèse du peptidoglycane et donc la croissance des bactéries (**MOUTON *et al.*, 2000**).

**E- Macrolides**

Les macrolides sont caractérisés par le cycle lactone relié aux molécules de sucres. Il y a une grande variété d'antibiotiques macrolides, le plus connu est l'érythromycine. Qui est un inhibiteur de synthèse de protéine au niveau de la sous-unité 50S du ribosome (effet bactériostatiques) (**Madigan et Martinko, 2007**).

**F- Aminosides**

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides. Ils se fixent de façon irréversible sur le ribosome des bactéries et perturbent à leur niveau la traduction des ARNm en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messager (**Eric, 2008**).

**G- Les sulfamides**

Les sulfamides caractérisent une famille d'agents antibactériens souvent utilisés pour lutter contre certaines IU. Aujourd'hui, le principal sulfamide encore utilisé par voie orale est le sulfaméthoxazole (**Moulin *et al.*, 2005**). Ils ont un mode d'action de type bactériostatique. Ils interviennent sur la croissance bactérienne en agissant comme anti-métabolites.

**❖ Autre antibiotiques****• La rifampicine**

La rifampicine agit en inhibant l'ARN polymérase. Elle a un spectre essentiellement gram + et a la propriété de pénétrer facilement dans les abcès et dans les cellules. (**Gaudy et Buxeraud, 2005**).

**• Le chloramphénicol**

Le chloramphénicol agit en se fixant à une sous-unité des ribosomes ce qui inhibe la synthèse des protéines. Il possède un spectre d'action intéressant (bactéries Gram+, Gram-) (**AHLAM *et al.*, 2009**)

**• Les tétracyclines**

Les tétracyclines inhibent la synthèse des protéines en se fixant sur une sous-unité des ribosomes. Ce sont des molécules bactériostatiques à spectre très large (gram+, gram -) (**AHLAM *et al.*, 2009**)

### III. ANTIBIORESISTANCE

Après un demi-siècle d'utilisation des antibiotiques, l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne à cette classe thérapeutique posent un véritable problème de santé publique (Muller *et al.*, 2006). L'augmentation de la résistance aux antibiotiques se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de la morbidité et de la mortalité, des coûts d'hospitalisation et par l'apparition de microorganismes résistants à l'ensemble des antibiotiques disponibles (Goldmann et Huskins, 1997).

#### III .1.Définition:

La résistance bactérienne se définit par la capacité d'un micro-organisme à se développer en présence d'un agent antimicrobien, dont l'action empêche ou ralentit normalement sa croissance (NIH, 2012). Elle est dite naturelle lorsqu'elle est liée aux caractères génétiques normaux de l'espèce bactérienne. Elle est dite acquise lorsqu'elle atteint des souches au sein d'une espèce bactérienne normalement sensible.

Les bactéries sont dites multi-résistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques. Elles sont alors résistantes à plusieurs classes pharmacologiques d'antibiotiques (Yala *et al.*, 2001).

#### III .2.Type de résistances :

##### III .2.1.Résistance naturelle :

La résistance naturelle à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce. Les streptocoques sont tous résistants à l'acide nalidixique, aux polymyxines et aux aminosides. Cette résistance est due à un défaut de pénétration à travers la paroi cellulaire streptococcique. Les aminosides n'atteignent pas alors leur cible c'est à dire les sous-unités ribosomiques 30S. La résistance naturelle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe. (Yala *et al.*, 2001).

##### III .2.2.Résistance acquise :

Elle apparaît chez certaines souches d'une espèce considérée habituellement sensible à un ATB donné. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou de l'acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (Davis *et al.*, 2007).

Une fois cette résistance est acquise, elle peut diffuser rapidement dans une population surtout par la transmission horizontale à savoir les plasmides, les éléments génétiques transposables et les intégrons (AFSSA, 2006 ; Guérin-Faublée, 2010 ; Scott, 2009).

### III. 3. Supports génétiques de la résistance acquise :

#### III. 3.1. Résistance par mutation chromosomique

La mutation chromosomique entraîne des modifications structurales pouvant se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit en rendant les cibles spécifiques des antibiotiques indifférentes. L'antibiotique n'induit pas la mutation mais permet de sélectionner la souche mutante (Courvalin *et al.*, 2001). La diffusion de ce type de résistance est liée à la diffusion de la souche mutante (Prescott *et al.*, 2000).

La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels:

- **Rare**: puisqu'il intervient en moyenne tous les  $10^5$  à  $10^{10}$  divisions de la bactérie (Muylaert et Mainil, 2012).
- **Spontanée** : elle existe avant l'utilisation d'ATB et ne sont donc pas provoquées par sa présence.
- **Stable** : elle se transmet verticalement aux descendances.
- **Spécifique** : elle ne concerne qu'un seul ATB ou qu'une famille d'antibiotiques. Dans ce cas, la résistance à un ATB peut aboutir à une résistance croisée pour des ATB appartenant à une même famille (Giguere *et al.*, 2007).

#### III. 3.2 Résistance par acquisition de gènes

Ce type de résistance procède de l'acquisition de gènes de résistance par l'intermédiaire d'un plasmide ou de transposons. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bacteriophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN parla bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (Baudry et Brézellec, 2006).



### III. 4. Mécanismes biochimiques de la résistance

#### III. 4.1. Imperméabilité

Pour agir, les antibiotiques doivent pénétrer dans la cellule bactérienne. Beaucoup d'antibiotiques utilisent les systèmes de transport propres à la bactérie pour ses échanges avec l'extérieur pour entrer (**Marchou *et al.*, 1987**). Pour résister, la bactérie contrecarre cette entrée de toxiques en diminuant la perméabilité de sa membrane par une inhibition de la pénétration à travers les peptidoglycanes recouvrant la membrane plasmique chez les bactéries Gram positives (**Pagès , 2004**).

#### III.4.2. Excrétion par système efflux :

L'excrétion par système efflux est un mécanisme médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (**Mérens *et al.*, 2010**).

#### III .4.3. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

La bactérie produit une enzyme qui inactive ou détruit l'antibiotique. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007; Nikaido, 2009**). Il existe une variété d'enzyme  $\beta$ -lactamase capables d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame des  $\beta$ -lactamines (**Mérens *et al.*, 2011**).

#### III .4.4. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques (**Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009**).

### III .5.Evolution de la résistance :

L'augmentation des résistances bactériennes est étroitement connectée au taux d'utilisation des antibiotiques (**Vandaële, 2012 ; Van Den Bogaard et Stobberingh, 2000**). Comme le signale **Eric Vandaële** : « *Ce sont bien les usages antibiotiques, bons ou mauvais, qui sont les seuls responsables de la sélection de la souche qui mute vers la résistance* » (**Vandaële, 2012**). Mais lors des dernières années le risque est accentué vu la conjugaison de deux facteurs: la diminution du nombre de nouveaux antibiotiques et la diminution considérable du temps qui sépare l'introduction d'un antibiotique en thérapeutique et l'apparition de souches résistantes à cet antibiotique, ce qui augmente la fréquence d'apparition des résistances et même des multi-résistances (**Henriet et Guillemot, 2000 ; Aboya Moroh, 2013**).

Deux phénomènes contribuent à la multi-résistance aux antibiotiques : la résistance croisée et la co-résistance. La co-résistance se définit, quant à elle, comme l'existence au sein d'une bactérie de plusieurs mécanismes conférant chacun une résistance à diverses familles d'antibiotiques. Les gènes correspondants sont souvent adjacents (physiquement liés) et exprimés d'une façon coordonnée (**Muylaert et Mainil, 2012**).

Une résistance croisée est aussi observée, lorsque plusieurs antibiotiques utilisent la même cible ce qui veut dire que la résistance à un antibiotique confère de la résistance à un autre antibiotique, comme par exemple, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B qui agissent tous sur le ribosome. En effet, une seule mutation au niveau de la sous-unité 50S de l'ARNr provoque une résistance à haut niveau aux trois antimicrobiens (**Muylaert et Mainil, 2012**). Parmi les nombreux cas de résistances croisées, des mutations dans les topoisomérases type II, gyrase ou topoisomérases IV induisent la résistance à l'ensemble des fluoroquinolones (**Galimand et al., 2005**).

### III.6 Notion de Sensibilité / Résistance des streptocoques :

Les streptocoques en général présentent une très grande sensibilité à la pénicilline. Elles sont également sensibles à l'ampicilline, aux macrolides, aux lincosamines, aux streptogramines A et B, au chloramphénicol et à la vancomycine. Les CMI sont variables d'un antibiotique à l'autre d'où la nécessité de faire un antibiogramme standard sur toute souche de streptocoque isolée d'infection généralisée.

D'une manière générale, la résistance a beaucoup évolué. On a pu cependant remarquer durant ces dernières années que les streptocoques avaient développées certaines résistances des antibiotiques autres que les bêtalactamines. Ces résistances sont par ordre décroissant :

- ❖ la résistance aux tétracyclines

- ❖ la résistance aux macrolides
- ❖ la résistance au chloramphénicol
- ❖ la résistance aux sulfamides et au triméthoprim (LeMinor et Veron, 1989).

Notre travail a été réalisé durant la période s'étalant du mois de Janvier jusqu'au mois de Mai 2016 au niveau du laboratoire central de l'établissement public hospitalier (EPH) de Koléa « unité microbiologie ». Il porte sur l'isolement et l'identification des souches de streptocoques ainsi que l'étude de leur antibio-résistance en réalisant une étude cytobactériologique des différents prélèvements.

### II.1 Matériel :

#### II. 1.1 Matériel biologique :

Notre étude a porté sur l'analyse de 1518 prélèvements provenant de malades hospitalisés dans les différents services de l'hôpital, mais aussi de malades externes. La nature des prélèvements et leurs effectifs sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau III** : La nature des prélèvements et leurs effectifs

Prélèvement	Urine	Pus	Sang	Prélèvement Vaginale	Prélèvement de gorge	Cathéter	Liquide Pleurale	Liquide d'ascite	LCR
Effectif	1171	62	20	26	3	10	20	10	196

#### II. 1.2 Matériel non biologique :

L'ensemble du matériel non biologique utilisé est présenté dans l'annexe (**Voir annexe I**).

### II .2 Méthodes :

#### II.2.1 Méthodes d'isolement de streptocoques à partir des différents produits pathologiques :

Le traitement des produits pathologiques diffère en fonction de la nature du prélèvement.

Le prélèvement est une étape essentielle du diagnostic car c'est de sa qualité que dépend l'analyse bactériologique. Il nécessite des conditions d'asepsie et de stérilité.

Le prélèvement doit être transporté à température ambiante (25°C) dans les plus brefs délais au laboratoire. En cas de transport long, les prélèvements seront conservés dans une glacière à 4°C (**Diensaert ,2005**).

### A. Prélèvement des urines

➤ **Cas général habituel :**

- Le prélèvement est effectué le matin, après restriction hydrique la veille. Après désinfection soigneuse de la région génitale avec un antiseptique, le patient élimine le premier jet, puis recueille quelques millilitres d'urines dans un pot stérile (**REMIC, 2004**).

➤ **Cas particulier (nourrisson) :**

Chez le petite enfant, un collecteur stérile spécifique est utilisé. Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie, se pose après désinfection soigneuse du périnée.

### B. Prélèvement de sang

Le sang est recueilli dans des flacons contenant un bouillon de culture adapté. L'hémoculture est une technique permettant la recherche des bactéries dans le sang par examen bactériologique (**Kamoun, 2002**). Elle correspond à une série de plusieurs flacons (minimum 2) issus d'une même ponction veineuse en cas d'une pique de fièvre inexplicée. Les flacons d'hémocultures sont incubés à 37°C dix jours, repiqués au moindre signe de Positivité (trouble, hémolyse, coagulation, voile à la surface du sang) sur des milieux de culture adaptés (**Vouboudrolle, 2007**).

### C. Prélèvement de Pus :

Le pus est un exsudat pathologique liquide et opaque sécrété par les tissus cellulaires d'un organe enflammé, il résulte de la migration rapide des polynucléaire neutrophiles vers le site contenant les bactéries pathogènes et dont l'odeur et la consistance varie selon l'agent de l'agression (**Pelouze et Fermy, 1998**).

Le prélèvement de pus doit se faire après une désinfection des berges de la plaie au sérum physiologique en faisant attention à la flore locale. On procède de la manière suivante :

- ❖ A l'écouvillon : en faisant fourrer l'écouvillon sur le pus directement.
- ❖ A la seringue : aspiration douce en évitant de faire des bulles.

### D. Prélèvement de LCR :

La ponction lombaire est réalisée avec une seringue dans des conditions d'asepsie rigoureuse. La quantité moyenne de LCR suffisante pour la majorité des examens à réaliser est de 3 ml, recueillie dans des flacons secs et stériles, conservé à la température ambiante et examiné dès son arrivée au Laboratoire (**Meredith et al., 1997**).

### E. Prélèvement des liquides de ponctions :

En plus de LCR et du sang il existe d'autres liquides internes normalement stériles qui sont toujours présents et jouent un rôle intégral dans la fonction biologique normale du corps humain qui sont les liquides de ponctions. Ces derniers sont situés dans des différentes localisations dont les plus étudiés sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau IV** : Les principaux liquides internes et leurs localisations (**Murray et coll, 1995**).

Liquide	Localisation
Liquide de ponction articulaire ou synoviale	articulation
Liquide pleural	cavité pleurale
Liquide d'ascite	la cavité abdominale.
Liquide péricardique	cavité péricardique

Le prélèvement nécessite des conditions d'anaérobioses et se fait à l'aide d'une seringue bouchée stérilement et hermétiquement (**Flandrois et Chomarat, 1988**).

### F. Prélèvement des cathéters :

Selon la norme AFNOR NF S 90-040, les cathéters veineux périphériques courts sont des «tubes en matière plastique ou en élastomère, d'une longueur inférieure ou égale à 80 mm, introduits par effraction dans le système vasculaire pour une durée limitée dans le temps ».

Cet examen doit être réalisé lorsqu'une infection sur cathéter est suspectée (signes locaux et/ou généraux). Dans ce cas, d'autres prélèvements doivent également être réalisés (écouvillonnage d'une suppuration locale, hémocultures (**Pilly, 2002**)).

### G. Prélèvement de gorge :

Il est fait à l'aide de deux écouvillons en frottant sur la surface de chaque amygdale, sur la muqueuse pharyngée et sur toute surface d'aspect pathologique, et cela en éliminant au maximum les contaminations salivaires (**REMIC, 2004**).

### H. Prélèvement vaginale (PV) :

Les sécrétions vaginales sont normales lorsqu'elles sont indolores de couleur claire ou laiteuse, qu'elles ne provoquent ni irritation ni brûlure et ne raidissent pas le linge. Mais si elles deviennent très abondantes, purulentes, malodorantes ou douloureuses, elles sont

généralement le signe d'une infection (ANONYME6,2007). Dans ce cas, les femmes sont sensées de faire un PV, qui permet l'isolement d'une espèce bactérienne ou fongique responsable d'une vaginite (Pechere *et al*, 1983).

Le PV s'effectue par écouvillonnage simple de la cavité vaginale, c'est-à-dire que celui-ci doit balayer l'exocol, les culs-de-sacs vaginaux et impérativement la paroi de la moitié inférieure du vagin, l'orifice vulvaire et la vulve pour charger au maximum l'écouvillon de sécrétions vaginales (Anaes, 2001) (voir figure 4).



**Figure 4 :** Ecouvillon pour prélèvement vaginale

### II.2.2. Techniques d'identification

#### II.2.2.1.Examen macroscopique :

Il s'agit d'observer l'aspect, la présence d'un trouble, consistance, couleur ainsi que la viscosité, qui peut nous apporter les premières informations sur la présence d'une infection ou non.

#### II.2. 2.2. Examen microscopique :

##### ➤ Examen à l'état frais :

C'est un examen qui se fait entre lame et lamelle ou sur Cellules de Malassez. L'observation se fait au microscope photonique à l'objectif 40 et il présente un double intérêt :

-Une appréciation quantitative : numération des hématies et leucocytes.

-Une appréciation qualitative :

- Renseigne sur la morphologie et la mobilité des bactéries vivantes.
- .Constate l'état des cellules : elles peuvent être intactes ou altérées

### ➤ Examen microscopique après coloration :

**A- Coloration de lazarus :** Le liquide de LAZARUS est un liquide de lyse des érythrocytes, permettant la dilution et la numération des leucocytes (**Schuller et Sagar, 1981**). Quand le LCR est trouble, une dilution dans le liquide de LAZARUS est nécessaire.

### II.2.2.3. Mise en culture :

Après le séchage des milieux coulés en boîtes de pétri, on stérilise la paillasse à l'eau de javel et on allume le bec bunsen. On ensemence les prélèvements bactériologiques dans les milieux de cultures (gélose nutritif, gélose au sang frais, gélose au sang cuit, Hektoen, Chapman).

### A-Urine :

L'analyse des urines se fait selon la méthode de Kass, l'urine est diluée à  $10^{-2}$  dans l'eau distillée stérile, puis ensemencée sur gélose nutritive par inondation (**Djennane et al., 2009**).

### B-Pus, PV et Prélèvement de gorge :

L'ensemencement se fait par la méthode des quadrants sur les cinq milieux, on utilisant l'écouvillon du prélèvement. L'ensemencement se poursuit à l'aide d'une pipette pasteur stérile en faisant des stries serrées. Ce qui permet d'isoler les différentes bactéries contenues dans un prélèvement.

### C- LCR, Sang et Autres liquides :

L'ensemencement se fait par la méthode d'inondation qui consiste à prélever un volume défini et le déposer sur la surface des cinq milieux, puis étaler le dépôt à l'aide d'un râteau stérile en faisant tourner la boîte.

### D- Cathéters :

La culture se fait selon la méthode quantitative simplifiée qui consiste à couper et immerger le cathéter dans quelques millilitres de BGT, puis à agiter mécaniquement pendant 1 min pour



en détacher les bactéries. Le liquide est ensuite diluée à  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  puis mis en culture sur GSC, GSF et ensemencé par inondation (**Brun Buisson *et al*, 1987**).

### ✓ **Incubation :**

Les milieux ensemencés sont incubés à l'étuve avec des particularités :

- La GN et HK sont incubés à 37 °C pendant 24 heures.
- Les GSC et GSF sont également incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures mais dans une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> à l'aide d'une jarre vidée de l'oxygène.

### **II.2.2.4. Identification**

#### **A-Identification macroscopique :**

- ✓ L'observation de l'aspect morphologique des colonies bactériennes, de leurs pigmentations, de leurs odeurs et de leurs caractéristiques de croissance permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.
- ✓ Pour les cultures polymorphes : les différents types de colonies sont purifiés par un ré-isolement.
- ✓ Pour les cultures monomorphes on procède directement à l'identification.

### **Type d'hémolyse :**

#### **Principe :**

D'après COUTURE (1990), cette recherche a pour but la mise en évidence de l'activité hémolytique et la différenciation des bactéries alpha -hémolytique et bêta- hémolytique. La capacité de certains streptocoques de lyser les hématies, la dimension et l'aspect de la zone d'hémolyse dépendent de l'hémolysine élaborée par la souche (streptolysine).

#### **Mode opératoire :**

On ensemence la souche à étudier sur une boîte de gélose au sang à 10% par la méthode de stries, puis on l'incube dans une étuve réglée à 37° pendant 24 heures.

**Lecture :**

- ❖ **Streptocoques Béta- hémolytiques** : on observe un anneau transparent autour des colonies, qui indique une hémolyse complète des hématies, elle s'observe habituellement chez les souches de Streptocoques des groupes A, B, C, D, F, et L
  
- ❖ **Streptocoques alpha- hémolytiques** : on observe un anneau vert foncé, plus un anneau vert claire, qui indique une hémolyse partielle des hématies (*Streptococcus viridans* , *Streptococcus pneumoniae*) .

**B- Identification microscopique :**➤ **Coloration de Gram (double coloration) :**

C'est une coloration différentielle qui permet de diviser les cellules bactériennes en deux groupes selon leurs affinités pour les colorants et liée à la structure générale de la paroi cellulaire.

**Principe :**

Cette coloration permet une meilleure appréciation de l'aspect morphologique des bactéries et leur mode de regroupement, la coloration différentielle de Gram repose sur la composition de la paroi bactérienne en protéines et en lipides, la composition de la paroi bactérienne des Gram+ et des Gram- est représentée dans le tableau suivant (**Tableau IV**)

**Tableau V** : Composition des parois bactériennes (Gram+, Gram-) en protéines et en lipides (**Joffin et Legrel, 2001**).

	<b>Paroi des Gram (+)</b>	<b>Paroi des Gram (-)</b>
Lipides	+	+++
Protéines	+++	+

+ : Faible présence, +++ : Forte présence

**Mode opératoire :**

- Déposer au centre d'une lame propre une goutte d'eau physiologique.
- Prélever une petite colonie bien isolée et la déposer sur la goutte puis l'étaler avec un mouvement circulaire.

- Fixer à la chaleur.

**Le tableau VI** résume les différentes étapes de la coloration de Gram :

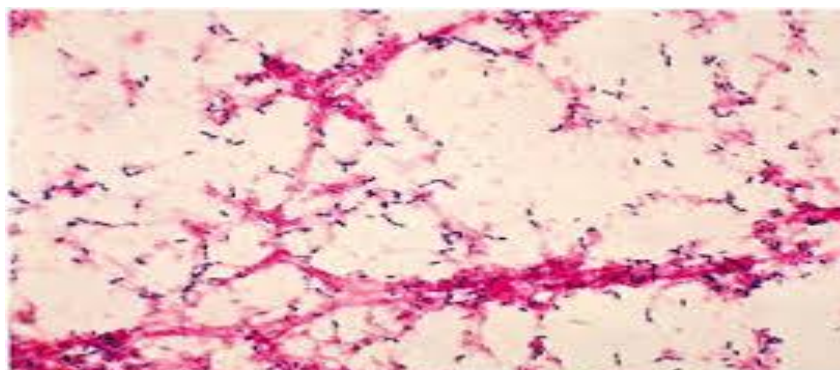
**Tableau VI** : Principales étapes de la coloration de Gram.

Coloration	Mode opératoire	Temps d'agir
Coloration primaire	Recouvrir le frottis par le violet de Gentiane, puis rincer à l'eau	1 min
Mordantage	Recouvrir la lame avec le Lugol puis rincer à l'eau	30 secondes
Décoloration	Décolorer la lame par l'alcool (75°C) ensuite rincer	20 secondes
Coloration secondaire	Recolorer par la Fuchsine puis rincer à l'eau	1 min

-Après avoir sécher la lame, ajouter une goutte d'huile à immersion et observer au microscope optique à l'objectif×100

**Lecture (voir figure 5) :**

- Les bactéries à Gram(-) sont colorées en rose.
- Les bactéries à Gram(+) sont colorées en bleu violacé



**Figure 5** : Coloration de Gram de *streptococcus spp*

**C- Identification biochimique :**

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques :

**❖ Test de Catalase**

Le catalase est une oxydoréductase intervenant dans le mécanisme de résistance à la bactéricide (Chaala, 2013). Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques.

**Mode opératoire :** A partir d'un isolement, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée ; puis placée sur une lame, on fait réagir la colonie dans 1 goutte de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).

**La lecture (voir figure 6) :**

Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène), la réaction se fait selon l'équation :



**Figure 6 :** Test de catalase

### ❖ Test d'esculine

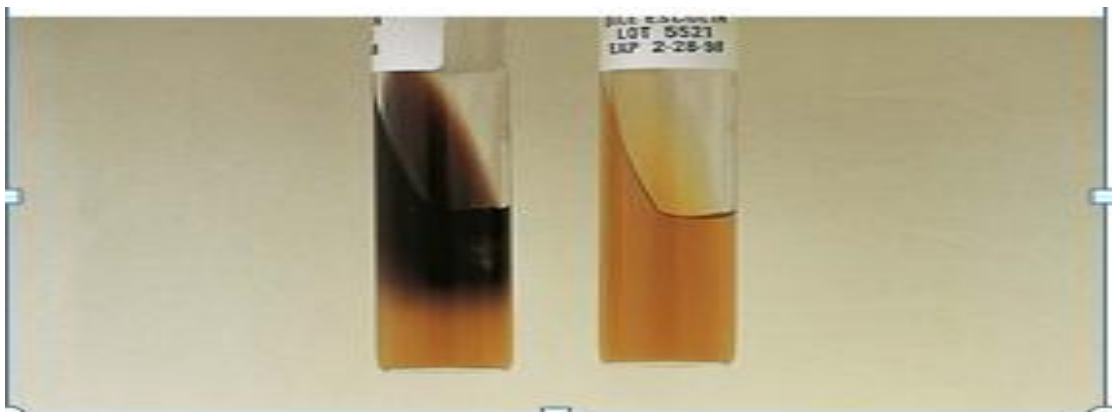
#### Principe :

L'esculine est un hétéroside (molécule composée d'un ose associée à une structure non osidique). L'hydrolyse de l'esculine, catalysée par une  $\beta$ -glucosidase : l'esculinase, est un des critères usuels utilisé dans l'identification différentielle au sein de nombreux genres bactériens, notamment les pseudomonas et les streptocoques. Les SGD ont la possibilité d'hydrolyser l'esculine en aglycone qui en présence de sels de fer donne une coloration noire (Carbonelle *et al.*, 1987).

**Mode opératoire :** La gélose à l'esculine est ensemencée par piqûre centrale dans le culot, et incubée à 37°C.

#### Lecture (voir figure 7) :

- Pas de virage de couleur, pas d'hydrolyse de l'esculine : esculine -
- Virage de couleur avec une forte coloration noire, hydrolyse de l'esculine : esculine +



**Figure 7 :** Test d'esculine

### ❖ Sensibilité à l'optochine :

#### Principe :

Les streptocoques résistent à l'optochine (chlorhydrate d'éthylhydrocupréine) sauf les pneumocoques, c'est à dire que les streptocoques à l'exception des pneumocoques poussent jusqu'au contact des disques.

### Mode opératoire :

Une boîte de GS est inoculée avec le germe isolé (comme pour la réalisation d'un antibiogramme).

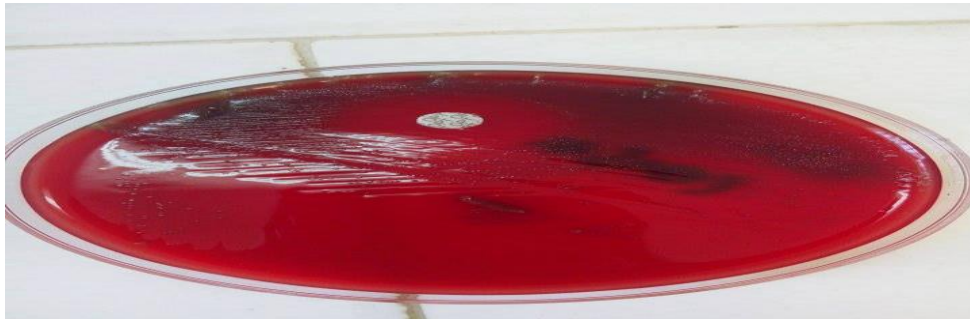
On dépose un disque imprégné de 5 µg d'optochine.

Après incubation à 37°C pendant 18 heures, on recherche l'existence ou l'absence d'une zone d'inhibition.

### La lecture (voir figure 8) :

-Pour les pneumocoques, on observe une zone d'inhibition supérieure à 15 mm.

-Les autres streptocoques : absence de la zone d'inhibition.



**Figure 8** : Sensibilité à l'optochine (originale)

### D- Identification antigénique :

#### ❖ Test d'agglutination par pastorex *Streptococcus* :

#### Principe

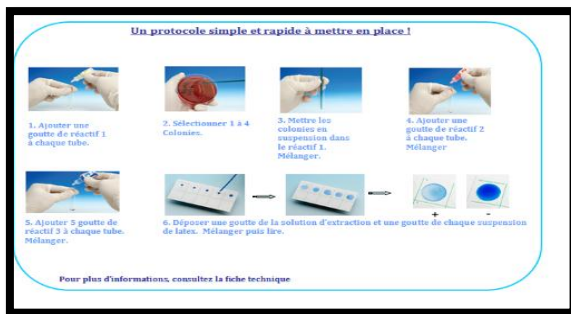
Le pastorex-strep est un test d'agglutination sur plaque, qui utilise une méthode simple d'extraction enzymatique de l'antigène spécifique du groupe contenu dans la paroi. L'antigène extrait est identifié par des particules de latex sensibilisées par un anticorps anti – antigène du groupe de streptocoques (**Joffin *et al.*, 1998**).

#### Mode opératoire :

Le pastorex- strep s'applique sur les colonies de streptocoques bêta hémolytiques isolés sur gélose au sang cuit ou frais

- Mettre 10 gouttes d'enzyme d'extraction dans un tube à hémolyse.

- Prélever 5 à 10 colonies pures de streptocoque et les dissocier dans l'enzyme.
- Incuber à 35°C pendant 15 à 45 min.
- Identification du groupe :
  - 1) Déposer une goutte de chaque latex dans ces cercles de la carte d'agglutination.
  - 2) Ajouter à l'aide d'une pipette pasteur stérile une goutte d'extrait d'inoculum dans chacun de ces cercles.
  - 3) Mélanger à l'aide d'un bâtonnet le contenu de chaque cercle (un bâtonnet distinct pour chaque cercle)
- Agiter la carte par rotation pendant une minute au maximum (**voir figure 9**).

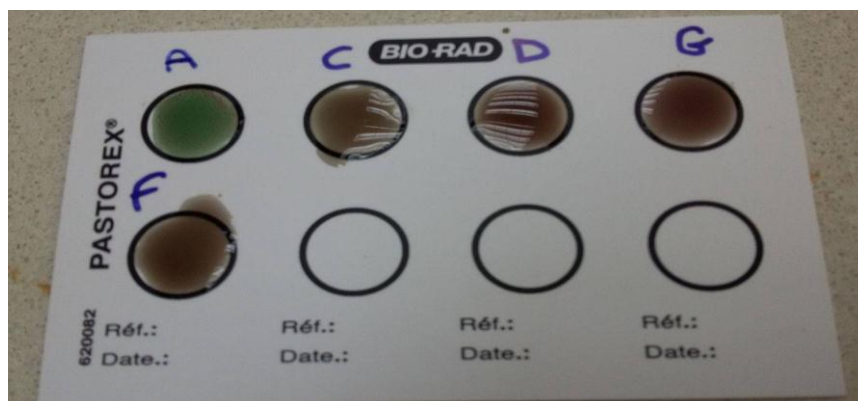


**Figure 9** : Les étapes de test d'agglutination par pastorex *Streptococcus*

**Lecture :** (voir figure 10)

-Test positif : l'apparition d'une agglutination visible en moins de deux minutes.

-Test négatif : suspension homogène



**Figure 10** : Test d'agglutination (original)

### II.2.3. Antibiogramme :

Nous avons testé la sensibilité de toutes les souches identifiées vis-à-vis à différents ATB par la méthode de l'Antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton (MH) au sang selon les recommandations du Comité Française de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**Communiqué du CFA-SFM, 2012**).

#### Mode opératoire

- **Un inoculum** : est préparé à partir d'une culture pure de 18 heures sur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ces colonies sont raclées à l'aide d'une pipette, déchargée dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% (**Aouati, 2009**).

-**La suspension** bactérienne est bien homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0.5 McF. Elle est ajustée en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau physiologique stérile (**CASFM, 2010**).

-**L'ensemencement** doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum. Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées (**CASFM, 2010 ;Bocquier, 2013**).

-L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'une boîte de Pétri est ensemencée (**Chaalal, 2013**).

-Déposer les disques d'antibiotiques (maximum 6 pour une boîte de 90mm) à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince stérile (**Bocquier, 2011**). Ils sont espacés de 24 mm, centre à centre (**Chaalal, 2013**).

-Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince stérile ou à l'aide d'un distributeur. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont ensuite incubées immédiatement pendant 18 heures à 37°C.

#### La lecture :

On mesure à l'aide d'un pied à coulisse les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques dont les boîtes de pétri sont ouvertes et bien



éclairée. **L'interprétation** en sensible (S) ou résistante(R) est effectuée selon les critères définis par le CFA-SFM (**Communiqué du CFA-SFM, 2012**).

### Conclusion

Les streptocoques sont parmi les bactéries les plus impliquées en pathologie humaine et les infections qu'ils provoquent restent parmi les plus sévères des maladies bactériennes. La thérapeutique actuelle dispose d'un grand nombre des ATB très efficaces sur ces streptocoques. Mais sur certaines d'entre elles on assiste de plus en plus à l'apparition de souches résistantes du fait d'une utilisation inadéquate et de la remarquable aptitude de ces souches à s'adapter à ces molécules. C'est pourquoi une bonne connaissance de profil de résistance des streptocoques est indispensable pour orienter le clinicien dans l'antibiothérapie de ces maladies.

Notre travail consiste à l'isolement et l'identification des souches de streptocoques ainsi que l'étude de leur antibio-résistance. Il a conduit aux résultats suivant:

- Sur la période d'étude, 21 souches des streptocoques ont été isolées. Les résultats d'identification des germes révèlent la prédominance de *streptococcus spp* (57.14%), suivie par les streptocoques du groupe D (19.04%) et les streptocoques du groupe B (14.28%). Alors que les streptocoques du groupe A et *S.pneumoniae* ne présentent que 4.76% des souches isolées.
- Sur les 21 souches isolées, 38.09% proviennent de prélèvements vaginaux, 33% de pus, et 23.8% d'urines. Dans notre étude, le nombre de prélèvements de LCR est le plus faible (4.76%).
- Le sexe féminin est le plus touché par les infections streptococciques (76%) par rapport au sexe masculin (24%) avec un sexe ratio F/H de 3.17.
- Nos résultats montrent une prédominance des souches communautaires (67%) par rapport aux souches hospitalières (33%).

Les résultats d'antibiogrammes des souches isolées vis-à-vis quelques antibiotiques de différentes familles sont décrits. La majorité des souches isolées présente une résistance accrue vis-à-vis les antibiotiques testés principalement à la tétracycline, l'érythromycine et la clindamycine.

La résistance bactérienne est générée par l'homme, par un mauvais usage des antibiotiques prescrits soit inutilement, soit incorrectement. La meilleure façon de combattre ce problème majeur, c'est de mener des campagnes de sensibilisation pour un bon usage des antibiotiques.

## CONCLUSION

---

Quelques perspectives se dessinent à la lumière des résultats obtenus :

- Vu le faible effectif de nos échantillons (21 prélèvements) et de la courte durée de la présente étude, nous suggérons la conduite d'une étude de plus grande envergure
- D'autres études doivent être mené à l'avenir, régulièrement et continuellement, afin de mesurer l'ampleur de phénomène de résistance aux ATB et pour que les personnes concernées prennent les décisions adéquates avant le dépassement du point de non retour.
- Des études sur le plan génétique peuvent consolider les travaux menés sur la résistance des streptocoques aux antibiotiques et doivent voir le jour pour mieux comprendre ce problème et y remédier.

## LES REFFRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Abla Hecini. H,(2014).***Streptococcus pneumoniae* dans les infections invasives : identification, résistance aux antibiotiques et sérotypage. Thèse de Doctorat en Sciences en Microbiologie Appliquée.

**Abbassi. M,(2008).** Les infections vaginales, Mémoire de fin d'étude MBM, FST Fes-saïss.

**Aboya Moroh. J.L ,(2013).** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de Morindamorindoides. Agricultural sciences. Université de Bretagne occidentale – Brest ; Université Félix Houphouët-Boigny. French. <NNT : 2013BRES0028>. <tel-00935393>.

**AFSSA,(2006).** Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Rapport du groupe de travail "Antibiorésistance". [En ligne]. Maisons-Alfort : AFSSA, 214 pages. Disponible sur : [www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-ABR.pdf](http://www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-ABR.pdf).

**Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en Santé. (2001).** Prévention anténatale du risque infectieux bactérien néonatal précoce. Recommandations pour la pratique clinique. Septembre.

**Ahlam.K, Nejmi. W, Mejja. I, Mounjr.O. (2009).** Mode d'action des antibiotiques, Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohamed v-AGDAL. Faculté des Sciences B.P 1014-Rabat-MAROC. p :3 -5.

**ALAUZET. C,(2009).** Taxonomie des bactéries anaérobies: de la reclassification à la découverte de nouveaux pathogènes. p :71.

**Alekshun. M.N, Levy. S.B.( 2007).** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. p:1037-1050.

**Amoroso. A, Demares. D, Mollerach. M, Gutkind. G, Coyette.J. (2001).** All detectable high-molecular-mass penicillin-binding proteins are modified in a high-level beta -lactam-resistant clinical isolate of *Streptococcus mitis*. Antimicrob Agents Chemother .p : 2075-81.

**Anaes, (2001).** Recommandations pour la pratique clinique : prévention anténatale du risque infectieux bactérien néonatal précoce. (<http://www.has-sante.fr>)

**Anonyme 6,(2007).** Pertes vaginales : Quand –faut –il s'inquiéter ? [www.doctissimo.fr](http://www.doctissimo.fr)

**Aouati.H, (2009).** Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistances à la méthicillines: étude de leurs sensibilités aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, Algérie.

**Pilly.E , (2002).** Association des professeurs de pathologies infectieuses et tropicales. Maladies Infectieuses et Tropicales, Edition : 2M2 18ème édition. 654 p.

**Avril. J. L, Dabernat. H, Denis.F.(1992).** Bactériologie clinique, Edition Marketing, Paris.

- Avril. J.L, Dabenat. H, Denis.F, Monteil. H.(1988).** Mycoplasma – ureaplasma Bactériologie clinique, Edition Ellipses, Paris .p : 481-491.
- Aubry-Damon .H, Galimand. M, Gerbaud.G, Courvalin. P. (2002).** *rpoB* mutation conferring rifampin resistance in *Streptococcus pyogenes*. Antimicrob Agents Chemother .p : 1571-3.
- Baudry. C, Brézellec.H. (2006).** Microbiologie, immunologie, Groupe Liaisons. 126 p.
- Bekhti.K,(2012).** Cours de microbiologie médicale, LBS. FST Fès-saïss
- Bergy, (2011).** Manuel de bactériologie
- Blanc.B, Blond. M.H, Chaix.C, Goffinet. F, Guillaume. S, Judlin. P, Lenclen. R et al(1997).** Recommandations pour la pratique clinique : infections cervico-vaginales et grossesse. *CNGOF*. Disponible sur l'URL : [http://www.cngof.asso.fr/D\\_PAGES/PURPC\\_02.HTM](http://www.cngof.asso.fr/D_PAGES/PURPC_02.HTM)
- Bocquier.S,(2011).** Documentation technique :étude de la sensibilité aux antimicrobiens. Grenoble: lycée des métiers du tertiaire, de la santé et du social, louisemichel.
- Bouvet. A,(2006).** *Streptocoques – entérocoques*, Centre national de référence des streptocoques, Paris, [En ligne]. [www.microbes-edu.org/etudiant/streptocoques.html]
- Brun Buisson. C, Abrouk. F, Legrand.P, Huet. Y, Larabi. S, Rapin.M. (1987).** Diagnosis of central venous catheter-related sepsis: critical level of quantitative tip cultures. .p :873–7.
- Buu-Hoï. A, Le Bouguenec. C, Horaud. T. (1990).** High-level chromosomal gentamicin resistance in *Streptococcus agalactiae* (group B). Antimicrob Agents Chemother.p: 985-8.
- Calop. J, Limat. S, Fernandez. C.(2008).** Association des enseignement en pharmacie clinique .Pharmacie clinique et thérapeutique 3<sup>ème</sup> édition .Elsevier Masson. p :935-964.
- CA-SFM. (2012).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie recommandations.
- Carbonnel. B, Denis. F, Marmonier. A, Pinon. G, Varguesr. R.(1987).** Bactériologie médicale , 3<sup>ème</sup> Edition SIMEP, Paris. p : 325.
- Cavallo. J-D, Fabre. R, Jehl. F, Rapp. C, Garrabé. E. (2004).** Bêta-lactamines. EMC Maladies infectieuses. p : 129-202.
- Chaalal. W, (2013).** Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus Aureus* isolés de produits alimentaires. Université d'Es-senia Oran, Algérie.
- Cha .S, Lee .H, Lee. K, Hwang .K, Bae. S, Lee .Y. (2001).** The emergence of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Seoul, Korea.p : 81-6.

**Correa.P, David. A.P, Chiron.J.P, Denis. F. (1979).** Résultats d'une recherche systématique de streptocoques hémolytiques (alpha et bêta) chez les femmes enceintes et les nouveau-nés à Dakar .p : 187-196.

**Courvalin. P, Denis. F, Ploy. M.C, Privat de garilhe, Trieucot.M.P.(2001).**Antibiotiques[en ligne]. EncyclopædiaUniversalis,,disponible sur : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques>.

**Courvalin. P, Leclercq. R,Bingen. E. (2006).**Antibiogramme (2<sup>ème</sup> édition). ESKA, Paris, 693 p.

**Delarras. C,(2014).**Pratique en microbiologie de laboratoire : la recherche de bactéries, levures, moisissures,Paris, Lavoisier.

**Diensaert,(2005).**Guide pratique des analyses médicales, Edition Maloine : SA. 420 p.

**Djennane. F, Mohammedi. D, Tiouit. D, Touati. D, Rahal. K.(2009).** Institut Pasteur d'Algérie : techniques microbiologiques (examen cyto bactériologique des urines) E.C.B.U.

**Denis. F, Ploy. M.C,Martin. C,Bingen.E, Quentin. R. (2007).** Bactériologie médicale techniques usuelles, édition : Elsevier Masson. p : 290-319.

**Denis. F, Samba. A, Chiron. J.P,Diop.M.I. (1978).**Les infections à streptocoques en Afrique vues par le laboratoire (*S. pneumoniae* non compris), Bull. Soc. Med. Afr. Nre. Lang. Fran .p :347-350.

**Diop. A,(2003).**Validation de méthodes de contrôle microbiologique de différents médicaments Antiseptiques .Thèse pharm., UCAD, Dakar. p: 57-61.

**Duca.E, Duca.M, Furtunescu.G.(1979).** Microbiologie médicale.Didactique et pédagogique. Bucarest, (classification de R. Lancefield). p : 320.

**EL Bour.M,Fendri. C, Ben hassen.A. (1993).** Etude de la sensibilité aux antibiotiques de *S. pyogenes* isolés en milieu hospitalier (Hôpital Charles Nicolle de Tunis).Med. Trop .p :13-17.  
**Eric. S, 2008.** The Comprehensive Pharmacology. Repère médical.p : 1-4.

**ESKA, (2000).** Précis de bactériologie clinique .806p.

**Facklam. R, (2002).**what happened to the streptococci: aoverview of taxonomic and nomenclature changes. Clin microbialRev.p :613-30.

**Ferjani. A, Ben Abdallah. H, Ben Saida. N, Gozzi. C, Boukadida. J.(2005).** Portage vaginal de *Streptococcus agalactiae*chez la femme enceinte en Tunisie : facteurs de risque et sensibilité aux antibiotiques des isolats. Laboratoire de microbiologie et d'immunologie, UR 16/02 - CHU F.-Hached, Sousse 4001 Tunisie. E-mail : [jboukadida@lycos.com](mailto:jboukadida@lycos.com) / [jalel.boukadida@rns.tn](mailto:jalel.boukadida@rns.tn) Manuscrit n° 2745. "Santé publique". Reçu le 22 novembre 2004. Accepté le 20 septembre

**Fisher.J.F, Meroueh.S.O, Mobashery.S. (2005).** Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *ChemRev*.p: 395-424.

**Flandrois. J.P, Chomar. M. (1988).**L'examen bactériologique des liquides de drainage non purulents -In : Bactériologie Médicale Pratique - Medsi/ Mc Graw - Hill, Paris.

**Fleites. A, Panizo. S, SantosRionda. M.J. (1998).**Antimicrobial susceptibility and characterization of macrolide resistance phenotypes in *Streptococcus agalactiae*. 38th ICAAC, San Diego, 123E.

**Galimand. M, Sabtcheva. S, Courvalin. P, Lambert. T.(2005).** Worldwide disseminated ArmA aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. *Antimicrob Agents Chemother* .p: 2949 –2953.

**Gaudy. C, Buxeraud. J. (2005).** Antibiotiques: pharmacologie et thérapeutique. ELSEVIER. p. 3452.

**Goldmann. DA, Huskins. WC. (1997).** Control of nosocomial antimicrobial resistant bacteria: a strategic priority for hospitals worldwide. *Clin Infect Dis* .p :139-45.

**Gonzalez. I, Georgiou.M, Alcaide. F, Balas.D, Linares. J, De la Campa.A. (1998).** Fluoroquinolone resistance mutations in the *parC*, *parE*, and *gyrA* genes of clinical isolates of viridans group streptococci. *Antimicrob Agents Chemother* .p : 2792-8.

**Guardabassi.L, Courvalin. P. (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance ,In : Aarestrup F.M, Edition. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press : Washington .p : 1-18.

**Guerin-Fauble. V, (2010).** Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. In : Journées nationales GTV. Lille, SNGTV, Paris .p : 93-101.

**Henriet. L, Guillemot.D. (2000).**Pharmaco-épidémiologie des résistances, consommation des antibiotiques. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Vol 30. p. 160-163.

**Horodniceanu.T, Delbos. F. (1980).**Sensibilité des streptocoques aux antibiotiques. *Bull. A. A.E, Institut Pasteur, Paris, n°90*.

**Horaud.T, Bouguenec. C. (1989).***Streptococcaceae*. Bactériologie médicale. Edition : Flammarion, Paris p :805-812.

**Joffin.J.M, Legrel. G. (2001).**Microbiologie technique, dictionnaire des techniques, Tome, 3ème Edition CRDP d'Aquitaine. p : 320.

**Kago. I, Tetanye.E, Doumbé. P, N'koulou. H, Wouafo. N. M. (1990).**Les méningites purulentes néonatales à Yaoundé :Aspects épidémiologiques, cliniques et pronostiques. *Med.Mal,infect* .p :507-511.

**Ko. WC, Lee. HC, Wang. LR, Lee. CT, Liu. AJ, Wu. JJ.( 2001).**Serotyping and antimicrobial susceptibility of group B *Streptococcus* over an eight-year period in southern Taiwan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.p : 334-9.

**Klugman.KP,(1990).** Pneumococcal resistance to antibiotics. *ClinMicrobiolRev.* p : 171-196.

**Kamoun. P, (2002).** guide des examens de laboratoire , Edition Médecine –Saine flammariion , Paris, 1438p.

**Koenig.J. M, Keenan.W. J. (2009).** Group B streptococcus and early-onset sepsis in the era of maternal prophylaxis, *Pediatric Clinics of North America.*p:689-708.

**Kohanski. M. A, Dwyer. D.J, Collins. J.J. (2010).** How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol.*p :423-435.

**Kaplan. EL, (1991).** The resurgence of group A streptococcal infections and their sequelae.p:55-7.

**Kardos. N, Demain. A. L. (2013).** Ernst Chain: a great man of science. *ApplMicrobiol Biotechnol.*p: 6613-6622.

**Kaufhold. A, Potgieter. E. (1993).**Chromosomally mediated high-level gentamicin resistance in *Streptococcus mitis*. *Antimicrob Agents Chemother.* p: 2740-2.

**Lancefield.R.C.(1933).** A serological differentiation of human and other groups of streptococci. *Journal of Experimental Medicine.*p :(141-158).

**Larouche, Geneviève.(2001).** Les quinolones : des années soixante à aujourd'hui. Pharmacothérapie théorique. Pharmacothérapie théorique .Pharmactueled.

**Le Bouar.Y, Trung. P. H. Mozziconaci. P.(1970).**Les méningites néonatales à streptocoques du groupe B. A propos de quatre observations. (Introduction) *Ann. Pediatr.* p: 207-213.

**Leclercq. R,(2002).** Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. p : 482-92.

**Le Minor. L, Veron.M. (1989).** Bactériologie Médicale. Flammarion, Medecine Science, Paris, Edition 1989.

**Levy. S.B, (1998).** Multidrug resistance--a sign of the times. *N. Engl. J. Med,* p: 1376-1378.

**Madigan. M, Martinko. J. (2007).** Biologie de Micro-organismes. Université Carbondale de l'Illinois du sud ,11<sup>ème</sup> Edition. p:702,705, 711,860, 862.

**Malbruny. B,Nagai. K, Coquemont. M, et al. (2002).** Resistance to macrolides in clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* due to ribosomal mutations . p : 935-9.

**Marchou .B, Bellido. F, Charnas .R, Lucain .C, Pechère .JC. (1987).**Contribution of betalactamasehydrolysis and outer membrane permeability to ceftriaxone resistance In*Enterobactercloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* p :1589-95.



**Martin.P.R. et autres. (1990).** Streptococcal serogroup A epidemic in Norway 1987-1988, *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. Vol. 22, no 4, p. 421-429.

**Meradi. L, Djahoudi. A, Abdi. A, Bouchakour. M, Perrier Gros Claude. J-D, Timinouni .M. (2009).** Résistance aux quinolones de types qnr, aac (60)-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie Biologie* 59(2011) e73-e78.

**Mérens.A, Aurélie. S. (2010).** Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones. La résistance aux anti-infectieux. *Revue francophone des laboratoires*. p :33-41.

**Money. D. M, Dobson. S. (2004).** Prévention de l'infection néonatale à streptocoque du groupe B à début précoce. p : 833-840.

**Morris. AB, Brown. RB, Sands. M. (1993).** Use of rifampin in nonstaphylococcal, nonmycobacterial disease. p : 1-7.

**Moulin. M, Coquerel. A. (2002).** Pharmacologie, Edition Masson. 1165 p.

**Mouton. Y, Deboscker. Y, Dubreuil, Bingen. E. (2000).** Antibiotiques antiviraux anti infectieux, Edition John Libbey Eurotext .285 p

**Mufson. M. A, Mandell, Ouglas .R, Bennett. J. E. (1990).** *Streptococcus pneumoniae* PI:GL. Principles and practice of infectious diseases.

**.Muller. A, Patry. I, Talon. D, Cornette. C, Lopez-Lozano. J. M, Plésiat. P, et al. (2006).** Mise en place d'un outil informatisé de surveillance de la résistance bactérienne et de la consommation antibiotique dans un centre hospitalier universitaire. *Pathologie Biologie*. p :112-7.

**Muylaert.A, Mainil.J.G. (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur contagiosité. Vol. 156, p : 109- 123.

**Murray. P.R, coll. (1995).** Manual of Clinical Microbiology. 6th Edition . ASM Press, Washington DC.

**Nguyen.C.T, (2003).** Révision des recommandations en matière de chimioprophylaxie pour les contacts étroits de cas d'infections invasives à streptocoque du groupe A, Rapport de stage de maîtrise en santé communautaire, Montréal, Département Université de Montréal. 55 p.

**Nih-iaid, (2013).** Antimicrobial (Drug) Resistance, From: <http://www.niaid.nih.gov/topics/antimicrobialresistance/examples/gramnegative/Pags default.aspx>

**Nikaido. H, Multidrug. (2009).** Resistance in bacteria, *Annu. Rev. Biochem.* p: 119-146.

**Pagès. JM, Porines.(2004).** porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. *MedSci, Paris*. p : 346-51

**Pourriat. Jan.L, Martin.C.(2005).** Principe de réanimation chirurgicale. Edition Arnette. 298p .

**Pechere. J.C, ACAR. J, Armengaud.M,Cherubinc. G,Mouellering.R.J,Sandem,Waldvogelf,Zinners.(1983).**les infections, maloine ,Edition Paris,819 p.

**Poyart.C, Pierre. C, Quesne.G, Pron.B, Berche.P, Trieu-Cuot. P. ( 1997).**Emergence of vancomycin resistance in the genus *Streptococcus*: characterization of a *vanB* transferable determinant in *Streptococcus bovis*.p: 24-9

**Prescott. L. M, Klein. D. A,Harley. J. P. (2010).**Microbiologic,3 Edition : De Boeck Université, Bruxelles . 1088 p.

**Quentin. R, Morange-saussier.V, Watt. S. (2002).**Prise en charge de *Streptococcus agalactiae* en obstétrique.

**Remic, (2004).**Par le groupe Rémic de la SFM 2ME, Edition et communication.

**Rousset. A, Levy A,Minck. R.(1977).**Les streptocoques du groupe B : sérotypie et sensibilité aux antibiotiques,Ann. Microbiol. , Institut Pasteur .p :339-348.

**Schmitz. FJ, Fischer. A, Boos. M, Mayer. S, Milatovic.D, Fluit.A. C.(2001).** Quinolone-resistance mechanisms and *in vitro* susceptibility patterns among European isolates of *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, and *Streptococcus pneumoniae* .p : 219-22.

**Schroeter. G, Endorth. J, Scheiber. P. (1972).**Etude séroépidémiologique de l'infection streptococcique (séro groupe A, C, G) au Togo à-propos de 435 recherches d'antistreptolysines. Bull. Soc. Med. Afr. Noire Langue Franc.p : 567-574.

**Schuller. F ,Sagar.H.(1981).** Examens biochimiques et cytologiques du L.C.R., in Guide des examens de Laboratoire, Flammarion Edition. p : 284-298.

**Scott.G, (2009).**Antibiotic resistance. *Medicine*.p : 551–556.

**Soussy. C.J,(2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie.p: 21-46.

**Speer.BS, Shoemaker. N. B, Salyers.A. A.(1992).** Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. *ClinMicrobiol Rev*.p : 387-99.

**Stevens.D.L. (2004).**7. Infectious disease, I. Infections due to Gram-Positive Cocci, dans ACP MEDICINE ONLINE, D.C. Dale et D.D. Federman, éditeurs, American College of Physicians, New York, WebMD Inc.21 p. [www.acpmedicine.com].

**Talbert.M, Willoquet.G et Gervais. R. (2009).** Pharmacoclinique, Wolters Kluwer France. P : 641, 648,655.

**Thomas. R,Frieden. MD, Harold. W, Jaffe. MD et al.(2010).** Prevention of perinatal group B streptococcal disease. *CDC, Recommendations and Reports*. p:14-22.

**Traore. H, (1947).**Sérogroupe et étude de la sensibilité aux antibiotiques des streptocoques hémolytiques isolés au CHU de Dakar.(Etude portant sur 117 souches) Thèse, Pharmacie, Dakar.

**Tuomanen.E. I, (2004).** The Pneumococcus. ASM Press.

**Traub. W. H, Leonhard. B.(1997).** Comparative susceptibility of clinical group A, B, C, F and G beta -hemolytic streptococcal isolates to 24 antimicrobial drugs.p : 10-20.

**Vandaele. E, (2012).**Le lien entre l'usage d'antibiotiques et l'antibiorésistance est-il établi?.p: 8-9.

**Van den bogaard. A, Stobberingh. E. E.(2000).** Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. *Int. J. Antimicrob. Ag.***14**, 327-335. Varon. E. Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* .p : 361- 5.

**Vaubourdolle.M, (2007).**Infectiologie (tom 3), collection dirigé par Michel Vaubourdolle, édition : Wolters Kluwer SA .p:745-852

**Weiss.K, De Azavedo.J, Restieri.C,et al.(2001).** Phenotypic and genotypic characterization of macrolide-resistant group A *Streptococcus* strains in the province of Quebec, Canada, .p : 345-8.

**Yala.D, Merad.A. S, Mohamedi.D, Ouarkorich.M. N. (2001).**Résistance bactérienne aux antibiotiques .p:13-4.

**Zaoutis.T, Steele. Moore. L, Furness. K, Klein. J. D.(2001).** *In vitro* activities of linezolid, meropenem, and quinupristin-dalfopristin against group C and G streptococci, including vancomycin-tolerant isolates .p: 1952-4.

**Znazen. A, Ayadi.S, Mnif.B, Zouari. M, Mezghani.S, Mahjoubi. F, Smaoui. H Boutiba.I, Kechrid. A, Ben Redjeb.S, Hammami.A.(2006).** Résistance de *streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en Tunisie : étude multicentrique .



# Annexes

## **Annexe I:**

Matériel non biologique

### **a. Verreries et autres :**

- Pince
- Ecouvillon en coton
- Tubes à essai stériles
- Pipettes pasteur
- Anse de platine
- Lames et lamelles
- Boite de pétri
- Poire d'aspiration
- Portoirs pour les tubes
- Tubes secs stériles
- Cellules de Malassez
- Disques d'antibiotiques

### **b. Appareillage :**

- Microscope optique
- Etuve
- Bec bunsen
- Réfrigérateur
- Pied à coulisse

### **c. Milieux de culture :**


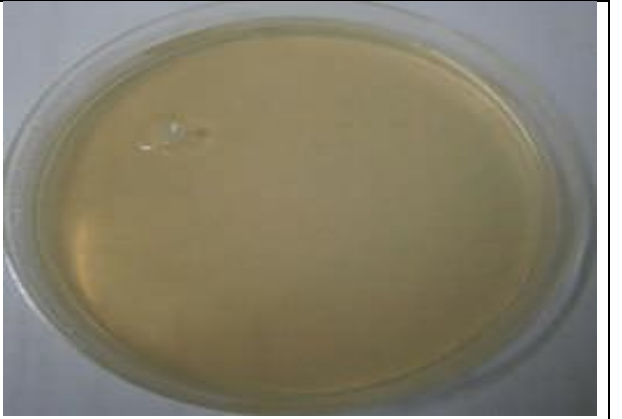
- Gélose nutritive
- Gélose Chapman
- Gélose au sang cuit
- Gélose au sang frais
- Hektoen
- Milieu Muller Hinton
- Milieu Muller Hinton au sang

**d. Solutions stériles et réactifs :**

- Violet de gentiane 1%
- Lugol 10%
- Alcool à 90%
- Huile à immersion stérile
- Fuschine 1%
- Eau oxygénée
- Eau physiologique stérile
- Eau de javel

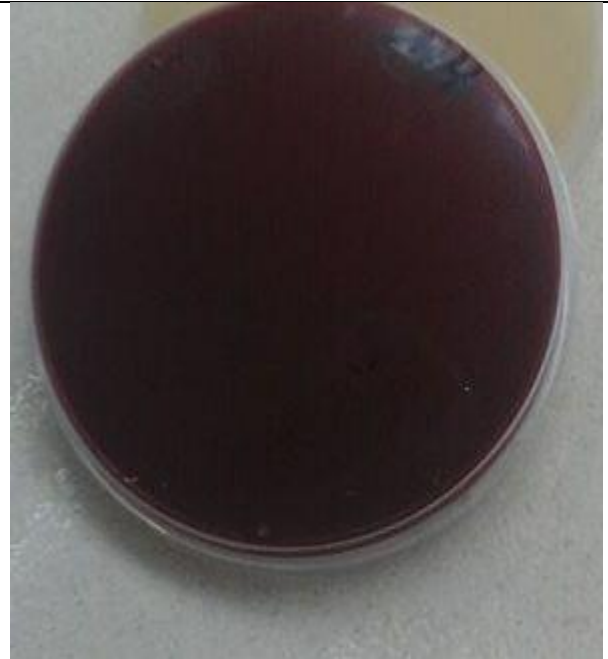
## Annexe II :

Composition des milieux de culture :(formules en g/l)

Compositions :	Aspect des milieux
<p><b>Gélose nutritive : (GN)</b></p> <p>Peptone.....10g</p> <p>Extrait de viande.....3g</p> <p>Extrait de levure.....3g</p> <p>Chlorure de sodium.....5g</p> <p>Agar.....1g</p> <p>PH =7.5</p>	
<p><b>Gélose Muller Hinton :</b></p> <p>-Infusion de viande de boeuf déshydratée....300g</p> <p>-Hydrolysate de caséine.....17.5g</p> <p>-Amidon de maïs.....1.5g</p> <p>-Agar.....13g</p> <p>-Eau distillée.....1000ml</p> <p>pH= 7,4</p>	

### Gélose Muller Hinton au sang

- Infusion de viande de Boeuf .....300g
- Hydrolysate de caseine.....17,5g
- Amidon.....1.5g
- Agar.....10 à17g
- Calcium.....10à17g
- Magnésium.....60à200g
- Eau distillée.....20à40g
- Sang de mouton à 5%..... QSP1L



### Gélose Chapman :

- Peptone.....11,0g
- Extrait de viande.....1.0 g
- Chlorure de sodium .....75,0g
- Mannitol.....10,0g
- Rouge de phéno .....0.025g
- Agar.....15,0g
- Eau distillée.....1000ml

pH= 7,1





**Gélose Hektoène :**

Peptone pepsique de viande .....	15g
-Extrait de viande .....	3g
-Extrait de levure.....	3g
-Lactose .....	12g
-Salicine .....	2g
-Saccharose.....	12g
-Chlorure de sodium .....	5g
-Sels biliaire .....	4g
-Bleu de Bromothymol.....	0.064
-Fuchsine acide.....	0.1

**Gélose au sang :**

-Mélanges spécial de peptones.....	23g
-Amidon.....	1,0g
-Chlorure de sodium.....	5,0g
-Agar.....	10,0g
- Sang de mouton.....	50ml
-Eau distillée.....	1000ml

pH = 7,3



**Gélose au sang cuit:**

- Peptone de viande.....10g
  - Peptone de caséine.....5g
  - Extrait de levure.....3g
  - Chlorure de sodium .....5g
  - Agar .....18g
- pH = 6,9

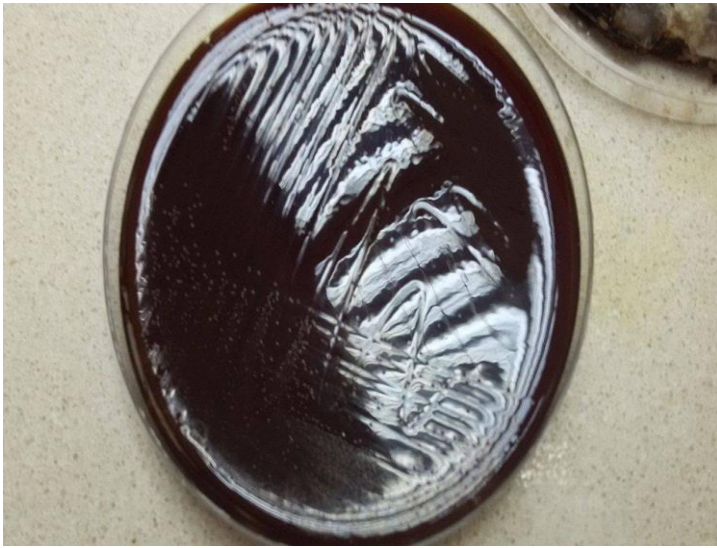


**Esculine**

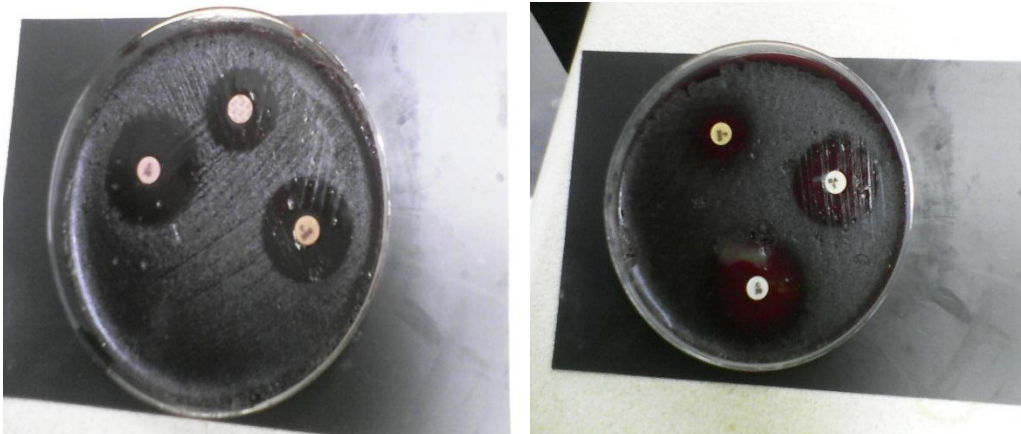
- Peptone de viande.....5g
  - Extrait de viande.....3g
  - Bile de boeuf.....40g
  - Esculine.....1g
  - Citrate de fer.....0,5g
  - Agar.....14,5g
- pH final = 6,6



**Annexe II :**



**Figure16 :** la culture de streptocoque sur milieu gélose au sang (originale).



**Figure17 :** Antibiogramme de streptocoque sur milieu MH au sang (originale).

**Tableau XI** : La liste des antibiotiques à testé pour les streptocoques.

Les antibiotiques	Bêta-hémolytique	Alpha et non hémolytique	<i>S.pneumoniae</i>
Pénicilline	+	-	-
Ampicilline	+	+	-
Erythromycine	+	+	+
Clindamycine	+	+	+
Pristinamycine	+	+	+
Tétracycline	+	+	+
Levofloxacin	+	+	+
Vancomycine	+	+	+
Chloramphénicol	+	+	+
Gentamycine	+	+	-
Rifampicine	+	+	+
Céfotaxime	-	+	+
Oxacilline	-	-	+
Amoxicilline	-	-	+
Imipenème	-	-	+
Triméthoprime+sulfamithoxazole	-	-	+
Fosfomycine	-	-	+