

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB-BLIDA1-



FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

PLACE ET IMPLICATION DU *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*
DANS LES INFECTIONS INVASIVES ET NON INVASIVES
DIAGNOSTIQUÉES AU NIVEAU DU CHU DE BLIDA
UNITÉ -FRANTZ FANON

Thèse d'exercice présentée en vue de l'obtention du Diplôme de "Docteur en Pharmacie"
Session Juin 2018

Présentée par :

- Djeddar Maroua.
- Moussaoui Kenza.

Devant le jury :

- DAHMANI.F : Maitre assistante en microbiologie-USDB..... Présidente.
- BENAMARA.M: Maitre assistante en microbiologie-USDB Examinatrice.
- ROUS ISSA NAZIM : Maitre assistant en otorhinolaryngologie-USDB....Examinateur.
- AZROU.S : Maitre assistante en microbiologie-USDBPromotrice.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENT

LISTE DES FIGURES VI

LISTE DES TABLEAUX..... V

LISTE DES ABREVEATIONS..... VI

GLOSSAIRES VIII

INTRODUCTION

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : DONNEES BACTERIOLOGIQUES

I.1. Historique..... 1

I.2. Classification et taxonomie 3

I.3. Habitat..... 3

I.4. Caractères bactériologiques..... 3

I.4.1. Caractères morphologiques 3

I.4.2. Caractères culturels..... 4

I.4.3. Caractères biochimiques 5

I.4.4. Caractères antigéniques..... 6

I.4.4.1. Antigènes capsulaires 6

I.4.4.2. Antigènes somatiques 8

I.4.5. Transformation naturelle 8

I.5. Identification de *S. pneumoniae* 9

I.5.1. Identification de *S. pneumoniae* par les méthodes classiques (de routine) 9

I.5.2. Autres méthodes phénotypiques d'identification de *S. pneumoniae* 9

I.5.2.1. Le MALDI-TOF 9

I.5.2.2. Le Binax NOW® 10

I.5.3. Application des méthodes génotypiques à d'identification du *S. pneumoniae* 11

I.5.3.1. Les techniques d'amplification génique 11

I.6. Le Sérotypage..... 11

I.6.1. Réaction de Quellung 12

I.6.2. L'agglutination au latex..... 12

I.6.3. Typage moléculaire 12

I.6.4. Autres méthodes..... 13

I.7. Sensibilités aux antibiotiques..... 13

I.7.1. Résistance naturelle 13

I.7.2. Résistance acquise 13

I.7.3. Mécanismes de résistance 14

I.7.3.1. Résistance aux β -lactamines (BL) 14

I.7.3.2. Résistance aux Macrolides 15

I.7.3.3. Résistance aux Fluoroquinolones (FQ)..... 15

CHAPITRE II : POUVOIR PATHOGENE

II.1. Transmission	16
II.2. Colonisation et portage	16
II.3. Physiopathologie	17
II.4. Facteurs liés à la bactérie (facteurs de virulence)	17
II.4.1. Constituants de la paroi.....	17
II.4.1.1. La capsule	18
II.4.1.2. Les protéines de surface Psp A et Psp C.....	18
II.4.1.3. L'adhésine cbpA	18
II.4.1.4. Les acides téchoïques (TA) et lipotechoïques (LTA).....	18
II.4.2. Les pili	18
II.4.3. Les toxines	18
II.4.3.1. La pneumolysine	18
II.4.3.2. L'autolysine LytA	18
II.4.3.3. L'hyaluronidase.....	18
II.4.3.4. La serine protéase.....	19
II.5. Facteurs liés à l'hôte (facteurs de risque)	19
II.6. Les infections non invasives	20
II.6.1. L'otite moyenne aigue OMA	20
II.6.2. Sinusite aigue	20
II.7. Les infections invasives	21
II.7.1. La pneumonie	21
II.7.2. La bactériémie	22
II.7.3. La méningite.....	23
II.8. Autres infections	24
II.8.1. Endocardite infectieuse (EI).....	24
II.8.2. Infections ostéo –articulaire (IOA).....	24
II.8.3. Syndrome hémolytique et urémique SHU	25
II.8.4. Infections nosocomiales.....	25

CHAPITRE III : DONNEES EPIDEMIOLOGIQUE

III.1. Epidémiologie des infections à <i>S.pneumoniae</i>	26
III.2. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques	29

CHAPITRE IV : TRAITEMENT ET PREVENTION

IV.1. Traitement des infections à pneumocoque	33
IV.1.1. Otite Moyenne Aigue	33
IV.1.2. Sinusite aigue	33
IV.1.3. Pneumonie	33
IV.1.4. Bactériémie	33
IV.1.5. Méningite	34
IV.2. Le vaccin	34
IV.2.1. Le vaccin polysaccharidique non conjugué	34
IV.2.2. Le vaccin polysaccharidique conjugué.....	35

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE V : MATÉRIEL ET MÉTHODES

V.1. Présentation de l'étude	37
V.1.1. Critères d'inclusion	37
V.1.2. Critères d'exclusion	37
V.2. Échantillon	37
V.3. Conservation	37
V.4. Contrôle de qualité des tests effectués	37
V.5. Matériel	38
V.5.1. Matériel non biologique	38
V.5.2. Matériel biologique	38
V.5.2.1. Prélèvements	38
V.6. Méthodes	38
V.6.1-Examen direct	38
V.6.2. Isolement et culture	39
V.6.3. Identification des souches de <i>S.pneumoniae</i>	39
V.6.3.1. Isolement et culture	41
V.6.3.2. Examen macroscopique des colonies	41
V.6.3.3. Examen microscopique des colonies	42
V.6.3.4. Test de la catalase	42
V.6.3.5. Test de sensibilité à l'optochine	43
V.6.3.6. Test d'agglutination au latex (Slidex pneumo kit)	44
V.6.3.7. Identification par Galerie Api strep20	45
V.6.3.8. Tests de sensibilité aux antibiotiques	45

CHAPITRE VI : RÉSULTATS

CHAPITRE VII : DISSCUSSION

CONCLUSION

REFERENCES

X

ANNEXES

XXVI

RESUME

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Coloration de Gram d'une culture du pneumocoque en milieu contenant du sang.....	4
Figure 2 : Mise en culture du <i>streptococcus pneumoniae</i>	5
Figure 3 : Illustration schématique de l'agencement de la paroi cellulaire pneumococcique....	8
Figure 4 : Technique de MALDI –TOF-MS	10
Figure 5 : Le Binax NOW <i>Streptococcus pneumoniae</i>	11
Figure 6 : Réaction de Quellung	12
Figure 7 : Réaction PCR	13
Figure 8 : Progression de l'infection pneumococcique	17
Figure 9 : Principaux facteurs de virulence	19
Figure 10 : OMA aigue en otoscopie, collection déclive bien visibe et bombement du tympan	20
Figure 11 : Image radiologique typique de pneumonie à pneumocoque.....	21
Figure 12 : Complications multiples chez un patient atteint de méningite à pneumocoques	23
Figure 13 : Le vaccin polysaccharidique non conjugué Pnneumovax 23.....	35
Figure 14 : Vaccin polysaccharidique conjugué 13 valent Prevenar 13.....	36
Figure 15 : Culture du <i>Streptococcus pneumoniae</i> sur gélose au sang frais	41
Figure 16 : Observation du <i>S.pneumoniae</i> au microscope	42
Figure 17 : Résultat positif et négatif de test de catalase	43
Figure 18 : Teste de sensibilité à l'optochine du <i>S. pneumoniae</i>	44
Figure 19 : Agglutination du <i>S.pneumoniae</i> par le latex anti pneumococcique	45
Figure 20 : Galerie Api strep20 codant un <i>Streptococcus pneumoniae</i>	45
Figure 21 : antibiogramme d'une souche du <i>S.pneumoniae</i>	48
Figure 22 : CMI de céfotaxime d'une souche du <i>S. pneumoniae</i>	50
Figure 23 : Taux du <i>S.pneumoniae</i> isolés	51
Figure 24 : Répartition des infections à <i>S. pneumoniae</i> selon la nature d'infection.....	52
Figure 25 : Répartition des souches du <i>S.pneumoniae</i> selon le type de l'infection	52
Figure 26 : Répartition des infections en fonction des mois	53
Figure 27 : Répartition des OMA à <i>S. pneumoniae</i> selon le sexe	54
Figure 28: Répartition des tranches d'âge chez les patients souffrants d'OMA à pneumocoque	55
Figure 29 : Place du pneumocoque dans les otites.....	56
Figure 30 : Nombre de <i>S.pneumoniae</i> isolés de pus auriculaire selon l'année	56
Figure 31 : Répartition des infections invasives du <i>S.pneumoniae</i> selon le sexe.....	57
Figure 32 : Distribution des souches du <i>S. pneumoniae</i> en fonction de l'infection et de l'âge	58
Figure 33 : Place du pneumocoque dans les méningites bactériennes.....	59
Figure 34: Place du pneumocoque dans les bactériémies	60
Figure 35 : Place du pneumocoque dans les pneumonies	61
Figure 36: Taux de résistance aux antibiotiques des isolats du <i>S.pneumoniae</i>	62
Figure 37 : Résistance associée et multi-résistance du <i>S.pneumoniae</i>	64

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales caractères biochimiques chez <i>S. Pneumoniae</i>	6
Tableau 2 : Les sérotypes selon les deux nomenclatures danoises et américaines.....	7
Tableau 3 : Recherche du <i>S. pneumoniae</i> de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines	47
Tableau 4 : Critères d'interprétation des CMI du <i>S.pneumoniae</i> selon les normes du CLSI.	
49 Tableau 5 : Répartition des infections à <i>S.pneumoniae</i> selon le service clinique.....	54
Tableau 6 : Distribution des souches du <i>S.pneumoniae</i> isolés d'OMAd'selon l'année.....	55
Tableau 7 : Répartition des souches du <i>S.pneumoniae</i> isolées des méningites (LCR) selon l'année.....	58
Tableau 8 : Répartition des souches du <i>S.pneumoniae</i> isolées des bactériémies (hémoculture) selon l'année.....	59
Tableau 9 : Répartition des souches du <i>S.pneumoniae</i> isolées des pneumonies (PDP/LBA) et de pleurésie (Liquide pleurale) selon l'année	61
Tableau 10 : Résultats de la détermination des CMI par E. Test obtenus avec l'amoxicilline, la pénicilline, la céfotaxime et l'imipénème	63

LISTE DES ABREVEATIONS

- ACIP** : Comité consultatif sur les pratiques d'immunisation
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AMM** : Autorisation de mise sur le marché
- ANSORP** : Réseau asiatique pour la surveillance des pathogènes résistants
- ARN** : Acide ribonucléique
- BL** : β -lactamines
- CbpA** : Collagène building protéine A
- CDC** : Centers for Disease Control and Prevention
- CMI** : Concentration minimal inhibitrice
- CNRP** : Centre National de Référence de Pneumocoques
- EI** : Endocardite infectieuse
- FQ** : Fluoroquinolones
- IgG** : Immunoglobuline G
- IIP** : Infections invasives à pneumocoque
- IOA** : Infection ostéo – articulaire
- IV** : Intraveineux
- LCR** : Liquide céphalo-rachidien
- LTA** : Lipoteichoic Acid
- LyT A** : L'autolysine A
- MALDI-TOF** : matrix-assisted laser desorption/ionization
- MLSB** : Macrolide lincosamide streptogamine B
- MLST** : Multi-Locus Sequence Typing
- OMA** : Otite moyenne aigue
- OMS** : Organisation mondiale de la santé
- ORL** : Oto-rhino laryngologie

PAC : pneumonie aigue communautaire
PCR : Polymerase Chain Reaction
PCV : Pneumococcal conjugate vaccine
PI : pleurésie infectieuse
PLP : Protéine de liaison à la pénicilline
PPSV : Pneumococcal polysaccharide vaccine
PSDP : Pneumocoque de sensibilité diminué à la pénicilline
PspA : Pneumococcal surface protein A
PspC : Pneumococcal surface protein B
QRDR : Quinolone résistance determining region
RFLP : Restriction fragment length polymorphism
RT-PCR: Real-time polymerase chain reaction.
SHU : Syndrome hémolytique et urémique
SM-PCR : Signal molecule Polymerase Chain Reaction
SNC : Système nerveux central
TA : Teichoic Acide
TDR : Test de diagnostic rapide
VIH : Virus d'immunodéficience humaine
WGS : Whole genome sequencing Time of Flight

Glossaire

Asplénie : est l'absence de rate. Elle est le résultat d'une anomalie congénitale, ou bien d'une ablation chirurgicale (la rate est retirée).

Coagulopathie : désigne toute pathologie provoquée par un trouble de la coagulation sanguine.

Compétence naturelle : la capacité d'une cellule à prélever une molécule d'ADN libre dans son environnement par le phénomène de transformation.

Drépanocytose : parfois appelée anémie à cellules falciformes, est une affection héréditaire caractérisée par une anomalie au niveau de l'hémoglobine, un des composants des globules rouges.

Epidémie : est la propagation rapide d'une maladie infectieuse à un grand nombre de personnes.

Epitope : aussi appelé déterminant antigénique, est une molécule qui peut être reconnue par un paratope (partie variable d'un anticorps ou d'un récepteur membranaire des lymphocytes B : BCR)

Fébrile : élévation anormale de la température du corps.

Flore commensale : constitue le groupement d'éléments microscopique vivants au niveau de la peau et des muqueuses de l'homme.

Fréquence : vise à quantifier la présence d'un attribut ou la survenue d'un évènement en rapport avec la santé dans une population.

Gouttelettes de Pflügge : petites particules pathogènes contenant des sécrétions respiratoires expulsées dans l'air par la toux, qui sont réduites par évaporation en petites particules sèches qui peuvent rester en suspension pendant de longues périodes.

Hypoacousie : est un type de surdité, c'est-à-dire un trouble affectant la perception des sons. Elle est caractérisée par une baisse auditive partielle.

Immunogénicité : est la capacité pour toute substance, soluble ou particulière, protéique ou non, habituellement étrangère à l'organisme dans lequel elle se trouve, de provoquer une réponse immunitaire spécifique.

Incidence : L'incidence est le nombre de nouveaux cas de maladie survenant pendant une période donnée, généralement une année.

Létalité: Elle décrit la survenue du décès chez des personnes atteintes d'une maladie donnée. Elle se calcule en faisant le rapport du nombre de décès causés par une maladie sur le nombre de nouveaux cas de cette maladie, pour une période donnée.

Mastôidite : C'est l'inflammation de la mastoïde qui est la base de l'os temporal (au toucher : un petit bombement osseux juste derrière le lobe de l'oreille)

Morbidité : Nombre d'individus atteints par une maladie dans une population donnée et pendant une période déterminée.

Mortalité : Nombre de décès survenus au cours d'une période donnée, dans une population donnée, en relation avec une maladie déterminée. Elle peut se calculer par tranche d'âge, par sexe, par origine ethnique

Nasopharynx : est la partie supérieure des voies respiratoires, située juste après les cavités nasales.

Opsonisation : est un processus biochimique par lequel une molécule (qualifiée d'opsonine) recouvre la membrane d'une cellule cible (une bactérie par exemple) pour favoriser sa phagocytose par une cellule dotée de récepteurs pour ces opsonines.

Otorrhée : est un écoulement de liquide séreux, mucoïde ou purulent provenant du conduit auditif externe, témoin d'une affection de l'oreille, le plus souvent d'origine infectieuse, comme lors d'une otite externe ou d'une otite moyenne avec perforation du tympan.

Otoscopie : est un examen réalisé par le médecin qui vise à visualiser le tympan et le conduit auditif externe en utilisant un instrument spécifique : l'otoscope

Peptidoglycane : forme de la paroi bactérienne. Il est formé d'une partie glucidique et d'une partie peptidique.

Phagocytose : est le processus permettant à une cellule d'englober puis de digérer une substance étrangère. Ce phénomène joue un rôle de défense dans la fonction cellulaire.

Prévalence : Nombre de cas nouveaux et/ou anciens d'une maladie, au sein d'une population donnée, à un moment donné, soit un instant, soit un intervalle de temps. Ce n'est pas un taux mais une proportion.

Rhinopharyngite : se caractérise par l'inflammation des muqueuses du pharynx supérieur, appelé rhinopharynx ou nasopharynx, un conduit qui s'étend entre le palais buccal et les fosses nasales.

Proportion : une proportion est un rapport dont le numérateur fait partie du dénominateur, tous deux étant mesurés simultanément

Purpura : est une affection médicale caractérisée par des taches de couleur pourpre sur la peau ou sur les muqueuses.

Sinus : un sinus est une cavité creusée naturellement dans un os ou un organe. Les os de la face, par exemple, présentent un certain nombre de sinus. La sinusite est l'inflammation des membranes et des tissus tapissant les sinus.

Trompe d'Eustache : ou trompe auditive est un conduit osseux et fibro-cartilagineux reliant la paroi antérieure de l'oreille moyenne au nasopharynx.

Tympan : est une membrane fibreuse séparant l'oreille externe et l'oreille moyenne.

virus respiratoire syncytial : est le virus qui infecte le plus les poumons .

INTRODUCTION :

Streptococcus pneumoniae communément appelé pneumocoque, est un cocci à Gram positif, anaérobie facultatif, possédant de nombreux facteurs de virulence notamment la capsule dont la variabilité antigénique permet de distinguer jusqu'à ce jour plus de 98 sérotypes différents **(108)**.

Le pneumocoque est présent à l'état commensal dans les voies respiratoires supérieures de la prime enfance **(128)**. Ce microbiote est ordinairement non pathogène, toutefois, sous certaines conditions le pneumocoque est responsables de pathologies graves parfois-mortelles **(63)**.

Les maladies pneumococciques vont des infections bénignes des muqueuses des voies respiratoires telles que l'otite moyenne et la sinusite à des maladies plus graves telles que la pneumonie, la septicémie et la méningite. D'autres localisations ont été rapportées et ne doivent pas être méconnues même si elles sont rares (Endocardite, arthrite ...) **(59)**.

Ces maladies sont une cause majeure de morbidité et de mortalité à l'échelle mondiale. Plus de 800 000 enfants de moins de 5 ans meurent chaque année suites à une infection due aux pneumocoques **(225)**. Chez l'adulte l'incidence des infections invasives a été estimée de 23 cas par 100 000 habitants en 2015 selon le CDC **(220)**.

Une des préoccupations majeures des cliniciens et des microbiologistes est l'importance du nombre de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G (PSDP) et les conséquences thérapeutiques que ça implique. La résistance à la pénicilline G est apparue depuis longtemps et voit son incidence augmenter régulièrement, d'autres familles antibiotiques sont également touchées, comme les céphalosporines de troisième génération (C3G) et les macrolides **(216)**.

Depuis l'introduction et l'utilisation généralisée du vaccin conjugué 7 valent chez les enfants en 2000, l'incidence des infections pneumococciques dues aux sérotypes vaccinaux a significativement diminué, mais celle dues aux sérotypes non vaccinaux a augmenté. Ce phénomène de remplacement est important et a suscité la commercialisation de deux autres vaccins, le PCV 10 et le PCV13 **(47)**. Selon l'OMS, les pathologies pneumococciques sont la première cause de mortalité évitable par un vaccin **(39)**.

Le laboratoire de microbiologie médicale a pour rôle principale l'analyse des prélèvements issus de patients, à des fins diagnostiques qui consiste à l'isolement de la bactérie responsable de l'infection et un rôle thérapeutiques où le microbiologiste apporte au clinicien les informations claires sur la sensibilité aux antibiotiques de cette dernière.

L'ensemble de la base des données du laboratoire peut permettre la surveillance épidémiologique des infections pneumococciques, l'étude des profils de résistance aux antibiotiques et la surveillance de leurs évolutions, et enfin de suivre le remplacement des sérotypes et l'impact de la vaccination .

Notre travail comporte deux parties :

- Une revue bibliographique qui englobe les données microbiologiques, cliniques et épidémiologiques des infections pneumococciques invasives et non invasives.
- Une partie pratique où on recense les souches de *S.pneumoniae* isolées et identifiées à partir de différents prélèvements.

CHAPITRE I : DONNÉES BACTERIOLOGIQUES

I.1. Historique :

En 1881, *Streptococcus pneumoniae* (*S.pneumoniae*) fut isolée pour la première fois par deux microbiologistes : Louis Pasteur en France et George M.Sternberg aux Etats-Unis. De manière indépendante, les deux chercheurs ont injecté la salive humaine en lapins. Pasteur a utilisé la salive d'un enfant qui était mort de la rage, alors que Sternberg utilisait sa propre salive. Ils ont ensuite récupéré des diplocoques du sang de ces lapins. En effet, chaque chercheur avait décrit le même organisme ; il fut nommé "Microbe septicémique de la salive" par Pasteur et "*Micrococcus pasteurii*" par Sternberg. (2)

En 1886, cet organisme a été désigné *Pneumococcus* par Fraenkel en raison de son pouvoir à provoquer la pneumonie.

En 1920, Il a été renommé *Diplococcus pneumoniae* en se basant sur sa forme de pair de cocci qui est une épithète suggérée par Weichselbaum.

Ce n'est qu'en 1974, que le pneumocoque a reçu son nom actuel, « *Streptococcus pneumoniae* » principalement à la base de sa croissance caractéristique en chaînes de cocci dans le milieu liquide (du grec Strepto pour « chaîne » et coccus pour « graine ») (99) .

En 1910, Neufeld et Haendel mettent au point la sérotypie par le biais d'agglutination macroscopique et microscopique visible, qui donne une impression de « gonflement de la capsule » connu sous le nom de réaction de Quellung.

En 1917, à l'Institut Rockefeller de New York, Dochez et Avery ont décrit la capsule polysaccharidique dans le sérum et l'urine de patients atteints de pneumonie lobaire, qui précipite avec un antisérum spécifique à pneumocoque. Ensuite, Heidelberger et Avery ont établi sans ambiguïté que le polysaccharide capsulaire était le facteur responsable de la réactivité sérologique de la cellule pneumococcique.

La preuve définitive de l'importance de la capsule dans la virulence a été documentée dans le « Journal of Experimental Medecine » en 1931.

En 1911, Morganroth et Levy ont montré qu'une quinine (également connue sous le nom d'optochine), inhibe la croissance des pneumocoques ; mais son utilisation comme agent antimicrobien a été rapidement abandonnée, en raison de sa toxicité optique (221).

Même avant la démonstration de l'immunogénicité capsulaire, des études sur les vaccins ont commencé dès 1911 par Sir Almroth E. Wright. Un essai d'inoculation de pneumocoque entier tué a échoué. La vaccination n'a connu d'essor qu'avec les vaccins polyosidiques capsulaires partiellement purifiés. Ils ont contenu successivement 6 sérotypes (1940) ,14 (1977) puis 23 valences (1983). Les vaccins conjugués sont venus plus récemment compléter l'arsenal préventif (169).

La deuxième nouvelle approche de la thérapie était l'administration d'agents chimio thérapeutiques, en premier lieu la sulfanilamide et plus tard la pénicilline.

Mais on a signalé une résistance chez *S. pneumoniae* à cette dernière pour la première fois en 1965 en Australie, par la suite en Afrique du Sud (1977). Depuis ces premiers rapports, la résistance à la pénicilline et à d'autres antibiotiques, est de plus en plus fréquente dans les souches de *S.pneumoniae* du monde entier (158).

I.2. Classification et taxonomie :

En 1937, Sherman a établi la première classification des streptocoques sur la base de dix caractères (groupe antigénique de Landefeld, hémolyse, température de croissance et tolérance de Na Cl...).

Il divise le genre *Streptococcus* en 4 groupes: viridans, entérocoques, lactiques et pyogènes dans lequel figure le pneumocoque en raison de sa pathogénicité proche de ce dernier. En 1994, les streptocoques sont groupés en 3 groupes ensemble : pyogènes, oraux et du groupe D.L'ensemble des streptocoques oraux sont divisés en 4 groupes d'espèce. : *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* et *Streptococcus déficient*, le pneumocoque est rattaché au groupe des oralis.

En 1998, *S.pneumoniae* est séparé du groupe oralis et constitue à lui seul un sous ensemble (203).

En 2014, le genre *streptococcus* comprend 104 espèces différentes. Parmi ces espèces celle de groupe du *mitis* au lequel appartient le pneumocoque (145).

• Taxonomie :

Royaume : Bactéries

Embranchement : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Lactobacillales

Famille : Streptococcaceae

Genre : *Streptococcus*

Espèce : *pneumoniae* (187).

I.3. Habitat :

Le pneumocoque est une bactérie strictement humaine dont l'habitat naturel est fourni par la muqueuse des voies respiratoires supérieures (102). La colonisation par le pneumocoque survient tôt dans la vie, son taux atteint un sommet chez les enfants d'âge préscolaire (138).

I.4. Caractères bactériologiques :

I.4.1. Caractères morphologiques :

S. pneumoniae est un cocci à Gram positive de diamètre inférieur à 2 micromètre. A l'examen microscopique, il se présente sous forme de diplocoque capsulé d'allure lancéolé (en flamme de bougie) ou en courtes chainettes (99).

La bactérie peut également se présenter sous forme plus ou moins pseudo-bacillaire quand elle est en voie de lyse. Le germe ne forme pas de spores et n'est pas mobile, bien que la présence de pili ait été rapportée (153) .

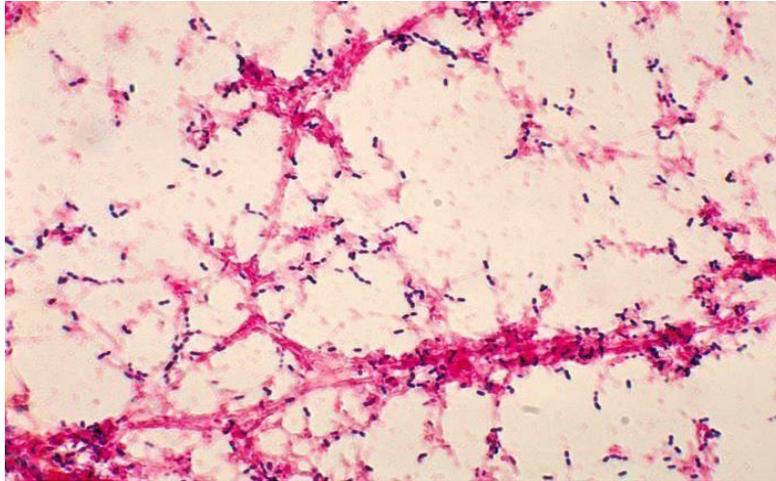


Figure 1 : Coloration de Gram d'une culture de pneumocoque en milieu contenant du sang (198).

I.4.2. Caractères cultureux :

- **Milieus de culture ;**

La culture de *S. pneumoniae* nécessite l'adjonction de facteurs de croissance. Les milieux les plus couramment utilisés sont la gélose trypticase soja ou la gélose Columbia enrichie en sang défibriné de mouton ou de cheval. On peut utiliser également de la gélose chocolat polyvitex, dont la composition est proche de celle du milieu Mueller-Hinton, dans lequel sont incorporé 1% d'hémoglobine et un mélange polyvita minique remplaçant les facteurs de croissance du sang.

La culture en milieu liquide se fait dans un bouillon cœur-cerveille ou Todd-Hewitt qui favorisent la croissance bactérienne (203) .

- **Conditions de culture :**

Comme pour tous les streptocoques, une atmosphère enrichie en CO₂ (5 à 10%) ou une atmosphère anaérobie favorisent la croissance des pneumocoques et l'expression de l'hémolyse. La température optimale est de 35 à 37 °C (203) .

- **L'aspect des colonies :**

En 24 heures, le pneumocoque donne des petites colonies (d'environ 1 mm de diamètre) bombées à contours réguliers, alpha-hémolytiques sur gélose au sang, ceci résulte de l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine par le peroxyde d'hydrogène sécrétée par la bactérie. Cependant une hémolyse complète de type β est observée autour des colonies des pneumocoques dans certaines circonstances, notamment lorsque les cultures ont été faites en atmosphère anaérobie. Cette hémolyse est liée à la pneumolysine, ou l'hémolysine intracellulaire qui est détruite en présence d'oxygène (153) (228).

Les bactéries capsulées donnent sur gélose, des colonies d'aspect lisse, dites colonies S pour « smooth », les non-capsulées des colonies d'aspect rugueux, nommées colonies R pour « rough », et certains sérotypes, en particulier le sérotype 3, présentent des colonies d'aspect muqueux.

Sur la plupart des milieux de culture utilisés, les colonies de *S. pneumoniae* subissent une autolyse à partir de 24 heures, qui se traduit par un creusement des colonies en leur centre et un aspect ombiliqué. Ce phénomène impose des repiquages fréquents des souches afin de conserver leur vitalité (21).



Figure 2 : mise en culture de *S. pneumoniae* (210)

1.4.3. Caractères biochimiques :

Le pneumocoque ne possède ni catalase, ni peroxydase, ce qui induit l'accumulation de peroxyde d'hydrogène responsable en partie de son autolyse. L'identification formelle du pneumocoque repose en routine sur trois critères :

- La sensibilité à l'optochine (éthylhydrocupréine, dérivé proche de la quinine) ;
- La lyse par les selles biliaires ; les colonies de *S.pneumoniae* sont « dissoutes » ou lysées en 30 min en présence d'une suspension de bile. Le rôle de la bile sur les bactéries peut être rapporté à celui des sels de sodium d'acides organiques ;
- La mise en évidence des antigènes capsulaires (101).

Tableau 1 : Principaux caractères biochimiques chez *S.pneumoniae* (121).

Test	Hémolyse	PYR	Hippurate De Na	ONPG	Esculine	NaCl 6.5%	Optochine	Catalase
Résultats	α	-	-	+	-	-	S	-

*ONPG: Ortho-NitroPhényl- β Galactoside.
Sensible.

(+): Test positif. (-): Test négatif. S:

*PYR : Pyrrolidonyl Aminopeptidase.

I.4.4. Caractères antigéniques :

I.4.4.1. Antigènes capsulaires :

Une grande partie des souches de *S.pneumoniae* possède une capsule polysaccharidique, dont les différences dans la composition chimique permettent jusqu'à maintenant de décrire plus de 98 sérotypes différents (123). (Tableau 2)

La taille et la composition de la capsule varie selon le sérotype, ce qui entraîne des différences dans la virulence, expliquant que certains types sérologiques soient plus volontiers isolés dans le portage chronique, d'autre dans des infections localisées et d'autre dans les infections systémiques (100,123).

Tableau 2 : les sérotypes selon les deux nomenclatures danoise et américaine (108).

Danish type	U.S. type	Danish type	U.S. type	Danish type	U.S. type	Danish type	U.S. type	Danish type	U.S. type
1	1	9V	68	16F	16	24F	24	35A	47/62
2	2	10F	10	16A	ND	24A	65	35B	66
3	3	10A	34	17F	17	24B	60	35C	61
4	4	10B	ND	17A	78	25F	25	36	36
5	5	10C	ND	18F	18	25A	NI	37	37
6A	6	11F	11	18A	44	27	27	38	71
6B	26	11A	43	18B	55	28F	28	39	69
6C	6C	11B	76	18C	56	28A	79	40	45
6D	6D	11C	53	19F	19	29	29	41F	38
6E^b	ND	11D	ND	19A	57	31	31	41A	74
6F	6F	11E	ND	19B	58	32F	32	42	80
6G	6G	12F	12	19C	59	32A	67	43	75
6H	6H	12A	83	20A	20	33F	70	44	81
7F	51	12B	ND	20B	ND	33A	40	45	72
7A	7	13	13	21	21	33B	42	46	73
7C	50	14	14	22F	22	33C	39	47F	52
8	8	15F	15	22A	63	33D	ND	47A	84
9A	33	15A	30	23F	23	33E^b	NI	48	82
9L	49	15B	54	23A	46	34	41		
9N	9	15C	77	23B	64	35F	35		

NI: no information

ND: not defined ^b; no biochemical or unique serologic data have been presented.

I.4.4.2. Antigènes somatiques :

Il s'agit des antigènes liés à la paroi cellulaire. Ils sont répartis en deux couches antigéniques : l'une protéique spécifique du type (R, M) et l'autre polysidique spécifique de l'espèce (substance C).

La couche protéique est constituée de deux protéines R et M :

L'antigène R : est souvent inapparent car masqué par l'antigène capsulaire.

L'antigène M : est proche de l'antigène M des streptocoques du groupe A.

La substance C : qui est un polysaccharide constitué d'acide teichoïque, peut parfois contaminer les polysaccharides capsulaires et peut être responsable de réactions croisées. Sa composition chimique est analogue au polysaccharide C des streptocoques mais elle est différente du point de vue antigénique (210).

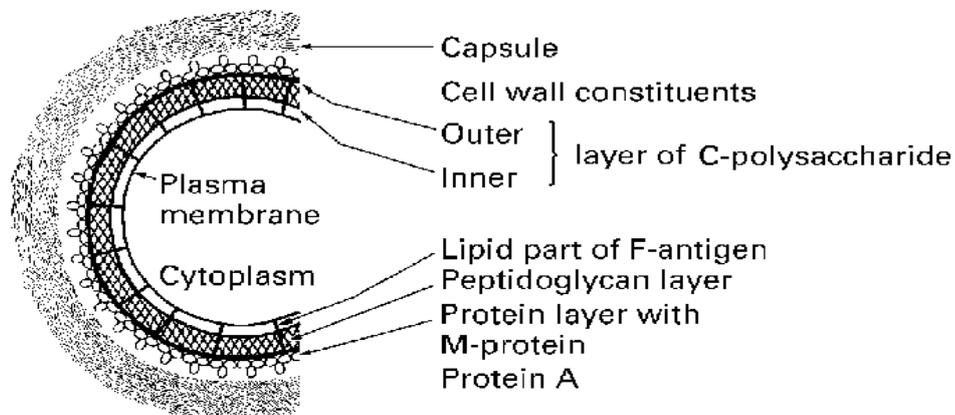


Figure 3 : Illustration schématique de l'agencement de la paroi cellulaire pneumococcique (227)

I.4.5. Transformation naturelle :

Le pneumocoque présente une propriété de compétence naturelle. Ce phénomène est à la base du mécanisme de transformation bactérienne mis en évidence par Frederick Griffith en 1928.

Griffith a constaté qu'en injectant à une souris des pneumocoques de souche R "rough" non capsulés ainsi qu'une petite quantité de pneumocoques S "smooth", encapsulés tués, la souris meurt par septicémie. Les bactéries R, au contact de bactéries S inactivées, ont donc acquis un caractère pathogène qu'elles ne possédaient pas précédemment. (220) (Annexe I)

En 1944, Avery, MacLeod et McCarty ont établi les bases de la génétique bactérienne en montrant que l'ADN est le facteur transformant chez les pneumocoques.

Une propriété qui permet à cette bactérie d'acquérir de nouveaux caractères en prélevant de l'ADN nu dans l'environnement et en l'incorporant dans son génome par recombinaison homologe. (21)

I.5. Identification du *S. pneumoniae* :

I.5.1. Identification du *S. pneumoniae* par les méthodes classiques (de routine) :

Les techniques de microbiologie classiques, telle que la coloration de Gram, la présence d'hémolyse sur gélose au sang, l'aspect des colonies, la sensibilité à l'optochine, l'agglutination au latex et la solubilisation par les sels biliaries sont généralement utilisées pour l'identification de *S. pneumoniae*.

Certains de ces tests tels que l'hydrolyse des sels biliaries et le test d'optochine peuvent présenter des faux positifs ainsi que des cas faussement négatifs (178,41).

Des tests complémentaires tel que la mise en évidence de la capsule par l'encre de chine peut aider à l'identification du *S.pneumoniae* en routine (Annexe II).

I.5.2. Autres méthodes phénotypiques d'identification de *S. pneumoniae* :

D'autres méthodes actuellement très utilisées dans les pays développés tels que le MALDI-TOF et le binax NOW ont prouvé leur grande sensibilité et efficacité dans l'identification de *S. pneumoniae*.

I.5.2.1. Le MALDI-TOF :

Cette nouvelle technologie permet de réaliser très rapidement et à moindre coût un diagnostic d'espèce sur des colonies de bactéries isolées sur des milieux de culture solides. . Par ailleurs, il est aussi possible d'identifier les germes directement à partir de flacons d'hémocultures positifs ou à partir de certains prélèvements comme les urines (178) .

-Principe :

Le spectromètre de masse MALDI-TOF est un spectromètre utilisant une source d'ionisation laser assistée par une matrice et un analyseur à temps. Elle permet d'ioniser des molécules de grande taille, peu volatiles et sensibles à la chaleur sans les dégrader. La méthode MALDI-TOF s'applique aux biomolécules fragiles comme les peptides, les protéines, les glycoprotéines et les oligonucléotides (35) .

Une source laser est dirigée sur la cible afin d'ioniser les molécules de l'échantillon. La vitesse de chaque particule dépend du rapport masse/charge. Une fois l'ion arrivé au détecteur, le signal est amplifié et envoyé à un ordinateur qui traite les données et donne les résultats sous forme de spectre (35) .

Des études récentes signalent des pics sélectifs dans le profil MALDI-TOF-MS du *S. pneumoniae*, la sensibilité et la spécificité de l'identification peuvent être augmenté de près de 100% (38, 136, 211) .

Récemment, le MALDI-TOF est évalué comme une méthodologie plus appropriée et accessible pour déterminer le type capsulaire d'isolats pneumococciques, montrant le potentiel de différenciation des dix sérotypes pneumococciques majeurs (196, 147).

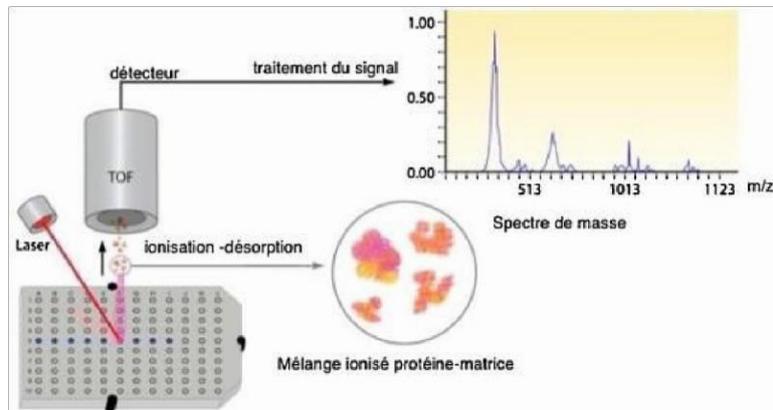


Figure 4 : Technique de MALDI –TOF-MS (196).

I.5.2.2. Le Binax NOW® :

Le Test Binax Now est un test de diagnostic rapide (TDR), in vitro, pour la détection directe de l'antigène de *S. pneumoniae* à partir du prélèvement ; dans l'urine en cas de pneumonie ainsi que dans le liquide céphalorachidien (LCR) cas de méningite (160).

-Principe :

La détection rapide d'antigènes bactériens (polyoside C en cas de *S. pneumoniae*) par immuno-chromatographie sur membrane, consiste à déposer l'échantillon à tester (urines, LCR) à l'une des extrémités d'une membrane de nitrocellulose fixée sur un support plastique ou carton. Si l'antigène recherché est présent, il se lie avec un anticorps marqué. Les complexes antigènes-anticorps migrent par capillarité et sont arrêtés par des anticorps de capture fixés sur la membrane. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une ligne colorée, l'apparition des bandes est rapide en 15 à 20 mn (177) .

L'utilisation des TDR a conduit à une augmentation plus importante des rendements pneumococciques par rapport à la culture seule chez les patients ayant un traitement antimicrobien antérieur que chez ceux qui n'en ont pas (98) .

Une limite de l'utilisation de ce test est liée à la $\frac{1}{2}$ vie longue du polyoside C (12 à 36 semaines). Un autre problème concerne les enfants, fréquemment porteurs sains de *S.pneumoniae* au niveau rhinopharyngé, en particulier avant l'âge de 2 ans (215) .



Figure 5 : Le Binax NOW *Streptococcus pneumoniae*.(98).

1.5.3. Application des méthodes génotypiques à l'identification du *S. pneumoniae*:

- **Les techniques d'amplification génique :**

Ces techniques offrent un diagnostic rapide et fiable. Elles permettent de détecter directement un fragment du génome de *S. pneumoniae* du prélèvement pathologique (41).

-La PCR : ou réaction de polymérase en chaîne, est une technique d'amplification d'ADN in vitro. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN. Un cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible (la durée d'un cycle est de l'ordre de la minute) (41).

-La RT-PCR : est basée sur la détection et la quantification d'un « reporter » fluorescent. L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés durant la réaction de PCR (156).

Les gènes cibles qui sont très documentés pour l'identification de *S. pneumoniae* sont : PlyN, LytA, PsaA, ARNr 16s, PBP2b, sodA et rpoB. La méthode indépendante de la culture pour la détection des pneumocoques recommandés par l'OMS est la RT-PCR utilisant le gène LytA développée par le CDC (199) .

La PCR est généralement combinée à une autre méthode pour l'identification de *S.pneumoniae* par exemple la PCR combinée avec RFLP (156) .

1.6.Le Sérotypage :

Plusieurs méthodes de sérotypage ont été décrites dans la littérature, actuellement plus de 16 méthodes sont identifiées, certaines sont basées sur des propriétés immunologiques d'autres sont des tests moléculaires semi automatisées (52) .

1.6.1. Réaction de Quellung :

Ou test de Neufeld est toujours considéré comme gold standard du sérotypage pneumococcique, très sensible et spécifique (182).

- Principe :

C'est une méthode d'immunoprécipitation in situ dans laquelle un antisérum antipneumococcique est ajouté à la suspension pneumococcique. Si l'anticorps reconnaît un épitope capsulaire spécifique, il se lie à la paroi cellulaire et produit un changement de l'indice de réfraction de la lumière passant à travers la capsule de sorte qu'elle apparaît "gonflée" sous microscope (182) (Annexe III).

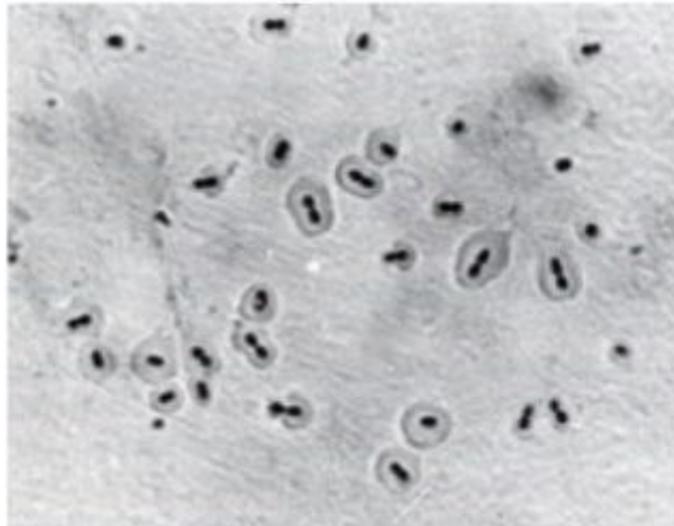


Figure 6 : Réaction de Quellung (13).

1.6.2. L'agglutination au latex :

L'OMS a recommandé l'agglutination au latex comme méthode alternative au test Quellung «standard» pour le sérotypage des pneumocoques.

-Principe :

Le test utilise des particules de latex déshydratées et sensibilisées par des anticorps reconnaissant la plupart des types sérologiques de pneumocoques. Le latex agglutine en présence d'une quantité suffisante d'antigène. Ce test offre une manière rapide et simple de screening de *S. pneumoniae*. (216)

Des réactifs commerciaux pour sérotypage pneumococcique du latex ont été mis au point par le Statens Serum Institut (SSI). (169)

1.6.3. Typage moléculaire :

- PCR Multiplex :

Une autre alternative à la réaction de Quellung est la détermination du sérotype en

utilisant une approche PCR ciblant les gènes de synthèse de la capsule polysaccharidique (cps), Le (CDC) a mis au point un protocole PCR multiplex avec des réactions séquentielles pour déterminer les sérotypes de grandes collections d'isolats pneumococciques causant des maladies invasives.

L'approche CDC cible de courtes séquences du locus cps qui discriminent entre les sérotypes. Les amorces ont été ajustées au fil du temps pour optimiser la spécificité. (170)

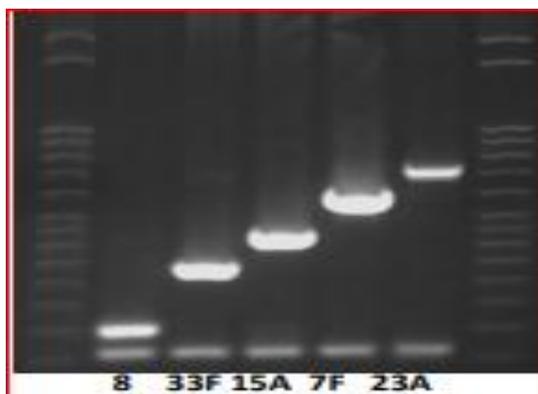


Figure 7: Reaction PCR (212)

I.6.4. Autres méthodes :

Technique d'immunoblot, ELISA et EIA, cytométrie en flux, RT-PCR, l'hybridation d'ADN, whole genome sequencing (WGS) et Multi-Locus Sequence Typing (MLST)... etc. (167)(70).

I.7.Sensibilités aux antibiotiques :

I.7.1.Résistance naturelle :

Comme tous les cocci à Gram positif, *S. pneumoniae* est naturellement résistant au méicillinam, à l'aztréonam, aux quinolones (sauf les fluoroquinolones antipneumococciques : levofloxacin et moxifloxacin) et à la colistine.(21). Et comme toutes les bactéries anaérobies, *S. pneumoniae*, présente en raison d'une chaîne respiratoire incomplète une imperméabilité naturelle aux aminosides (défaut de pénétration) se traduisant par une résistance de bas niveau vis-à-vis de l'ensemble des molécules de cette famille. Toutefois l'utilisation d'une association de β -lactamines et d'aminoside rend la pénétration des aminosides possible. Ce traitement sera efficace si la bactérie n'a pas acquis une résistance supplémentaire comme la modification de la cible (les ribosomes) ou la synthèse d'enzymes qui inactivent les aminosides.(229)

I.7.2.Résistance acquise :

Un niveau élevé de consommation d'antibiotique et l'échange de matériel génétiquement mobile résistant aux antibiotiques entre les pneumocoques et les autres streptocoques habitant le naso-pharynx sont les principaux facteurs favorisant l'acquisition de résistance chez *S. pneumoniae*. (57).

Le pneumocoque a acquis des résistances vis-à-vis de nombreux antibiotiques, à l'exception des glycopeptides, bien que de rares souches tolérantes à la vancomycine aient été décrites. La situation la plus préoccupante concerne la résistance aux bêta-lactamine et aux macrolides qui sont les traitements de référence dans les infections invasives à pneumocoques. (21) .

I.7.3.Mécanismes de résistance :

I.7.3.1.Résistance aux β -lactamines (BL) :

Les BL sont une vaste famille d'antibiotiques à action bactéricides et à spectre antibactérien plus ou moins large, ils sont la principale indication recommandée dans de nombreuses infections (215) .

Les BL bloquent la synthèse du peptidoglycane composant essentiel de la paroi bactérienne en inhibant ses enzymes, les transpeptidases et carboxypeptidase, également appelés protéines liants la pénicilline (PLP). L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes bizarroïdes (rondes ou filamenteuses) qui aboutissent à la lyse bactérienne. (166).

Les pneumocoques possèdent six PLP (PLP1a, 1b, 2a, 2b, 2x, 3). La résistance passe par des modifications du site de fixation des BL aux PLP 1a, PLP 2b, et PLP 2x. Le nombre de PLP touchée est corrélé au niveau de résistance observé :

- Résistance de bas niveau à la pénicilline G : Modification de la PLP2x et PLP2b.
- Résistance de haut niveau à la pénicilline G : Modification PLP1a et PLP2x et/ou PLP2b
- Résistance aux céphalosporines de 3eme génération (C3G) : Modification de la PLP1a et PLP2x et +/- PLP3 (34).

La résistance des pneumocoques aux BL est chromosomique suite à une mutation ponctuelle ou à des phénomènes de recombinaison homologue. Puisque le pneumocoque est naturellement transformable il peut intégrer au sein de son chromosome des fragments de génome des streptocoques de la flore oropharyngée (*S. oralis* et *S.mitis*). Ce mécanisme, s'explique par une homologie de séquence suffisante entre les gènes des PLP des différentes espèces et celles du pneumocoque, aboutissant ainsi à la naissance de PLP dites « mosaïques » (57) ..

Actuellement, des souches de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline PSDP sont de plus en plus isolées. Elles sont définies par une CMI de la pénicilline $\geq 0,12$ ug/ ml selon les normes de CLSI 2011. D'ailleurs, l'évaluation de la CMI est d'une extrême importance et conditionne le schéma thérapeutique. La méthode de référence est la mesure de la CMI par dilution en milieu liquide. (annexe)

Cette évolution de la résistance a conduit à de nouvelles recommandations de prescription, notamment en ce qui concerne les posologies d'amoxicilline et le traitement des méningites (47) .

I.7.3.2. Résistance aux Macrolides :

Les macrolides sont des antibiotiques bactériostatiques qui inhibent la synthèse des protéines en se liant à la sous-unité ribosomale 50S. (133) .

Deux mécanismes responsables de la résistance acquise aux macrolides sont rencontrés chez *S. pneumoniae*, le premier étant le plus fréquent :

- **Modification de la cible** : par méthylation ribosomale (phénotype MLSB) : une méthylase modifie l'ARN ribosomal 23S en diméthylant une adénine. Cette résistance s'exprime à haut niveau.
- **Résistance par efflux (phénotype M)** : elle consiste à rejeter l'antibiotique en dehors de la bactérie, et concerne uniquement les macrolides à noyau lactone à 14 et 15. Elle s'exprime à plus faible niveau que celle de type MLSB (133).

La résistance par méthylation ribosomale est sous la dépendance du gène *ermB* codant pour une méthylase. En revanche la résistance par efflux est sous la dépendance du gène *mefE* qui code pour une pompe d'efflux (174,133 ,1) .

I.7.3.3. Résistance aux Fluoroquinolones (FQ) :

Les FQ sont des puissants agents à activité bactéricide. Ils inhibent la réplication et la transcription bactérienne en perturbant le fonctionnement des topo-isomérases bactériennes de type II, l'ADNgyrase (*GyrA / B*) et la topo-isomérase IV (*ParC / E*) (106) .

Chez *S. pneumoniae*, deux mécanismes de résistance sont décrits :

- **Résistance par mutation chromosomique** : affectant l'un et/ou l'autre des gènes codant pour les différentes sous-unités des enzymes cibles, *gyrA* et/ou *gyrB* pour l'ADN gyrase d'une part, *parC* et/ou *parE* pour les topo-isomérase IV d'autre part, la modification d'une seule des deux cibles est responsable d'un bas niveau de résistance aux FQ alors que la mutation des deux cibles conduit à un haut niveau de résistance (119).
- **Résistance par efflux** : mis en jeu une pompe(s) qui empêche(nt) l'accumulation intrabactérienne des FQ comme la ciprofloxacine et la norfloxacine. (161).

Le premier mécanisme est lié à des mutations siègent en général dans une région appelée QRDR (quinolone resistance determining region), le deuxième est due à une surexpression du gène *patA* et *patB* codant pour le système d'efflux. (119).

La résistance aux autres antibiotiques (Annexe VI).

CHAPITRE II : POUVOIR PATHOGENE

II.1. Transmission :

S. pneumoniae est un commensal habituel du nasopharynx. La transmission d'un individu à l'autre se fait par le biais de gouttelettes de Pflügge provenant des voies aériennes supérieures (137).

II.2. Colonisation et portage :

S. pneumoniae possède la propriété de coloniser les cellules du rhinopharynx, en particulier grâce à la CbpA (228).

Cette protéine lie de façon non covalente d'une part, le phosphoryle choline des acides teichoïques de la bactérie, et d'autre part des ligands des cellules épithéliales tels que l'acide sialique (36) (Annexe V).

Le taux de portage diminue avec l'âge : jusqu'à 60% des jeunes enfants et environ 10% des personnes âgées sains en sont porteurs et ne développeront pas de symptômes liés à cette colonisation (78).

La dynamique de la colonisation du rhinopharynx par *S. pneumoniae* chez les enfants âgés de moins de 2 ans a été étudiée durant des années dans différents pays en se basant sur l'étude du sérotypage. Ainsi les sérotypes les plus communs qui ont été fréquemment isolés sont : 6A, 6B, 19A, 19F, 23F et 14 (126).

Selon une étude menée par docteur S.Oukid et ses collaborateurs, les sérotypes prédominants en Algérie sont : 19F, 6B, 14, 23F, 19A, 11A et 29 (179).

Plusieurs caractéristiques cliniques et démographiques ont été positivement associées à une augmentation de la colonisation par *S. pneumoniae*, comme la vie en collectivité de jeunes enfants notamment en crèche, l'importance de la fratrie, la saison froide ou encore l'existence d'une infection virale concomitante. (91, 154).

Aussi les conditions socio-économiques où la colonisation est plus précoce dans les populations des pays en voie de développement (vers 2 à 3 mois) alors qu'elle est plus tardive dans les pays industrialisés (91).

Le microbiote colonisateur peut être altéré par des antibiotiques. En effet, l'utilisation d'antimicrobiens récente ou actuelle réduit temporairement le risque de portage du pneumocoque chez l'enfant, mais elle augmente aussi le risque de portage des souches résistantes (181).

Des études montrent que le portage nasal des souches PSDP chez l'enfant d'âge préscolaire est à court terme lié à la prise antérieure d'une BL, par conséquent la transmission des souches PSDP se produira plus souvent dans la communauté (43, 180).

La fréquence du portage est aussi diminuée par le vaccin conjugué antipneumococcique. Des études montrent que la vaccination a un impact sur le portage nasopharyngé : diminution du portage global, diminution du portage des sérotypes vaccinaux et augmentation des sérotypes non vaccinaux (164, 32).

II.3.Physiopathologie :

Dans tous les processus infectieux et après contamination interhumaine par aérosols, *S.pneumoniae* colonise la muqueuse du nasopharynx et avec la diminution des défenses de l'hôte, elle va agir en deux étapes : l'adhésion et l'invasion (224) .

L'évolution de la colonisation vers un processus infectieux correspond à une transition depuis le système respiratoire vers le sang, provoquant des bactériémies, voire des méningites dans le cas où il y a invasion du LCR. Ce processus invasif met en jeu les différents facteurs de virulence du pneumocoque, déclenchant ainsi un processus inflammatoire qui est responsable à son tour de la création des lésions tissulaires caractéristiques.

L'infection pneumococcique suit un cours différent selon les cas, pouvant être localisée ou généralisée, ceci dépendant directement de la capacité de virulence des différentes souches, mais aussi de facteurs liés à l'hôte (107) (Annexe VI)

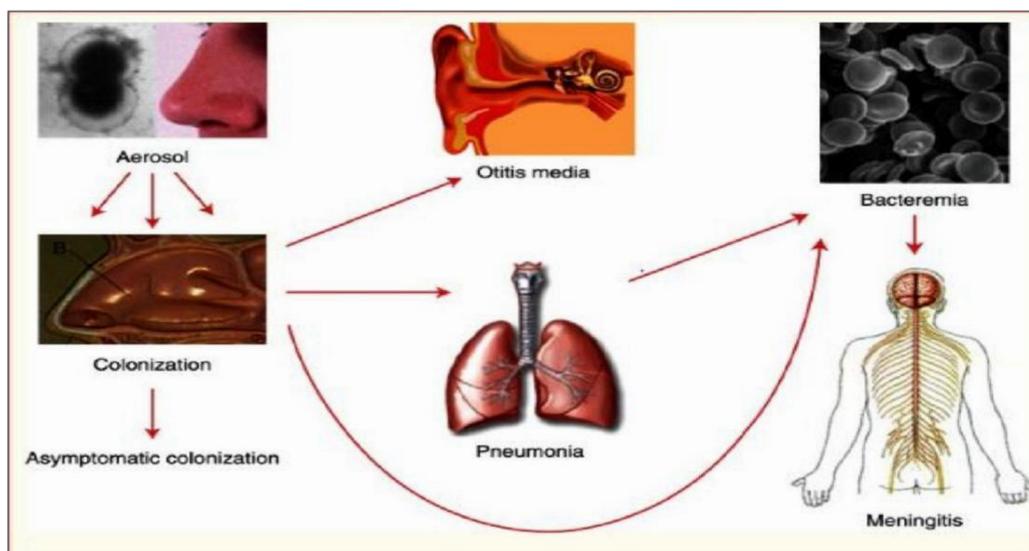


Figure 8 : Progression de l'infection pneumococcique (140).

II.4.Facteurs liés à la bactérie (facteurs de virulence) : (Annexe VII)

II.4.1.Constituants de la paroi :

II.4.1.1. La capsule :

De nature polysaccharidique, elle représente un facteur de virulence majeur, comme l'illustre le fait que pratiquement tous les isolats cliniques contiennent une capsule et que les souches pneumococciques non encapsulées sont nettement moins virulentes (67).

La capsule pneumococcique protège contre la phagocytose, l'immunité à médiation par le complément et la destruction opsonophagocytaire. De plus, la capsule réduit nettement la capture des pneumocoques par les pièges extracellulaires des neutrophiles. Elle empêche également le piégeage de *S. pneumoniae* dans le mucus des voies respiratoires (62).

II.4.1.2. Les protéines de surface Psp A et Psp C :

La PspA est nécessaire au développement d'une virulence maximale. D'une part, la PspA facilite l'invasion systémique du pneumocoque en inhibant l'immunité humorale (IgG). D'autre part, elle apporte à la bactérie la quantité de fer nécessaire à sa croissance in vivo en se fixant sur la lactoferrine.

La PspC présente une homologie structurale et fonctionnelle avec la PspA, sauf que la PspC ne se lie pas à la lactoferrine (114).

II.4.1.3. L'adhésine cbpA :

De nature protéique, elle est liée de façon covalente aux acides gras de la membrane, qui joue un rôle important dans l'adhésion des pneumocoques aux cellules pulmonaires et endothéliales (103).

II.4.1.4. Les acides téchoïques (TA) et lipotechoïques (LTA) :

Le pneumocoque a la particularité de posséder des TA et LTA de structure identique. Tous deux sont en raison de la phosphoryl-choline qu'ils contiennent les plus puissants inducteurs de l'inflammation parmi les composants du pneumocoque (12).

II.4.2. Les pili :

Ces fibres protéiques sont présentes dans 30% des souches pneumococciques et contribuent à l'adhérence du pneumocoque aux cellules épithéliales et à la virulence de la bactérie (31).

II.4.3. Les toxines :

II.4.3.1. La pneumolysine :

La pneumolysine intervient de façon importante dans la virulence : elle a un effet cytotoxique, responsable de l'envahissement tissulaire et vasculaire des pneumocoques par destruction de la cellule épithéliale et endothéliale, elle ralentit les mouvements ciliaires des cellules épithéliales bronchiques. Par ailleurs, cette toxine réduit l'activité bactéricide des polynucléaires neutrophiles (165).

II.4.3.2. L'autolysine LytA :

Elle provoque la lyse par clivage du peptidoglycane, ce qui entraîne l'hydrolyse (autolyse) de la paroi cellulaire. Sa plus grande contribution à la virulence serait de permettre la libération de la pneumolysine au cours de l'infection et d'autres toxines (159).

II.4.3.3. L'hyaluronidase :

Cette protéine de surface est produite par 99 % des pneumocoques. Elle hydrolyse l'acide hyaluronique, facilitant ainsi la migration des pneumocoques du site de colonisation au système vasculaire (24).

II.4.3.4. La serine protéase :

Elle dégrade de façon non sélective les immunoglobulines, les fibronectines, le fibrinogène et d'autres protéines de l'hôte (191) .

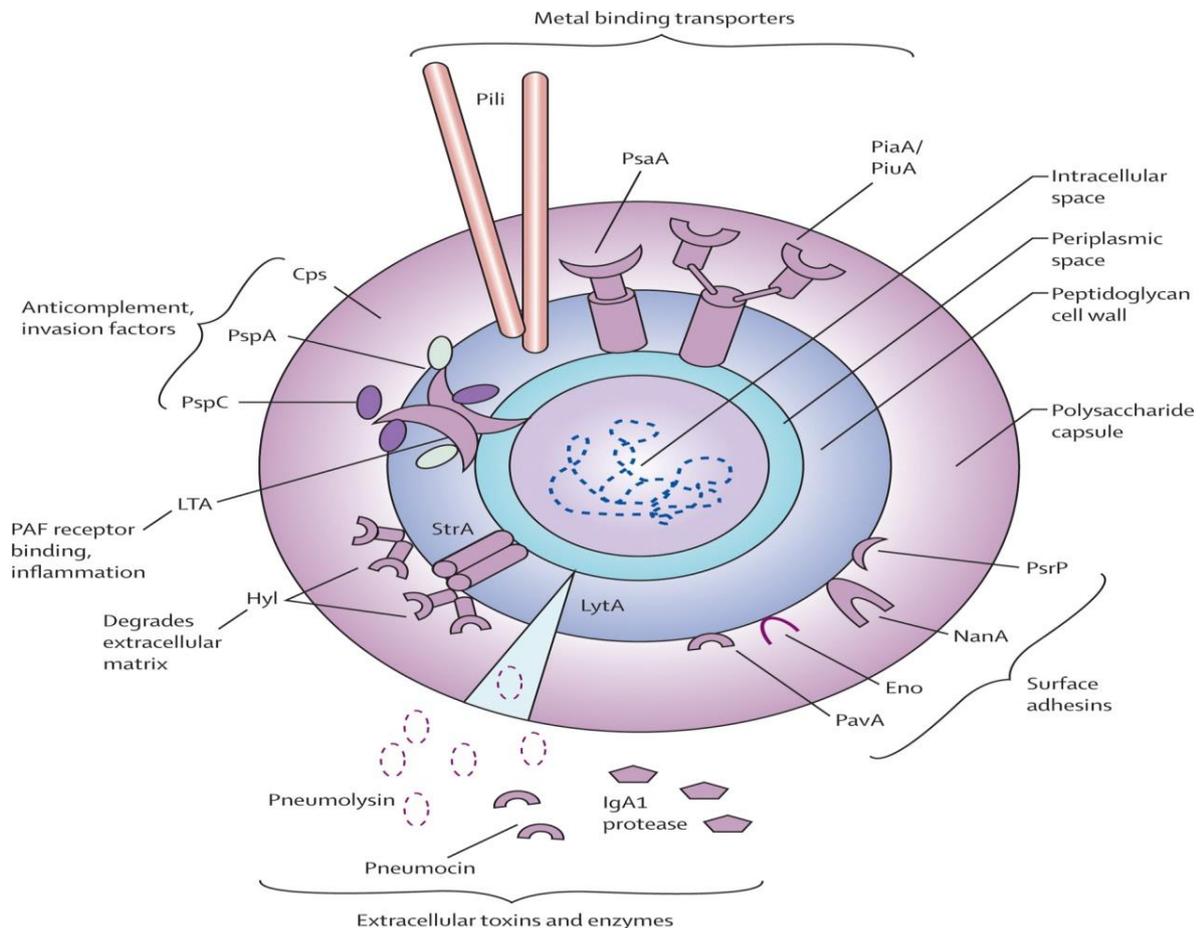


Figure 9 : Principaux facteurs de virulence (230).

II.5.Facteurs liés à l'hôte (facteurs de risque) :

Les âges extrêmes de la vie, le groupe vulnérable (jeunes enfants, dont l'âge est inférieur à 2 ans, et sujets âgés ≥ 65 ans), le diabète, la consommation d'alcool, le tabagisme, l'infection virale (due au virus respiratoire syncytial et à la grippe en particulier) et particulièrement les sujets immunodéprimés atteints de drépanocytose, d'asplénie, de VIH, de certains syndromes d'immunodéficience (déficit d'immunité humorale : complément ou immunoglobulines), sont des facteurs favorisant la survenue d'infections à pneumocoques (197,91). L'insuffisance hépatique chronique et la bronchopneumopathie chronique obstructive doublent le risque des infections invasives à pneumocoque (173).

II.6. Les infections non invasives :

II.6.1. L'otite moyenne aigue OMA :

L'OMA est la première cause de prescription d'antibiotiques en pédiatrie.

Particulièrement répandue chez les enfants entre 6 mois et 3 ans (pic d'incidence à 9 mois)(48).

L'OMA consiste à une accumulation de liquide dans l'oreille moyenne accompagnée d'une inflammation aiguë, suite d'une infection virale des voies respiratoires supérieures, la trompe d'Eustache (ou trompe auditive) est alors obstruée ce qui permet aux bactéries de se développer dans le fluide de l'oreille moyenne, déclenchant une inflammation purulente.

Les points clés du diagnostic d'OMA repose sur la clinique : otalgie et ses équivalents (irritabilité, pleurs, Insomnie...), hypoacousie, fièvre, asthénie et anorexie, et sur l'otoscopie qui est fondamental (94, 110).

Le pneumocoque représente 30 à 50% de tous les cas d'OMA. Dans les différentes parties du monde l'incidence s'élève à environ 300 millions de cas par an (23, 25). Elle est principalement associée aux souches des sérotypes 3, 6A, 6B, 9V, 14, 19A, 19F et 23F (84).

L'OMA à pneumocoque peut se compliquer parfois d'infections sévères (mastoïdites, bactériémies, méningites, etc.) ou laisser des séquelles auditives (94) ..



Figure 10 : OMA aigue en otoscopie, collection déclinée bien visible et bombement du tympan (94)

II.6.2. Sinusite aigue :

La sinusite est une inflammation des sinus aériens de la face. Elle est considérée comme une complication bactérienne d'une rhinopharyngite virale. Les signes cliniques rencontrés sont: douleur intra orbitaire unilatérale majorée par l'antéflexion et irradiant aux arcades dentaires, obstruction nasale, mouchage purulent avec ou sans fièvre (71) .

S. pneumoniae est isolé dans 30 % des cas des sinusites aigue. Les sérotypes les plus incriminés sont le 19A et 15C (175, 120)

La forme compliquée de l'enfant de moins de six ans est l'ethmoïdite qui requiert le plus souvent un traitement en milieu hospitalier. Les autres formes compliquées de l'enfant : sinusites bloquées, atteintes neurologiques et ophtalmologiques (127).

II.7. Les infections invasives :

II.7.1. La pneumonie :

Les pneumonies aiguës communautaires PAC sont des infections du poumon non liées à une hospitalisation ou à des soins. Cette pathologie non rare (600 000 pneumonies/an en France) est le plus souvent traitée de façon empirique, car la documentation microbiologique est difficile à obtenir (55).

Une fièvre d'apparition brutale, élevée, associée à une altération de l'état général, douleur thoracique en coup de poignard, des expectorations purulentes ou rouille, évoquent la pneumonie franche lobaire aiguë à pneumocoque, et cela à tout âge (26, 48, 155).

Les bronchites et les broncho-pneumopathies sont observées surtout chez les patients souffrant d'une insuffisance respiratoires chroniques et au décours de viroses (grippe) (64).

S. pneumoniae est la première étiologie des PAC, et représente 30 à 60 % des cas documentés. Elle est associée aux PAC graves avec décès précoce ; une mortalité de 10 % en cas de pneumonie bactériémique à pneumocoque, et de 20 % en cas d'admission en réanimation (155, 48).

Le sérotype 1 est l'agent étiologique le plus répandu de la PAC, suivi des sérotypes 5, 19A, 3, 7F, 7A, 12, et 33. (76, 86).



Figure 11 : Image radiologique typique de pneumonie à pneumocoque (208).

• La pleurésie :

Le terme pleurésie infectieuse (PI) correspond à l'apparition entre les deux feuillets pleuraux d'un liquide soit macroscopiquement purulent, appelé empyème, soit macroscopiquement non purulent mais présentant des caractéristiques bactériologiques ou biochimiques témoignant d'une invasion microbienne.

Les PI d'origine pulmonaire représentent 55 à 73 % des étiologies, dans la grande majorité des cas, elles font suite à l'invasion par des agents pathogènes dans l'espace pleural à partir d'un foyer parenchymateux contigu et sont alors appelées épanchements pleuraux parapneumoniques (89).

Parmi les patients atteints de pneumonie, près de la moitié peuvent développer des épanchements pleuraux, parmi ceux-ci, 5 à 10% peuvent progresser vers l'empyème.

La pleurésie à *S. pneumoniae* est la cause la plus fréquente de pneumonie compliquée chez les enfants et chez les adultes (124).

Les sérotypes 3 et 19A sont les étiologies les plus courantes dans les pleurésies purulentes survenant après une complication d'une infection pneumococcique, suivis des sérotypes 7F et 1 (102).

II.7.2.La bactériémie :

La bactériémie pneumococcique a été appelée « fièvre pneumococcique » au cours des années 1970 et 1980. En effet, *S pneumoniae* a été retrouvée dans environ 5% des hémocultures de jeunes enfants fébriles présentant de légères altérations des voies respiratoires supérieures (153).

S pneumoniae est la cause la plus probable de la bactériémie occulte quand il n'y a aucune preuve de toxicité, une telle bactériémie est généralement un événement bénin, transitoire et autolimité. Cependant, les enfants affectés pourraient également présenter des maladies aiguës sévères : septicémie, purpura, coagulopathie disséminée et défaillance multiorganique, en particulier dans le cadre d'asplénie ou de drépanocytose (176,151).

Chez les adultes, la majorité des cas de bactériémie à pneumocoque sont associés à la pneumonie, alors que chez les enfants le site primaire de l'infection est souvent inconnu. Elle est produite fréquemment chez les personnes ayant des facteurs prédisposants (22, 65).

La bactériémie pneumococcique est devenue rare chez les enfants immunisés avec PCV mais peut encore être vu dans les non immunisés ou lorsque l'infection est causée par des sérotypes non vaccinaux. Les sérotypes les plus fréquents sont : 1, 3, 7F, 14, 19A et 23F (105).

II.7.3.La méningite :

La méningite à pneumocoque est une maladie infectieuse grave du système nerveux central SNC et une cause importante de morbidité et de mortalité dans le monde entier. En dépit des traitements antibactériens efficaces, environ un tiers des survivants souffrent de séquelles à long terme, telles que la perte auditive, paralysie cérébrale, convulsions, hydrocéphalie ou déficience cognitive (14).

Le pneumocoque diffuse le plus souvent par contiguïté à partir d'un foyer ORL ou d'un portage oropharyngé chez les sujets porteurs d'une brèche ostéoméningée, parfois il diffuse par voie hématogène à partir d'un foyer plus profond (poumon) (48). Des antécédents de traumatisme crânien ; de chirurgie de la base du crâne, une rhinorrhée ou une infection des voies aériennes (otite, sinusite, pneumopathie) sont des arguments en faveur de méningites à pneumocoque (92).

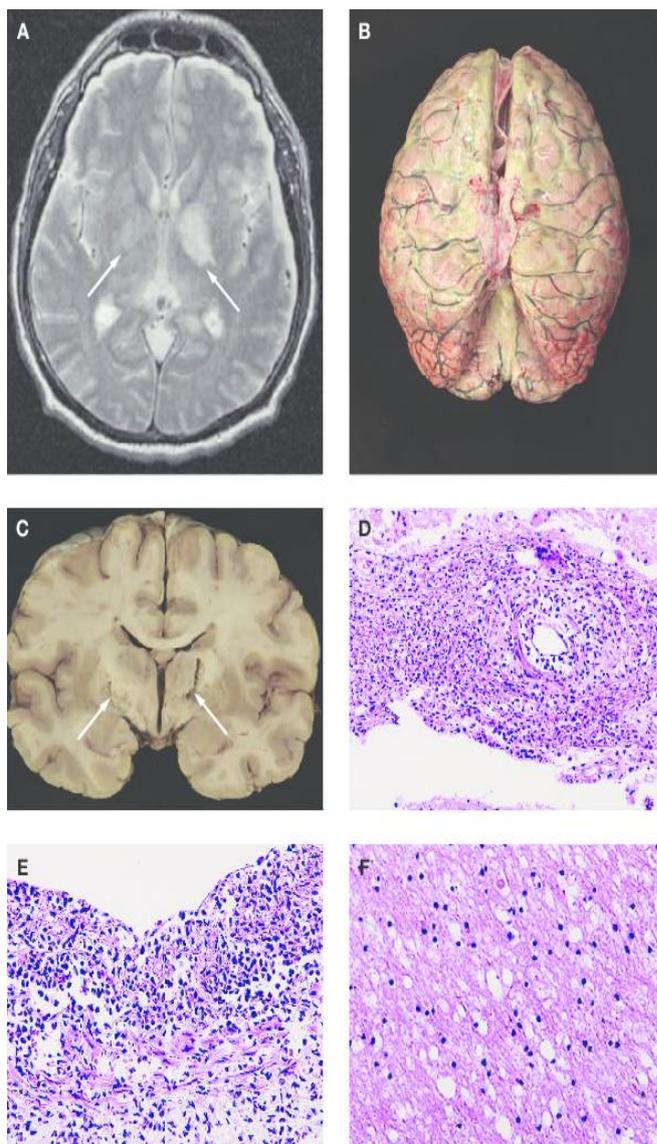


Figure12 : Complications multiples chez un patient atteint de méningite à pneumocoques. (A) IRM du cerveau indique un œdème bilatéral. (B) Une vue post-mortem montre des méninges de couleur jaunâtre (C) Confirmation de l'infarctus bilatéral des ganglions de la base (D) une infiltration lymphocytaire dans et autour de la paroi vasculaire, (E) une inflammation corticale nécrosante subapicale étendue, (F) un œdème dans la substance blanche (222).

Les manifestations classiques comprennent la fièvre, la rigidité de la nuque, maux de tête, ou état mental altéré. Les nourrissons peuvent présenter de l'irritabilité, une fontanelle bombée, et des crises d'épilepsie. Les vomissements et les signes neurologiques focaux sont plus importants chez les enfants plus âgés. L'infection peut provoquer une progression rapide vers le coma et la mort dans les 24 heures suivant le début de la maladie (151).

Une cytotoxicité induite par la réponse immunitaire de l'hôte est le facteur clé causant la mort aiguë ou à long terme des séquelles neurologiques de la méningite à pneumocoque: détresse psychologique et des déficiences cognitive.(195).

En outre les méningites à pneumocoque sont très pourvoyeuses de surdité, un facteur pronostique serait le type d'antibiotique administré en association avec une céphalosporine ; un traitement par vancomycine serait plus fréquemment associé à une surdité, contrairement à l'utilisation de la rifampicine, ayant une excellente pénétration dans l'oreille interne. (en plus de la dexaméthasone). En pratique, le dépistage précoce de la surdité s'impose, avec suivi rapproché (réévaluation radiologique et audiolologique) dans les semaines qui suivent la méningite pour ne pas laisser passer le délai optimal de pose d'implant cochléaire pour les surdités de perception.(230)

Depuis l'introduction du vaccin contre l'*Haemophilus influenzae* de type b en 1988, l'incidence de la méningite à *H. influenzae* de type b a diminué d'au moins 97% et *S.pneumoniae* est apparu comme l'agent étiologique le plus courant dans les méningites bactériennes (113.195) .

Les sérotypes les plus fréquemment isolés au cours des méningites sont : 19A, 6A, 7F, et 14 chez l'enfant et chez l'adulte (15).

II.8.Autres infections :

II.8.1.Endocardite infectieuse (EI) :

L'EI est une infection des valves cardiaques ou de l'endocarde qui affecte 10 000 à 20000 personnes chaque année aux États-Unis.

S. pneumoniae est un agent pathogène dans l'EI, représentant 1-3% des cas d'adultes et 3-5% des cas chez les enfants (104).

Les symptômes cliniques de l'EI aiguë résultent de complications suppuratives emboliques ou intracardiaques, les folioles valvulaires sont rapidement détruites par des bactéries qui se multiplient rapidement dans les végétations friables qui ne cessent de croître.

Les complications se développent en une semaine, ceux-ci comprennent l'insuffisance cardiaque congestive sévère et un large spectre de complications neuropsychiatriques résultant de l'atteinte du SNC (116)

Les sérotypes associés aux cas d'EI à pneumocoque cités dans la littérature sont 12F, 18C ,23F ,22F, 7Fet 14 (104,116).

II.8.2.Infections ostéo –articulaire (IOA) :

S. pneumoniae n'est responsable que de 3 à 10% des IOA de l'adulte, chez l'enfant de moins de 2 ans la fréquence s'élève à 12% (111).

La contamination se fait principalement par voie hématogène, justifiant la recherche d'un foyer infectieux primitif (pneumopathie, sinusite, endocardite).

Ces infections sont fréquemment bactériémiques avec des hémocultures positives dans plus de 70 % des cas **(30)**.

Les IOA surviennent sur un terrain d'immunodépression ou de pathologie articulaire préexistante et peuvent mettre en jeu le pronostic fonctionnel et vital ; toutefois, les IOA à pneumocoque ont la particularité de survenir dans moins de 20 % des cas chez des adultes sains. **(132)**

Les sérotypes capsulaires 22F et 12F sont les plus fréquents chez les patients atteints d'IOA **(81,30)**

II.8.3.Syndrome hémolytique et urémique SHU :

Le SHU est une cause fréquente d'insuffisance rénale aiguë organique chez l'enfant. C'est une complication évolutive des gastroentérites aiguës en générale à *Escherichia coli*, cependant *S.pneumoniae* peut être un agent causal dans 5 % des cas **(5)**.

Le SHU complique moins de 0,6% des infections invasives à pneumocoque, essentiellement chez l'enfant de moins de 2 ans, les complications rénales sont plus fréquentes et la mortalité est plus élevée (12%) que dans le SHU typique.

Les sérotypes 14, 6B, 9V, 19, 3, 8, 23F et 19A ont été décrits en association avec le SHU à pneumocoque, mais seuls les sérotypes 6B, 14 et 23F sont couverts par Le PCV **(168, 18)**.

II.8.4.Infections nosocomiales :

Les caractères épidémiologiques et cliniques des infections pneumococciques communautaires ont été définies par plusieurs études, cependant le rôle du pneumocoque en tant que pathogène nosocomial a reçu peu d'attention.

Les infections nosocomiales surviennent principalement chez les sujets âgés. La souche infectieuse du pneumocoque peut provenir de la flore du tractus respiratoire supérieur du patient, et peut avoir été acquise avant ou après l'hospitalisation, d'un porteur asymptomatique transitoire ou d'un sujet atteint de maladie pneumococcique **(96)**

Des grappes sporadiques et des épidémies nosocomiales d'infections pneumococciques (Pneumonie et bactériémie) peuvent également survenir dans l'hôpital en particulier dans le service de soin respiratoire.

Ces épidémies mettent en évidence le potentiel de transmission rapide et la courte période d'incubation de *S.pneumoniae*. **(96)**.

CHPITRE III : DONNÉES EPIDEMIOLOGIQUES

III.1.Épidémiologie des infections à *S.pneumoniae*:

➤ Épidémiologie des infections à *S.pneumoniae* dans le monde :

Les maladies pneumococciques sont une cause fréquente de morbidité et de mortalité du monde, bien que les taux de morbidité et de mortalité soient plus élevés dans les pays en voie de développement que dans les pays industrialisés, la majorité des décès surviennent en Afrique subsaharienne et en Asie. La maladie est plus fréquente aux extrêmes de l'âge.

En mars 2012, l'Organisation mondiale de la santé estimait que 5% de toutes les causes de mortalité infantile de moins de cinq ans étaient dues à des infections pneumococciques (225).

Des études récentes sur l'impact du vaccin PCV13 font état d'une incidence plus faible de pneumococcie par sérotypes vaccinaux et de l'augmentation relative de la maladie pneumococcique par les sérotypes non vaccinaux, en particulier 23B et 15A (27).

• La méningite :

Aux Etats-Unis, la bactérie pathogène la plus commune dans les cas de méningite signalé de 1997 à 2010 était *S. pneumoniae*, avec un taux d'incidence de 0,30 pour 100000 cas. Une diminution de taux de mortalité par la méningite à pneumocoque a été observée après l'introduction du vaccin et l'utilisation des corticostéroïdes (172) .

En Chine, *S.pneumoniae* était la principale étiologie des méningites bactériennes chez les enfants âgés de 29 jours à 1an entre 2010 et 2014 avec un taux de 73,33%.

Les sérotypes 19F et 19A ont été jugés les sérotypes les plus communs associés aux méningites sévères (121).

En France ; grâce aux données epibac de l'institut de veille sanitaire, l'évolution de méningite bactérienne est bien estimée ; l'incidence de pneumocoque dans les méningites est de 51% et de 29% pour le méningocoque.

Cette répartition varie en fonction de l'âge ,90% des méningites est due aux méningocoques chez les jeunes adultes (16-24 ans), alors qu'après l'âge de 25 ans c'est le pneumocoque qui est prédominant, avec un cas sur deux entre 25 et 40 ans et plus de 75% des cas après 40 ans (46).

Selon l'OMS, Les flambées des méningites à pneumocoques signalées jusqu'à 2016 semblent se limiter à l'Afrique subsaharienne.

Entre 2004 et 2013, *S.pneumoniae* a été identifié dans 27% des cas confirmés. La méningite à pneumocoque a un taux de létalité élevé de 36% à 66%.

Depuis 2000, plusieurs pays de cette région, dont le Burkina Faso, le Ghana et le Tchad, ont connu des flambées de méningite à pneumocoque .(206) .

Au Maroc, En 2010 la fréquence de pneumocoque dans les méningites chez les enfants vaccinés était de 47.30% (207) .

Une étude plus récente portant sur l'étude des causes des maladies bactériennes invasives chez les enfants ; rapporte que sur 238 enfants de moins de 5 ans ,59 avaient une méningite à *S. pneumoniae* (50).

En Tunisie ; dans une étude faite entre octobre 2016 et juin 2017, la culture des 515 échantillons de LCR a montré 13 isolats de *S. pneumoniae*. L'utilisation de SM-PCR sérogroupage pour ces souches a révélé 3 sérotypes différents : 19A, 19F et le 23F (132) .

- **La pneumonie :**

S.pneumoniae est la principale cause de pneumonie bactérienne chez les enfants de moins de cinq ans et une telle pneumonie a causé environ 411 000 décès en 2010 et 335 000 décès en 2015 (4).

S.pneumoniae cause chaque année plus de 400 000 hospitalisations et plus de 16 000 décès par pneumonie chez les adultes aux États-Unis (40) .

En Amérique latine, *S.pneumoniae*est le plus fréquent micro-organisme responsable de la PAC, avec une incidence qui varie entre 24 et 78% (79) .

En Inde, l'un des principaux contributeurs à la charge de la pneumonie est *S. pneumoniae*. En 2010 ; 0,56 million d'épisodes de pneumonie à pneumocoques graves a été enregistré, et on a estimé que la proportion de pneumonies pneumococciques sévères était de 15,8%. L'États indiens avait le plus grand nombre de décès par pneumonie à pneumocoque chez les enfants de moins de 5 ans en 2010 avec un taux de mortalité de 29,5% (74) .

En Europe, *S.pneumoniae*est l'agent causal le plus fréquent de la pneumonie représentant 35 à 39% de tous les cas (68) .

Un extrait des données de « PUBLIC HEALTH ENGLAND » pour la période 2004-2015 a rapporté que *S.pneumoniae*est la bactérie la plus incriminée dans les pneumonies avec 58%. Après l'homologation du vaccin anti pneumococcique, le taux pneumonies à pneumocoques a diminué pour tous les âges, avec des réductions importantes dans le groupe de 65 ans et plus et chez les enfants de moins de 15 ans (148).

En Afrique, la pneumonie à pneumocoque cause environ 43% des décès chez les enfants dans le monde de moins de 5 ans. Le Nigéria est le pays le plus lourdement touché (4, 72) .

- **L'OMA :**

Au Japon, Une étude prospective, par des otorhinolaryngologistes menées entre 2016-2017, rapporte que l'agent pathogène le plus fréquent associé aux OMA chez les enfants de moins de 15 ans était *Heamophilus influenzae* (54,8%) suivi de *S.pneumoniae*(25,4%). La fréquence d'isolement de *S.pneumoniae* a diminué significativement de 39,3% en 2006 à 25,4 % en 2016.

Les sérotypes vaccinaux actuels ont considérablement diminué. Les sérotypes les plus courants étaient 15A (14,8%), 3 (13,9%) et 35B (11,1%) (148).

L'OMA chez les enfants chiliens est principalement causée par *S.pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* non typable qui représentent respectivement 41.7% et 40.3% des cas. Les sérotypes 19F, 14 et 3 constituent près de la moitié des sérotypes pneumococciques isolés (7).

Selon les données du CNRP en France, les OMA à pneumocoque sont observées chez les jeunes enfants, particulièrement avant l'âge de 2 ans.

Les otites ont significativement baissé après l'introduction du PCV-13 en 2010 (37,3% en 2011 vs 7,3% en 2015).

Globalement, 43% des souches isolées d'otites en 2015 étaient théoriquement couvertes par le vaccin 13-valent (58).

- **Bactériémie :**

Les chercheurs ont observé une réduction de 95,3% de la bactériémie à *S.pneumoniae* après la mise en œuvre de la vaccination, de 74,5 à 10 à 3,5 pour 100 000 enfants par an après la période post-PCV13.

Escherichia coli, *Salmonella sp.*, et *Staphylococcus aureus* ont provoqué 77% de bactériémie à mesure que les taux de pneumocoques diminuaient (55).

Aux Etats-Unis, la bactériémie pneumococcique occulte est plus fréquente chez les enfants âgés de 3 à 36 mois. Chez l'enfant complètement vacciné, l'incidence est maintenant estimée beaucoup plus faible, environ 0,5% (96).

En France, la vaccination des enfants de moins de 2 ans par le vaccin a un impact significatif sur l'incidence des bactériémies à pneumocoques. En effet, il a été observé chez l'enfant de moins de 2 ans la disparition des bactériémies dues à des pneumocoques de sérotypes vaccinaux, à l'exception du sérotype 19F, et leur nette baisse dans le reste de la population. Chez les adultes de plus de 64 ans, les sérotypes vaccinaux 19A et 3 restent majoritaires mais ont significativement diminué. Parallèlement, il existe une diversité importante des sérotypes non couverts par le PCV13 en progression (58).

Les données sur la prévalence et les causes des bactériémies en Afrique sont rares. Une recherche systématique des études qui utilisaient l'hémoculture pour identifier ces infections chez les adultes et les enfants a été menée par A. Reddy et al : 18,3% sont dus à *S.pneumoniae*, l'isolat le plus fréquent chez les enfants (54).

➤ **Épidémiologie des infections à *S.pneumoniae* en Algérie :**

Entre 2010 et 2014, parmi 207 épisodes d'IIP enregistrés au CHU Mustapha bacha, 60% des cas ont présenté des méningites.

Les sérotypes les plus fréquemment associés aux IIP, étaient de fréquence décroissante 14, 19A, 19F. Des décès dus à une infection à *S.pneumoniae* ont été observés dans 7 cas d'IIP (75).

Une autre étude au CHU Benbadiss Constantine entre 2005 et 2011 rapporte un taux élevé d'IIP chez l'enfant dont l'âge est égal ou inférieur à 5 ans avec une prédominance masculine. Le taux des méningites est le plus élevé représentant 75/100 cas, suivi de 13 cas de pneumopathie et 12 cas de bactériémie (3) .

Selon le 17ème rapport (2016) du réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (AARN) ; 93 souche de pneumocoque isolées à partir du LCR ont été identifiées dans différents laboratoires en Algérie .

Le pourcentage du pneumocoque dans les prélèvements des voies respiratoires basses chez les patients externes et hospitalisés en 2016 est de 5,87%.

La fréquence du pneumocoque isolé dans les prélèvements de la sphère ORL responsable des otites est de 4,22% (193).

III.2. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques :

L'émergence de *S.pneumoniae* résistant aux ATB, en particulier aux pénicillines aux macrolides ; est un problème mondial qui a rendu le traitement de la maladie plus difficile. La fréquence d'isolement de ces souches dépend de la région du pays où elles sont isolées (219).

❖ Dans le monde :

Le pneumocoque est responsable de 30 000 à 60 000 cas de maladies invasives par an, 30 à 40% de ces infections sont causées par des pneumocoques résistants à un ou plusieurs antibiotiques (219) .

En 2015 aux États-Unis, les données du système (ABC), rapportent des taux élevés de sensibilité aux antibiotiques des souches de *S.pneumoniae* isolées chez des patients atteints d'IIP. Ces taux sont de l'ordre de 95.6 % à la pénicilline, de 97,5% au céfotaxime, 99,6% à la lévofloxacine et de 100% à la vancomycine .30% des pneumocoques résistent à l'érythromycine (29) .

Au Brésil, une étude d'évaluation du profil de sensibilité de différents sérotypes de *S.pneumoniae* isolés en São Paulo sur une période de 16 ans (1998-2013) rapporte que les lignées de *S.pneumoniae* présentent une sensibilité supérieure à 90% au chloramphénicol, à l'érythromycine et à la ceftriaxone pendant toute la période étudiée, avec une sensibilité totale à la vancomycine. La non sensibilité à la pénicilline est détecté dans 14,8% des souches. Le plus haut niveau de résistance est détecté pour le SXT (88).

L'étude multicentrique du Réseau asiatique pour la surveillance des pathogènes résistants (ANSORP) en Asie a mis en évidence une augmentation spécifique de la résistance

à la pénicilline et d'autres résistances aux antimicrobiens chez *S.pneumoniae* dans les populations asiatiques par rapport au monde occidental (201) .

Au Japon, une étude de 2012 à 2014 rapporte un taux de résistance chez *S.pneumoniae* de 46,1% à la pénicilline, 20,2% au céfotaxime, 20,5% au méropénème, 94,3% à l'érythromycine et 02% à la lévofloxacine. Elle a montré aussi qu'après l'homologation du vaccin PCV13 en 2013 ; les taux de résistance à la pénicilline et au céfotaxime ont diminué significativement durant la période d'étude principalement avec les sérotypes 15A ,19A et 24F, alors que la résistance au méropénème a augmenté, en particulier pour le sérotype 15A. (83) .

À Moscou, les tests de sensibilité aux antibiotiques effectués sur des isolats pneumococciques collectés prospectivement de 2009 à 2013 auprès des enfants ; montre une prévalence des souches résistantes supérieure à 20% pour tous les antimicrobiens testés, le taux de résistance le plus élevé (57%) est observé pour le cotrimoxazole. Environ 30% des souches pneumococciques sont résistantes à l'oxacilline (143). Le taux de souches PSDP est estimé à 28% et ils sont observés principalement dans les isolats de sérotype 14, 19A, 19F et 23F (150)

En Inde, la surveillance nationale de la résistance des souches de *S.pneumoniae* responsable d'infections invasives note un faible taux de résistance à la pénicilline 8% alors que des taux élevés de 66% et 37% sont décrit pour le cotrimoxazole et l'érythromycine respectivement (6) .

En Australie malgré l'introduction du PCV13 en 2011 les taux de résistance demeurent élevés particulièrement pour le sérotype 23F et les isolats nouvellement apparus de sérotype 7B (42) .

❖ En Europe

Des données sur la surveillance des pneumocoques provenant de plusieurs pays d'Europe centrale et orientale et du Kazakhstan ont été présentées lors du 7e sommet sur la surveillance des pneumonies qui s'est tenu à Istanbul en septembre 2014 (134).

En Croatie, la proportion d'isolats invasifs non sensibles à la pénicilline était de 17% en 2005 et de 23% en 2012, les sérotypes 14 et 19A représentent le plus grand nombre d'isolats non sensibles. Tous les isolats hautement résistants semblent avoir été prévenus par l'introduction du PCV13 (134).

En Turquie, la résistance à la pénicilline a été observée dans 23% des isolats et la résistance à l'érythromycine dans 25% des cas. Les sérotypes 19A et 19F ont les taux de résistance les plus élevés (134).

En Bulgarie, les taux de *S.pneumoniae* résistants aux antibiotiques sont restés élevés après l'avènement du PCV10 en 2010. Les sérotypes les plus résistants étaient 19F, 19A, 6A, 15A et 23A (117).

En France, l'étude de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques du CNRP a montré une baisse des souches PSDP (34,2 % en 2009 vs 25,7 % en 2013), ainsi qu'une baisse de la résistance à l'amoxicilline (17,9 % en 2009 vs 11,6 % en 2013) et au céfotaxime (9,7 % en 2009 vs 6,0 % en 2013), la prévalence des souches appartenant aux sérotypes vaccinaux était de 64,2% en 2009 et de 35,6 % en 2013 (58) .

En 2015, le taux de résistance aux macrolides des souches s'établit à 24,3% parmi les souches PSDP, 78,5% étaient résistantes aux macrolides. La fréquence de la résistance à l'érythromycine, à la tétracycline, au cotrimoxazole, à la kanamycine et au chloramphénicol suit une diminution depuis 2001. Les sérotypes 19A ,11A et 15A sont les plus associés à la résistance aux BL **(58)**.

❖ En Afrique

Dans une étude transversale dans le nord-ouest du Nigeria ; la détermination de profil de résistance des souches de *S.pneumoniae* trouvé une prévalence élevée de résistance au cotrimoxazole de 96,2%, l'amoxicilline et l'amoxicilline / acide clavulanique ont montré une activité relativement bonne avec 78,8% d'isolats sensibles. Une excellente activité a été observée avec la ceftriaxone.

La prévalence élevée de pneumocoque résistant à la pénicilline au Nigeria n'est pas surprenante (55,3% et 28,0% étaient résistants de façon intermédiaire et complète respectivement) car la pénicilline est l'antibiotique le plus largement utilisé **(69)** .

❖ Le Grand Maghreb :

L'Analyse de la distribution du sérotype des isolats cliniques de *S.pneumoniae* collectés dans le sud de la Tunisie sur une période de 5 ans (2012-2016) a permis d'évaluer leurs profils de sensibilité aux antimicrobiens, ainsi 75,3% des isolats étaient non sensibles à la pénicilline , 71,4% étaient résistants à l'érythromycine et seulement deux isolats étaient résistants à la lévofloxacine.

19F, 19A, 23F et 14 étaient les sérotypes les plus associés à la résistance aux BL la prévalence de ces sérotypes pourrait être le résultat de l'absence du PCV du programme national de vaccination en Tunisie **(190)**.

Au Maroc, L'étude de Diawara et al portant sur l'impact de la vaccination sur la sensibilité aux antibiotiques du pneumocoque, a montré que les PCV ont contribué à la diminution des taux de résistance aux antibiotiques, en particulier à la pénicilline de 50.6 % à 21.9 % et au cotrimoxazole de 39.2% à 6.3 % chez les enfants âgés de moins de 2ans.

De plus, les sérotypes à fort taux de résistance avant la vaccination (14, 6B, 19A ,19F 23F et 5) ont été rarement isolés après vaccination **(221)** .

❖ En Algérie :

En Algérie, peu de données sont disponibles concernant la distribution des sérotypes pneumococciques et la résistance aux antibiotiques, qui est un problème de santé publique. Toutes les études menées dans notre pays ont été faites avant l'introduction de la vaccination.

Dans ce contexte, Ramdani-Bouguessa par ses deux études **(145,141)** montre l'évolution d'émergence des souches PSDP dans l'infection pneumococque chez l'enfant, le taux est passé de 34,6% entre 1996-2001 à 48% entre 2005-2012.

De même une élévation des taux de résistance aux autres ATB a été observée au cours de la même période : de 21.7% à 53.0% pour l'érythromycine ; de 25.7 à 43.7 % pour le cotrimoxazole et de 26.4% à 42.0% pour la tétracycline. Aucune résistance à la vancomycine est n'a été observée.

L'augmentation des résistances du pneumocoque en Algérie a été associée à un regroupement des souches résistantes en un nombre restreint de sérotypes. Trois sérotypes étaient plus fréquents parmi les souches PSDP : 14, 23F ,6B **(194,3)** .

Les données d'AARN de l'année 2016 ont signalé un taux élevé de résistance à la pénicilline des souches de pneumocoque avec 78.4%, 14 isolats de PSDP sur 28 souches ont été isolés à partir des prélèvements des voies respiratoires basses **(193)**.

Des résultats plus récents de l'étude de H.Ziane montre toujours des taux élevés de la résistance de *S.pneumoniae* à l'ensemble des antibiotiques et en particulier à la pénicilline. Les taux les plus élevés de la résistance à la pénicilline sont constamment observés dans les sérotypes vaccinaux 14, 19A, 19F et 23F. (CMI Peni G > 2µg / ml) **(75)**.

Les données d'AARN de l'année 2016 ont signalé un taux élevé de résistance à la pénicilline et l'érythromycine des souches de pneumocoque avec 78,4%, 47,3%, 14 isolats de PSDP sur 28 souches ont été isolés à partir des LCR. **(193)**.

CHAPITRE IV : Traitement et Prévention

IV.1. Traitement des infections à pneumocoque :

IV.1.1. Otite Moyenne Aigue :

L'antibiothérapie des OMA diminue la morbidité et la mortalité chez les enfants de moins de 2 ans. Chez les enfants de plus de 2 ans et chez l'adulte, la majorité des OMA guérissent spontanément.

Le traitement antibiotique fait appel en première intention à l'amoxicilline, qui est la molécule la plus active sur le pneumocoque et l'*Haemophilus*. En cas d'échec, l'association amoxicilline-clavulanate est proposée (224).

IV.1.2. Sinusite aigue :

Un antibiotique efficace contre l'infection des sinus par le pneumocoque doit impérativement être doué d'une activité bactéricide. Bien que l'amoxicilline soit un premier antibiotique acceptable pour une infection sinusale aiguë non compliquée, de nombreux médecins choisissent l'association amoxicilline-clavulanate comme médicament de première intention.

Chez le sujet allergique à la pénicilline, autres antibiotiques sont utilisés comme alternatifs : le céfaclor, le loracarbef (Céphalosporine de deuxième génération), la clarithromycine, l'azithromycine et le sulfaméthoxazole.

Généralement, un antibiotique efficace doit être continué pendant un minimum de 10 à 14 jours. Cependant, il n'est pas rare de devoir traiter l'infection des sinus pendant 14 à 21 jours (175).

IV.1.3. Pneumonie :

Selon la gravité de la pneumonie, les antibiotiques sont administrés à la maison ou à l'hôpital. Toute antibiothérapie pour une PAC implique une réévaluation à 48-72h (48).

Historiquement, le traitement de la pneumonie pneumococcique était la pénicilline. Un nombre croissant de cas de pneumonie pneumococcique sont devenus partiellement ou totalement résistants à la pénicilline, ce qui a rendu le traitement par cette molécule inefficace

D'autres antibiotiques efficaces comprennent l'amoxicilline et l'érythromycine. Si ces derniers ne sont pas efficaces, la vancomycine ou la céphalosporine de 3ème génération peuvent également être utilisées (68).

VI.1.4. Bactériémie :

Une recommandation de la combinaison d'un macrolide et une β L est l'une des options préférées pour la thérapie empirique d'une bactériémie.

La posologie doit être adaptée à la gravité clinique, aux organes atteints en particulier aux défaillances rénales et/ou hépatiques.

Une désescalade thérapeutique utilisant un antibiotique à spectre plus étroit (adapté à l'antibiogramme) est possible et recommandée en cas de stabilisation clinique du patient (65).

IV.1.5.Méningite :

Devant des signes cliniques de méningite, le traitement probabiliste doit être administré immédiatement après la ponction lombaire (80).

Le traitement de 1ère intention, que l'examen direct soit positif ou non, repose sur des C3G : la céfotaxime à 300 mg/kg/j en IV ou la ceftriaxone à 100 mg/kg/jour en IV (202) .

Après documentation microbiologique, la céphalosporine de 3ème génération utilisée est maintenue avec adaptation de la posologie ou bien remplacée par l'amoxicilline à la dose de 200 mg/kg/jour en IV. La durée du traitement est classiquement de 10 à 14 jours en fonction de l'évolution de l'état du patient (73) .

IV.2.Le vaccin :

Le fardeau de la maladie associée à *S.pneumoniae* peut être considérable, mais elle peut en grande partie être évitée grâce à la vaccination de routine.

La vaccination est un moyen de prophylaxie simple et efficace contre un grand nombre de sérotypes infectieux du pneumocoque. Deux types de vaccins sont aujourd'hui disponibles, le vaccin polysaccharidique conjugué ou pneumococcal conjugate vaccine (PCV) et le vaccin polysaccharidique non conjugué ou pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV).

En 2007, l'OMS a recommandé l'utilisation du PCV dans tous les pays, insistant pour que la priorité la plus élevée soit accordée aux pays présentant un taux de pneumonie élevé et des taux de mortalité élevé chez les enfants de moins de 5 ans (225) .

En Algérie ; l'arrêté du 24 Novembre 2014 a introduit de façon obligatoire et gratuite la vaccination antipneumococcique mais ce dernier est pris en application le 24 avril 2016. (Annexe VIII et IX) .

IV.2.1.Le vaccin polysaccharidique non conjugué :

Le vaccin anti-pneumococcique polysaccharidique non conjugué, Pneumovax 23® contient 25 ug de polysaccharide purifié de vingt-trois sérotypes : 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F et 33F

Le PPSV23 est recommandée chez les personnes de plus de 5 ans présentant une pathologie les exposant à un risque élevé d'infection invasives à pneumocoque (asplénie, drépanocytose, infection à VIH, insuffisance respiratoire ...etc.)

Chez l'enfant de moins de 2ans l'immaturation immunologique explique le faible pouvoir antigénique de ce vaccin dans cette tranche d'âge.

Il doit être administré en une seule injection par voie sous-cutanée ou intramusculaire, l'intervalle entre deux injections ne doit pas être inférieur à 5ans, un intervalle de 3 ans est conseillé chez le sujet immunodéprimé et asplénique.

Sur le plan clinique l'efficacité semble comprise entre 50 et 70 % pour ce qui est des infections sévères avec bactériémie, l'efficacité vaccinale est faible chez l'immunodéprimé (45)



Figure 13 : Le vaccin polysaccharidique non conjugué Pnneumovax 23 (226).

IV.2.2.Le vaccin polysaccharidique conjugué :

Depuis le 9 décembre 2009, une autorisation de mise sur le marché (AMM) a été délivrée au vaccin Prevenar 13®, vaccin pneumococcique 13 valent qui contient 2,2 ug de polysaccharide pneumococcique conjugué à la protéine vectrice CRM197(mutant non toxique de la toxine diphtérique) des sérogroupes: 1, 3, 4, 5, 6A, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F et 23F, et 4.4 ug de polysaccharide du séro groupe 6B. Il a remplacé progressivement le vaccin 7valent.

Le couplage à une protéine porteuse rends les antigènes dépendants des lymphocytes T ce qui induit une immunogénicité humorale plus élevée et une plus forte immunité à médiation cellulaire principalement chez les jeunes enfants de moins de 2 ans qui sont incapables de répondre aux antigènes T-indépendants ,il permet aussi d'obtenir une mémoire immunologique lors des injections de rappel. Par conséquent ce vaccin entraine une protection contre les infections non invasives et contre le portage en plus des infections invasives, l'impact est donc individuel et collectif (149) (Annexe X) .

Il faut noter qu'en août 2014, le comité consultatif sur les pratiques d'immunisation (ACIP) a recommandé l'utilisation systématique du PCV13 chez les adultes âgés de 65 ans et plus, il doit être administré en série avec le PPSV23 (184).

Le PCV13 doit être administré par voie intramusculaire (45) .

L'introduction de vaccin 13-valent a amélioré la protection en réduisant près de 50% le nombre de nouveaux cas de septicémies et méningites à pneumocoque chez l'enfant entre 1998-2002 et 2016 en France. Un impact important a également été observé chez les adultes et les personnes âgées (diminution de plus de 20% de ces maladies) grâce à l'immunité de groupe.

En Algérie ; le PCV13 couvre jusqu'à 90% des isolats circulants associés aux IIP (75,209).

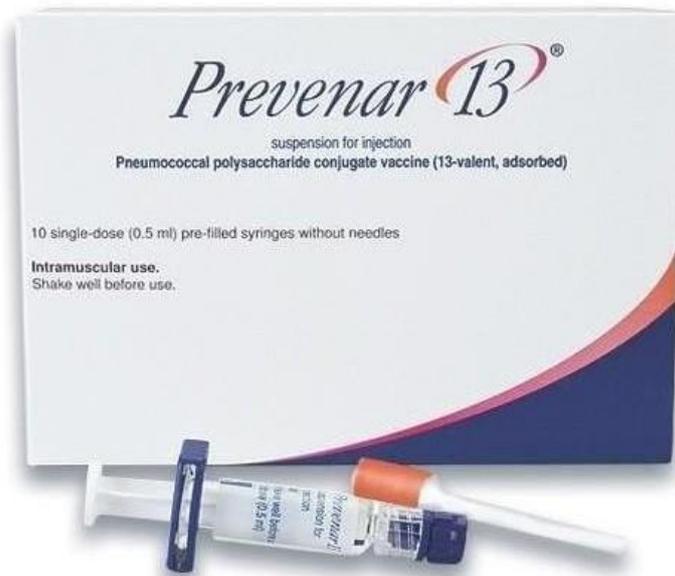


Figure 14 : vaccin polysaccharidique conjugué 13 valent Prevenar 13 (226).

Ces deux types de vaccins ont réduit les taux d'infections pneumococciques dans les communautés immunisées. Cependant le remplacement du sérotype par des souches virulentes qui ne sont pas contenues dans les vaccins polysaccharidiques a été observé après la mise en œuvre des vaccins actuels d'où la nécessité de rechercher de nouveaux vaccins non polysaccharidiques ayant une couverture plus large.

Les protéines de surface exprimées sur les pneumocoques comme la pneumolysine, les pili et la protéine PspA, offrent de l'espoir pour de nouveaux vaccins potentiels susceptibles de fournir une protection supplémentaire contre les infections pneumococciques (20,31) .

CHAPITRE V : MATÉRIEL ET MÉTHODES

V.1. Présentation de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective (Du 1 Janvier 2013 au 31 Décembre 2017) et prospective (Du 1 Janvier 2018 au 1 Mai 2018) portant sur les infections à *Streptococcus pneumoniae* invasives et non invasives diagnostiquées à l'unité de microbiologie du centre hospitalo- universitaire- Blida unité Frantz Fanon.

V.1.1. Critères d'inclusion :

L'étude a porté sur toutes les souches de *S.pneumoniae* isolées des prélèvements à visée diagnostique (LCR, hémoculture, LBA, PDP, crachat, pus auriculaire) au niveau du laboratoire de bactériologie, provenant de patients hospitalisés dans les différents services de l'établissement ou consultants en ambulatoire (externes) durant la période de l'étude.

V.1.2. Critères d'exclusion :

Ont été exclus les souches de *S.pneumoniae* isolées d'urine et de suppurations à cause de manque de données cliniques .

V.2. Échantillon :

La taille de l'échantillon est représentée par 59 souches de *S. pneumoniae*, isolées à partir des prélèvements cités ci-dessus chez des patients (enfants et adultes) à l'origine d'infection pneumococcique.

Pour notre partie prospective ,8 souches ont été conservées à partir du 1^{er} janvier 2018 et ont été régénérées après pour la réalisation des différents tests d'identification ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques. Et pour la partie rétrospective, les résultats des 41 souches étaient exploités directement à partir des registres et grâce au logiciel WHONET 5.6.

L'étude des dossiers médicaux a été faite pour tous les patients dont leurs renseignements cliniques étaient disponibles aux niveaux des différents services de l'unité.

V.3. Conservation :

La conservation des souches a été réalisée sur des milieux liquides selon les moyens du laboratoire par congélation à -20°C dans du bouillon Mueller Hinton + 15% de glycérol (largement utilisé pour ses propriétés cryoconservatrices).

V.4. Contrôle de qualité des tests effectués :

Le contrôle de qualité des tests est effectué grâce à l'utilisation de souches de référence. L'ATCC 49619 est utilisée comme souche témoin pour le diagnostic bactériologique. C'est un témoin positif pour l'identification de *S. pneumoniae* (sensible à l'optochine, lysée par la bile, agglutine au pneumo kit) et un témoin négatif pour l'étude de l'antibiorésistance (sensibilité aux antibiotiques, résistance intermédiaire à la pénicilline G).

V.6. Matériel :**V.6.1. Matériel non biologique :**

Nous avons utilisé divers appareils, des différents équipements et de la verrerie compilés dans le tableau en annexe. (**Annexe XI**)

V.6.2. Matériel biologique :**- Prélèvements : (Annexe XII)**

Nos souches sont isolées de LCR, d'hémocultures (sang), de ponctions pleurales (liquides pleuraux), de pus auriculaire, et d'aspiration bronchique (LBA/PDP). Toutes les souches suspectées d'être des pneumocoques par une identification préliminaire (aspect des colonies, hémolyse alpha) sont prises en considération puis soumises à d'autres tests pour l'identification formelle.

a. Origine : les prélèvements proviennent de différents services (service de réanimation médicale polyvalente, urgences médicales, otorhinolaryngologie ORL, médecine interne, neurochirurgie, neurologie) ou de patients en ambulatoire.

b. Fiche de renseignement :

Le prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignements sur laquelle figure les informations relatives à chaque patient : nom, prénom, l'âge, le sexe, les signes cliniques, la présomption diagnostique et les traitements antibiotiques antérieurement reçus par le malade. (**Annexe XIII**)

Après réception des prélèvements, ceux-ci sont enregistrés par le corps technique sous la forme d'un numéro afin d'assurer le numéro du dossier.

V.6-Méthodes : (Annexe XIV)**V.6.1-Examen direct :****• Macroscopique :**

On examine à l'œil nu le prélèvement qui peut fournir des renseignements intéressants sur l'odeur, la couleur et l'aspect (trouble, clair, hématique).

• Microscopique :

L'examen microscopique qui comporte un examen direct à l'état frais et un examen après coloration bleue de méthylène ou Gram qui nous renseignent sur la présence éventuelle des bactéries, leur morphologie, leur groupement, et leurs affinités tinctoriales.

• Cytologie :

Consiste à dénombrer les leucocytes et les hématies présents dans le LCR ou le liquide pleural, et à exprimer leur nombre (éléments /mm³), on utilise, pour le dénombrement, des hématimètres (de nageotte ou de Malassez).

V.6.2. Isolement et culture :

C'est l'étape la plus importante dans le diagnostic bactériologique. Il s'agit d'ensemencer les milieux de culture appropriés :

- Gélose nutritif (GN) pour les germes non exigeants.
- Milieu Chapman sélectif pour les staphylocoques.
- Milieu Hecktoen sélectif pour les BGN non exigeants, comme on peut utiliser le BCP (Pourpre de bromocrésol).
- Gélose au sang cuit (GSC) et gélose au sang frais (GSF) pour les germes exigeants.

On incube les boîtes ensemencées pendant 24 à 48 h à 37°C dans l'étuve ;

- En atmosphère normale pour la GN, le Chapman, l'Hecktoen et le BCP.
- En atmosphère enrichi avec 5% de CO₂ pour la GSF et la GSC.

Après la durée d'incubation, on observe les boîtes ensemencées à la recherche d'une éventuelle culture. Devant toute culture positive, on doit déceler les bactéries potentiellement responsables de l'infection. On différencie entre les types de colonies selon la taille, l'aspect et la couleur. Après l'apparition des colonies bactériennes, on procède pour une identification biochimique ensuite on termine par les tests de sensibilité aux antibiotiques.

V.6.3. Identification des souches du *S. pneumoniae*:

Pour l'identification des souches de pneumocoques, nous avons suivi l'algorithme ci-dessus.

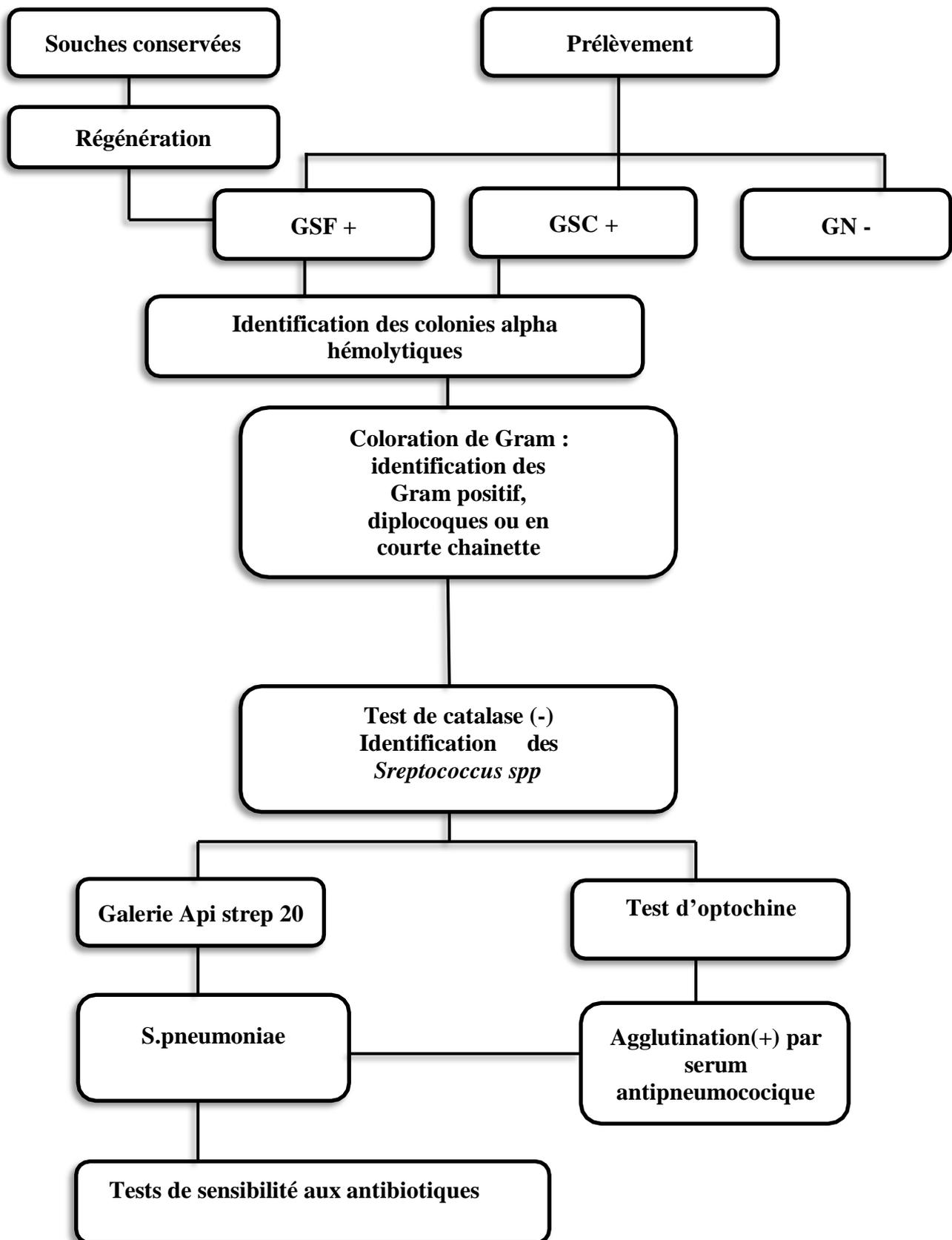


Schéma d'identification du Streptococcus pneumoniae

V.6.3.1-Isolement et culture :

Le milieu de culture utilisé est la gélose au sang constituée du milieu de base : Gélose nutritive, gélose Columbia et/ou gélose Mueller- Hinton additionné de 5% de sang de mouton frais ou cuit. L'incubation est effectuée dans une étuve à CO₂ (5 %), à 37°C et à pH optimum de 7,2 pendant 20 à 24 heures.

V.6.3.2-Examen macroscopique des colonies :

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



Figure 15 : Culture de *S.pneumoniae* sur gélose au sang frais .
(Originale)

V.6.3.3- Examen microscopique des colonies :

Après coloration de Gram, on observe au microscope optique des diplocoques colorés en violet à forme lancéolée, en flamme de bougie.

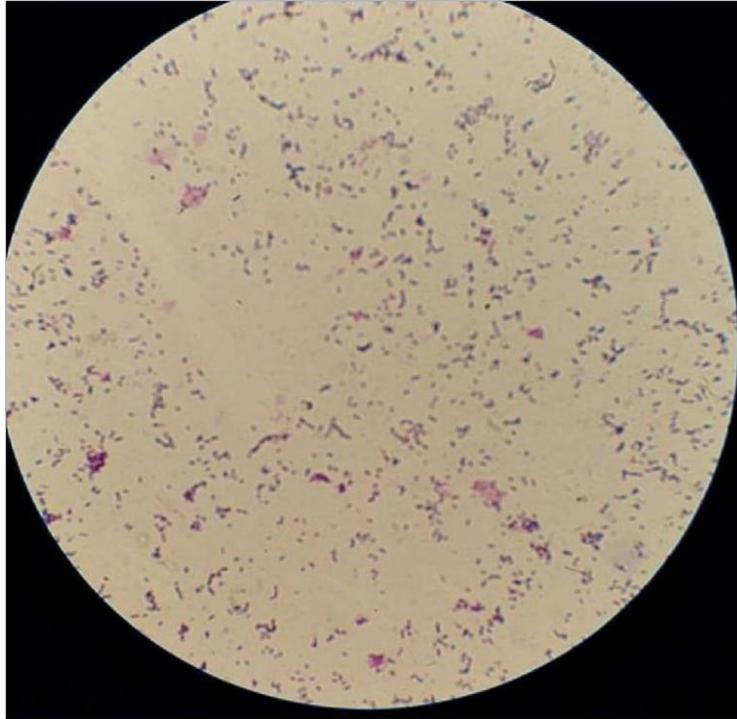


Figure 16 : observation de *S.pneumoniae* au microscope.
(Originale)

V.6.3.4-Test de la catalase:**- Principe :**

La catalase est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes H₂O₂ dont l'accumulation a un effet létal pour les bactéries. La catalase a la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) avec dégagement d'O₂ sous forme gazeuse selon la réaction suivante :

**- Technique :**

Prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.

- Résultats :

Positif : La présence de catalase est marquée par la formation immédiate de bulles d'O₂.

Négatif : absence de bulle.

S. pneumoniae est catalase négative.

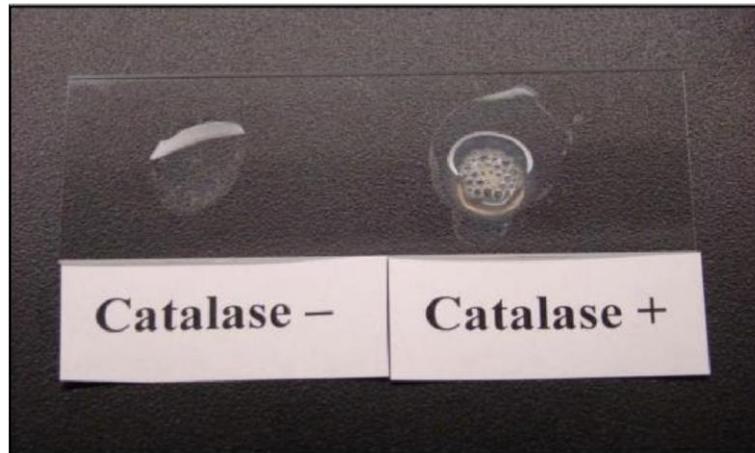


Figure17: Résultat positif et négatif de test de catalase. (220)

V.6.3.5-Test de sensibilité à l'optochine :

- **Principe :**
Est utilisé pour différencier le pneumocoque des autres streptocoques hémolytiques. (220)
- **Technique :**
Une suspension du germe isolé est inondée sur une boîte de gélose au sang. Un disque d'optochine est déposé à l'aide d'une pince à la surface de la gélose. L'incubation se fera à 35°C en atmosphère enrichi de CO₂ pendant 18 à 24h heures au bout desquelles la présence ou non de zone d'inhibition matérialisée par un halo clair est recherché et le diamètre est mesuré.
- **Résultats :**
 - Une zone d'inhibition supérieure ou égale à 14 mm de diamètre oriente vers *S.pneumoniae*.
 - Une absence d'inhibition c'est une réaction négative.
 - Une zone d'inhibition inférieure à 14 mm de diamètre nécessite des tests complémentaires.



Figure 18 : Teste de sensibilité à l'optochine de *S. pneumoniae*
(Originale)

V.6.3.6- Test d'agglutination au latex (Slidex pneumo kit) :

- Principe :

Le Slidex pneumo-Kit est un test d'identification rapide de *S. pneumoniae* par agglutination de particules de latex. Les antigènes capsulaires sont identifiés en utilisant des particules de latex sensibilisées par des groupes spécifiques d'anticorps anti-pneumocoque. (220)

- Technique :

Sur deux cercles différents d'une carte d'agglutination, une goutte d'eau physiologique est déposée. A l'aide d'une pipette pasteur, quelques colonies prélevées sont mises en suspension dans l'eau physiologique de manière à obtenir dans chaque cercle une suspension opalescente.

Dans le premier cercle une goutte de latex anti-*S.pneumoniae* est déposée, et dans le second cercle une goutte de latex témoin négatif. La carte est soumise après à un mouvement rotatif pendant deux minutes au maximum après avoir homogénéisé le contenu de chaque cercle à l'aide de deux bâtonnets différents.

- Résultats :

- Agglutination visible à l'œil dans 2 minutes : présence d'antigènes de *S.pneumoniae* : la souche testée est *S.pneumoniae*.
- Absence d'agglutination : absence d'antigènes de *S.pneumoniae* : la souche testée n'est pas *S.pneumoniae*.



Figure19 : Agglutination de *S.pneumoniae* par le latex anti pneumococcique.
(Originale)

V.6.3.7- Identification par Galerie Api strep20 :

Elle permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques (Annexe XIV).



Figure20: galerie Api strep20 codant un *S.pneumoniae*.
(Originale)

V.6.3.8-Tests de sensibilité aux antibiotiques :

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est fondée sur la recherche des diamètres d'inhibition et sur la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Ces deux techniques sont réalisées selon les techniques de standardisation de l'antibiogramme (CLSI 2011).

- **Antibiogrammes standards :**

- **Principe :**

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Il a pour but de mesurer la sensibilité d'une souche bactérienne à un ou plusieurs ATB en classant celle-ci en Sensible, Intermédiaire ou Résistante (S, I ou R). (19)

- **Technique :**

- **Préparation de l'inoculum ;**

- A partir d'une culture pure, racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF.
- L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

- **Ensemencement ;**

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- **Application des disques d'antibiotiques ;**

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

- **Lecture :**

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse. Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I. (Annexe XV).

➤ **Détection de la résistance aux BL par antibiogramme standard :**

Le CLSI recommande de tester un disque d'oxacilline chargé à 1µg pour la détection de la résistance à la pénicilline. Cependant, le disque chargé à 1µg est instable et se décharge rapidement même si la date de péremption n'est pas encore atteinte. Par conséquent, il est préférable de tester les deux disques chargés à 1 et 5 µg d'oxacilline. **(19)**

Si le diamètre d'inhibition est inférieur aux valeurs critiques de sensibilité, la souche doit être considérée comme PSDP probable et subir des investigations complémentaires.

Tableau 3 : Recherche de *S.pneumoniae* de sensibilité diminuée aux BL.

Inoculum	Oxacilline 1 µg CLSI 0,5 Mc Farland		Oxacilline 5µg CA-SFM 0,5 Mc Farland	
	≥20 mm	≤19 mm	≥26mm	≤ 25mm
Diamètre D'inhibition				
Interprétation	Sensible à toutes les β-lactamines	Sensibilité diminuée à la pénicilline	Sensible à Toute les B-lactamines	Sensibilité diminuée à la pénicilline
Tests complémentaires	----	Détermination de la CMI Pénicilline, amoxicilline céfotaxime et imipenème		Détermination de la CMI à la pénicilline, Amoxicilline, céfotaxime et imipenème

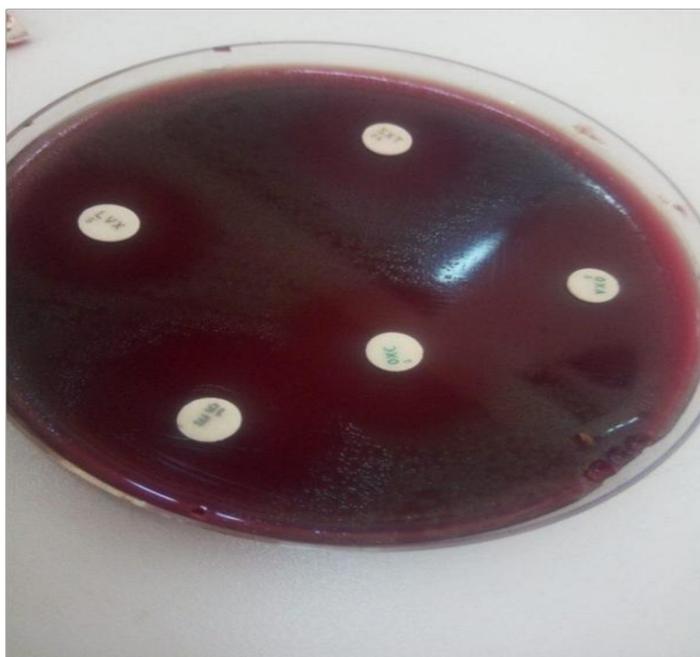


Figure 21 : antibiogramme d'une souche de *S.pneumoniae* .(Originale)

- **Détermination de la CMI par bandelettes E-test :**

- **Principe :**

Cette technique, utilisant des bandes imprégnées d'un gradient de concentration de l'ATB, permet d'obtenir simplement et rapidement une détermination de la CMI, dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standard. En routine, elle constitue une alternative acceptable à la méthode de référence (19).

- **Inoculum :**

L'inoculum est préparé en réalisant une suspension de colonies obtenues d'une culture pure de 20 à 24 heures dans de l'eau physiologique stérile. La suspension est calibrée à l'échelle 0,5 Mc Farland.

- **Ensemencement :**

La gélose au sang utilisée est soit déjà préparée, soit coulée avec une épaisseur de 4,5 à 5mm (une fois la gélose solidifiée, la boîte est mise à l'étuve pour avoir une surface bien sèche). L'ensemencement est effectué par écouvillonnage qui consiste à imbiber un écouvillon stérile de la suspension bactérienne, essorer sur le rebord du tube et effectuer un passage de l'écouvillon sur toute la surface de la gélose par simple rotation de 120° tout en s'assurant que toute la boîte est bien ensemencée, ensuite appliquer les bandes E-test® et

incuber immédiatement les boîtes à 37°C sous une atmosphère enrichie à 5% de CO₂ pendant 20 à 24 heures.

- **Lecture et interprétation :**

L'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse. La valeur de la CMI correspond au point d'intersection entre la limite de la zone d'inhibition et la bande d'E-test®. Les valeurs obtenues sont comparées aux normes du CLSI.

- **Détection des souches de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée aux β-lactamine par la détermination de CMI avec le E test :**

Tableau 4 : Critères d'interprétation des CMI de *S.pneumoniae* selon les normes du CLSI

Interprétation β-lactamine	Sensible	Intermédiaire	Résistant	Contrôle de qualité <i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619
<u>Pénicilline (µg/ml)</u> - Méningite - Autre que méningite	≤0,06 ≤2	--- 4	≥0,12 ≥8	0,25 - 1
<u>Pénicilline orale (Pénicilline V) (µg/ml)</u>	≤0,06	0,12 – 1	≥2	0,25 - 1
<u>Amoxicilline (µg/ml)</u> - Autre que méningite	≤2	4	≥8	0,03 – 0,12
<u>Céfotaxime (µg/ml)</u> - Méningite - Autre que méningite	≤0,5 ≤1	1 2	≥2 ≥4	0,03 – 0,12
<u>Imipenème (µg/ml)</u>	≤0,12	0,25 – 0,5	≥1	0,03 – 0,12

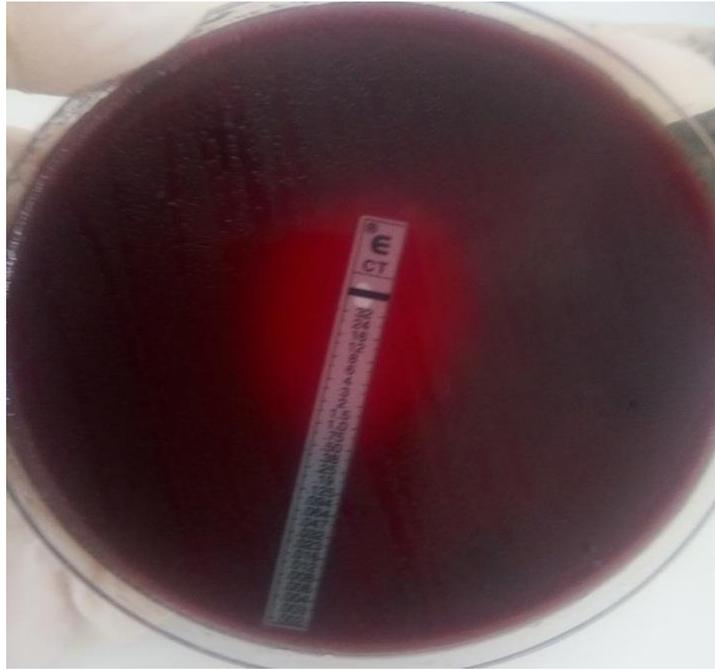
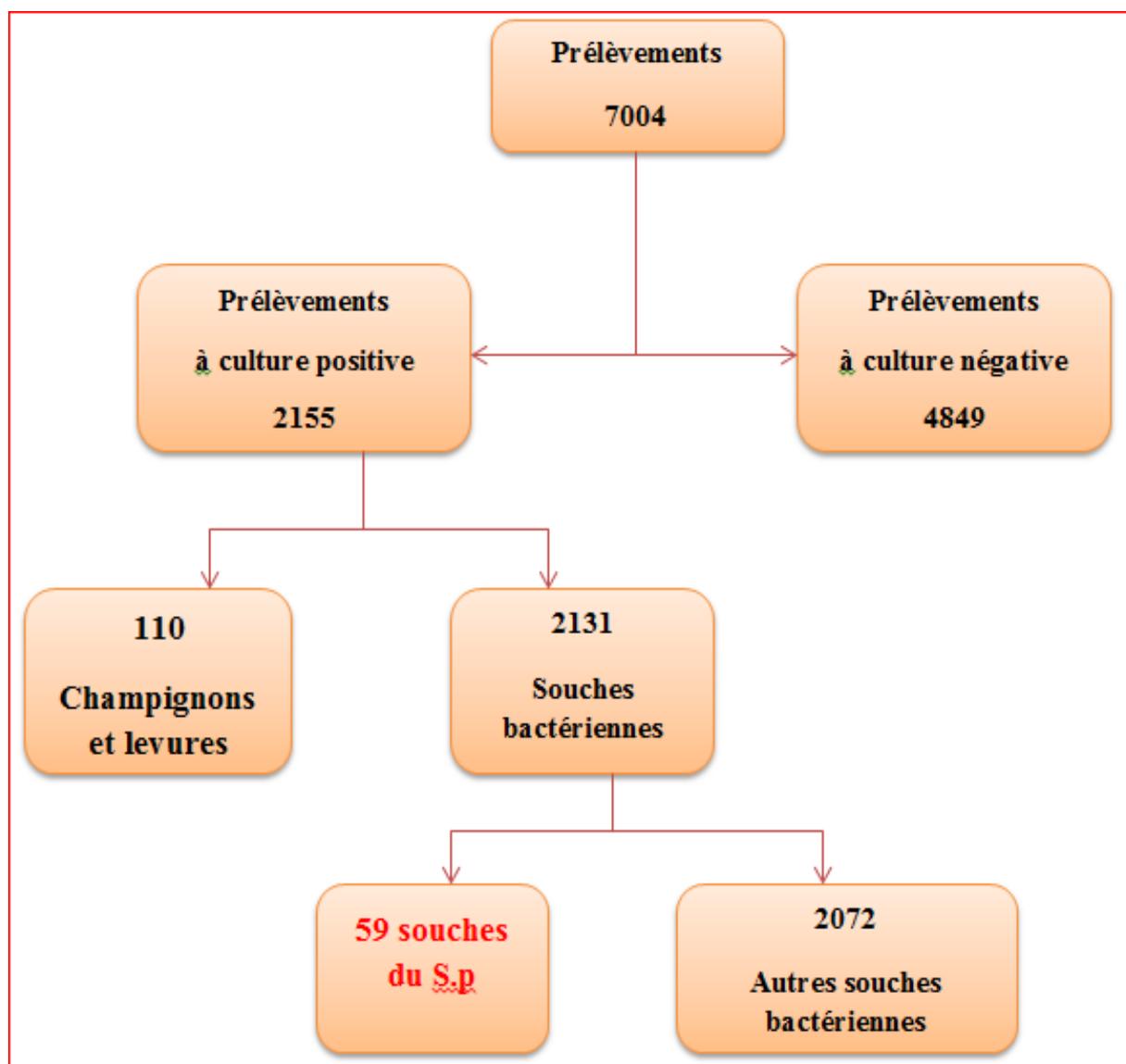


Figure 22 : CMI de céfotaxime d'une souche de *S. pneumoniae*.
(Originale)

CHAPITRE VI : RÉSULTATS

VI.1. Taux des souches du *S.pneumoniae* isolées :Figure 23 : Taux du *S.pneumoniae* isolés

Durant notre période d'étude, nous avons consulté les résultats bactériologiques de tous les prélèvements provenant de malades hospitalisés ou externes.

L'unité de Microbiologie a reçu un total de **2155** prélèvements à culture positive, **2131** bactéries reconnues pathogènes sont identifiées.

S.pneumoniae représente **02,76 %** soit **(59 /2131)** du totale des souches bactériennes isolées.

VI.2. Étude des souches de *S.pneumoniae* et leur implication dans les infections :

VI.2.1. Répartition des infections à pneumocoques selon la nature et le type de l'infection :

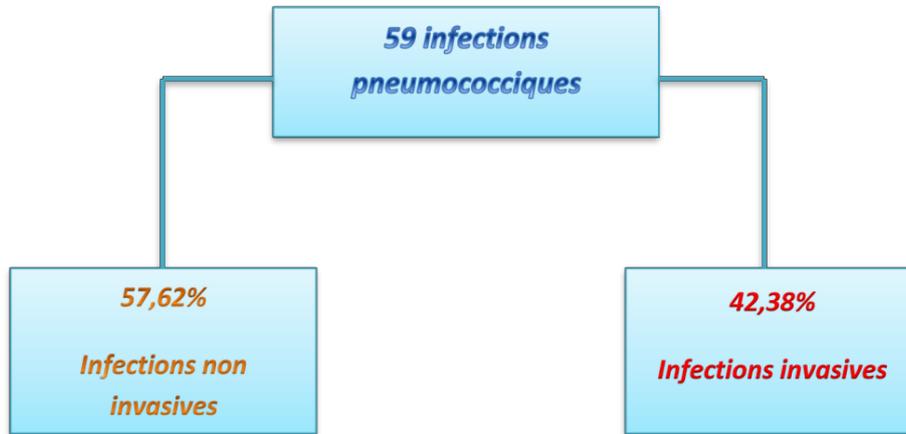


Figure 24 : Répartition des infections à *S.pneumoniae* selon la nature de l'infection.

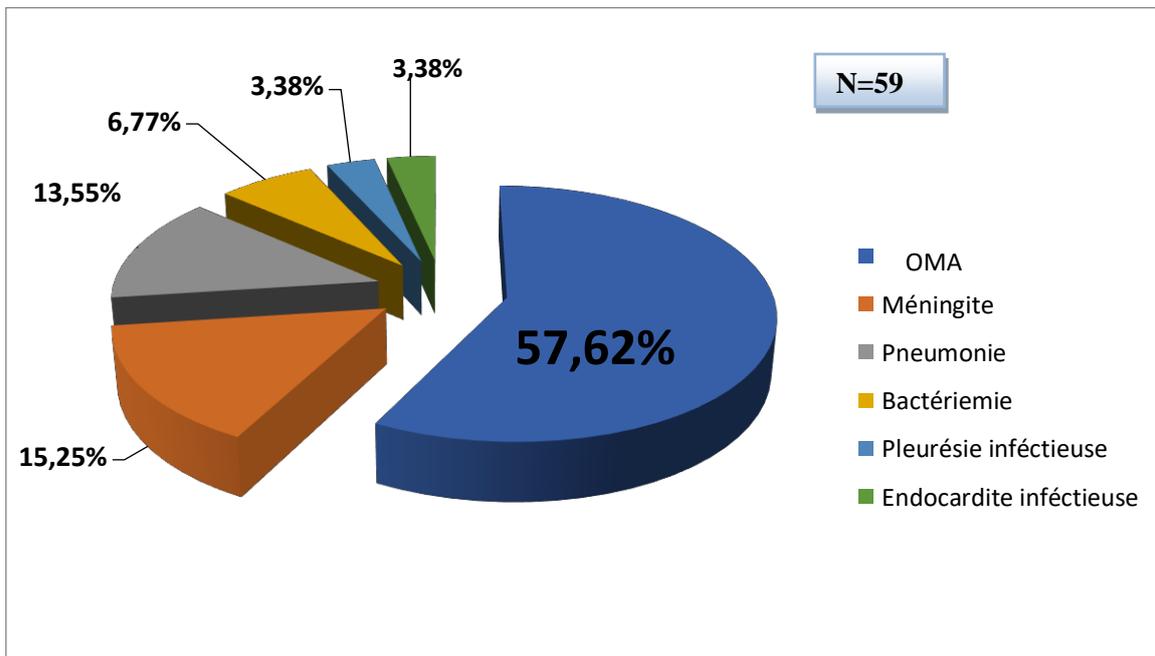


Figure 25 : Répartition des infections à pneumocoque selon le type d'infection.

Les infections pneumococciques diagnostiquées à notre hôpital incluent des infections non invasives (57,62%) et invasives (42,38%).

En majorité, nos souches sont d'origine d'infection non invasive (OMA) avec une fréquence élevée de 57,62 % (34/59). Par ailleurs, les autres souches sont isolées d'infections invasives : **Méningite (15,25%), pneumonie (13,55%) et bactériémie (6,77%).**

Pour la **pleurésie infectieuse** et **l'endocardite infectieuse** la proportion est beaucoup plus faible (3,38%) soit (2cas/59) seulement pour chacune.

VI.2.2. Répartition saisonnière des infections à pneumocoques :

La répartition saisonnière des infections montre que 62% des cas sont observés en période hivernale .

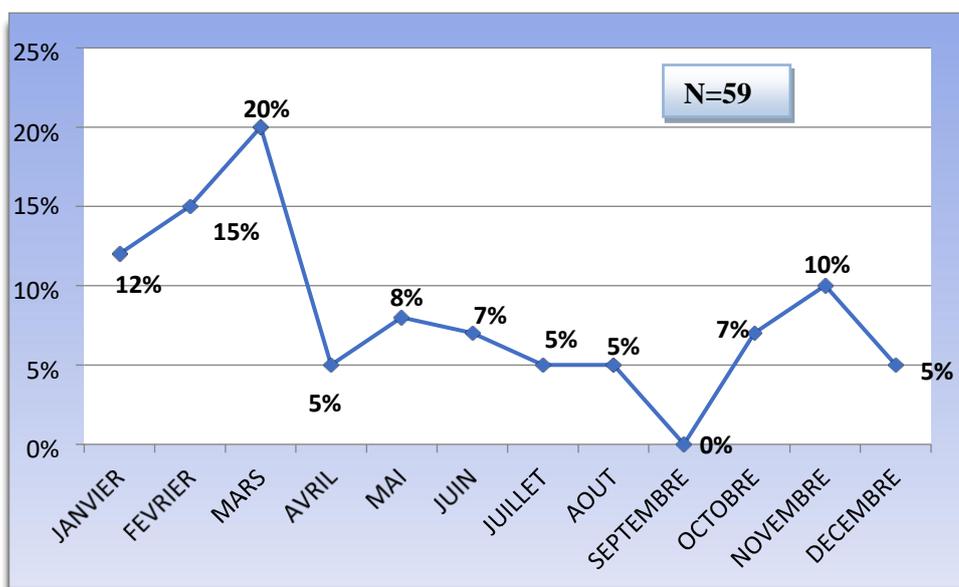


Figure 26 : Répartition des infections en fonction des mois.

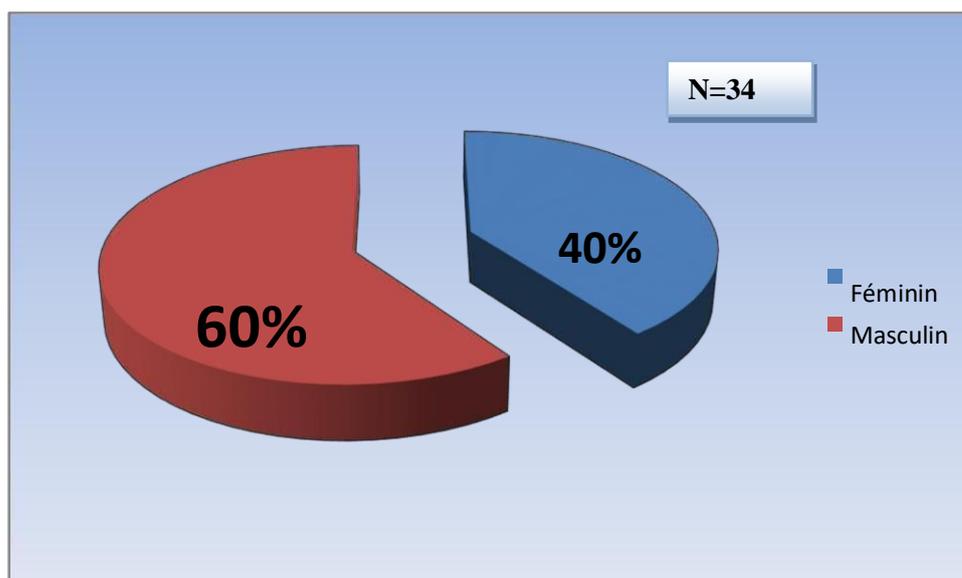
VI.2.3. Répartition des infections à *S.pneumoniae* selon le service clinique :Tableau 5 : Répartition des infections à *S.pneumoniae* selon le service clinique

Service	Nombre d'infection (%)	
ORL	34	57.62%
Réanimation	12	20.33%
Neurochirurgie	6	10.16%
Neurologie	2	3.38%
Médecine interne	2	3.38%
Pneumologie	2	3.38%
Oncologie	1	1.69%

Le tableau montre que plus de **50%** des isollements du *S.pneumoniae* proviennent de patients consultant au service d'otorhinolaryngologie et **20% de patients hospitalisés** à l'unité de réanimation médicale polyvalente. Les autres prélèvements proviennent de service de neurochirurgie (**6/59**) soit **10,16%** et des services de neurologie, médecine interne et de pneumologie avec **2** prélèvements sur un total de **59** pour chaque service, et du service d'oncologie médicale avec (**1/59**).

VI.2.4. *S.pneumoniae* isolés d'infection non invasive (OMA) :

VI.2.4.1. Le sexe :

Figure 27: Répartition des OMA à *S.pneumoniae* selon le sexe.

Une prédominance du sexe masculin a été observée **20** soit **60%** sur un total de **34** malades présentant une OMA à pneumocoque (Sexe ratio =**1,42**).

VI.2.4.2. L'âge :

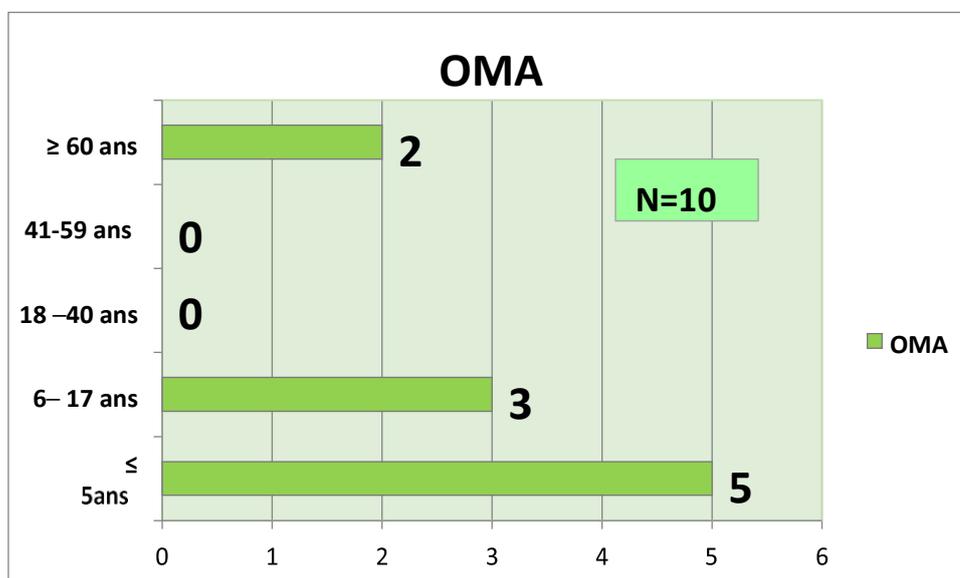


Figure 28 : Répartition des tranches d'âge chez les patients souffrants d'OMA à pneumocoque.

L'âge est documenté dans seulement 10 cas d'OMA ; la tranche d'âge la plus touchée par l'OMA à pneumocoque est l'enfant de moins de **5 ans (5/10)**, les **5** étaient des nourrissons âgés entre **5 et 15 mois**.

L'OMA pneumococcique atteint aussi l'adulte âgé de **60 ans** et plus, **2** cas ont été observés : un de **60 ans** et l'autre de **64 ans**. Aucune OMA pneumococcique n'a été observée chez l'adulte de **18 à 59 ans**.

VI.2.4.3. Place du pneumocoque dans les otites :

Tableau 6 : Distribution des souches du *S.pneumoniae* isolées d'OMA selon l'année.

Nombre de bactéries/année	2013	2014	2015	2016	2017	2018*
<i>S.pneumoniae</i>	8	13	7	1	4	1
Bactéries isolées	176	170	164	90	135	91
Fréquence %	4,54	7,64	4,26	1,11	2,96	1,09

2018* : du 01/01/2018 à 30/04/2018

-Place du pneumocoque dans les otites :

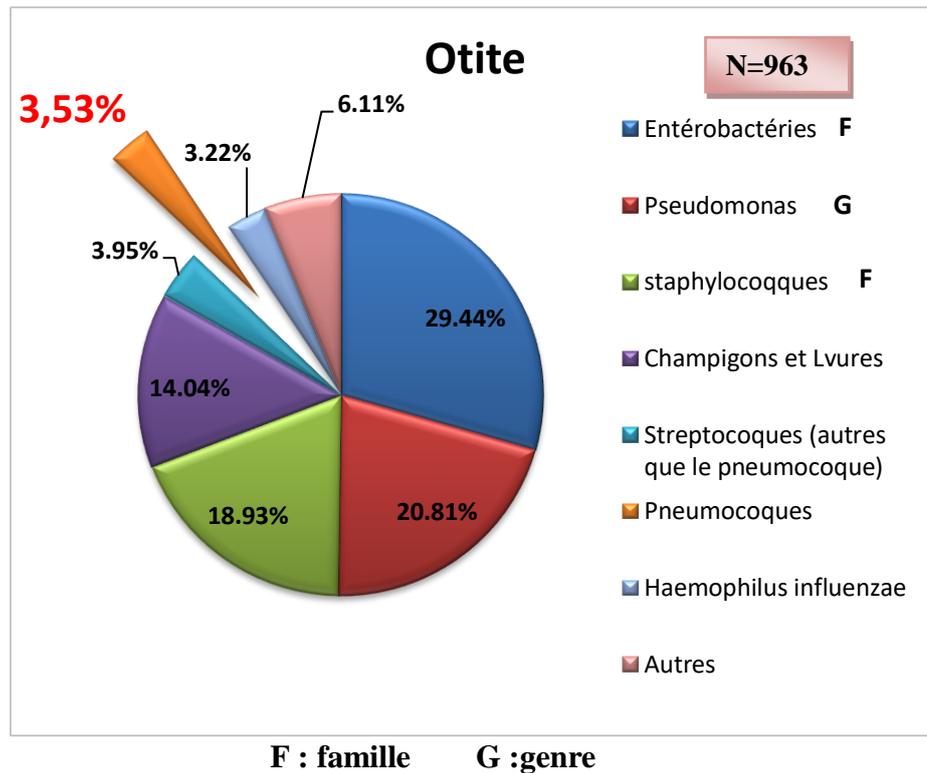


Figure 29 : Place du pneumocoque dans les otites.

S.pneumoniae représente 3,53% des étiologies bactériennes des otites .Il occupe la 6eme place suivi d'*Haemophilus influenzae*. Pour les autres streptocoques le taux est aussi faible (3,95%).

-Les entérobactéries représentent la famille bactérienne la plus responsable d’otite selon la figure avec un taux de 29,44%.

-Le Pseudomonas et les staphylocoques occupent la 2eme et 3eme place avec des taux respective de 20,81 % et 18,93%.

VI.2.4.4. Impact de la vaccination :

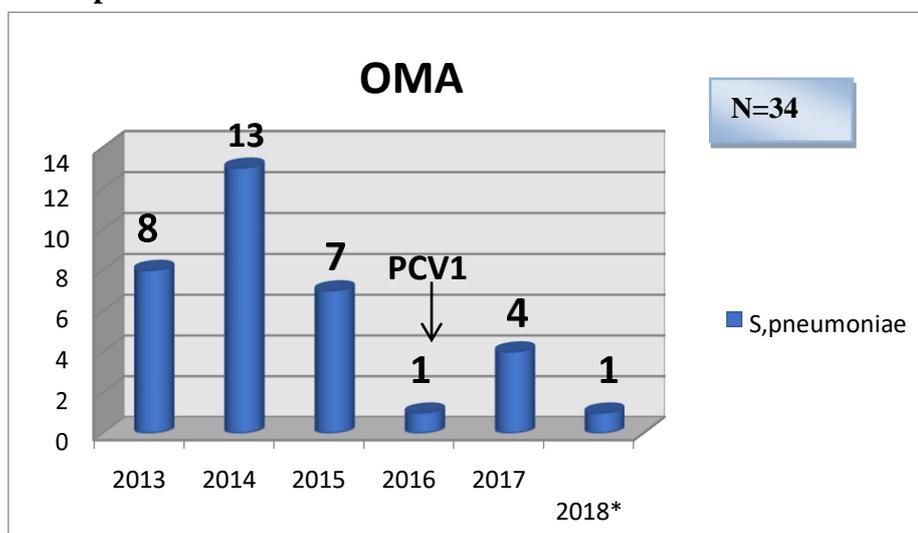


Figure 30: Nombre du *S.pneumoniae* isolés de pus auriculaire selon l’année.

Les otites à pneumocoque ont significativement baissé après l'introduction du vaccin conjugué 13-valent (PCV-13) en 2016.

4 souches seulement ont été isolées d'OMA en 2017, contrairement à ce qui a été observé avant 2016 où le nombre était deux fois plus élevé (8 en 2013 et 7 en 2015) voir même triplé en 2013 avec 13 souches représentant le nombre le plus élevé au cours des années de l'étude.

Pour étudier l'impact de la vaccination il est nécessaire d'avoir des données de surveillance de meilleure qualité et moyennant une supervision épidémiologique et statistique aussi bonne que possible pour éviter des résultats trompeurs ou impossibles à interpréter. Dans la présente étude nous avons essayé de faire une petite analyse sur la survenue des cas d'OMA pneumococcique après introduction du PCV-13 dans le programme vaccinal algérien.

VI.2.5. *S.pneumoniae* isolés d'infections invasives :

VI.2.5.1. Le sexe :

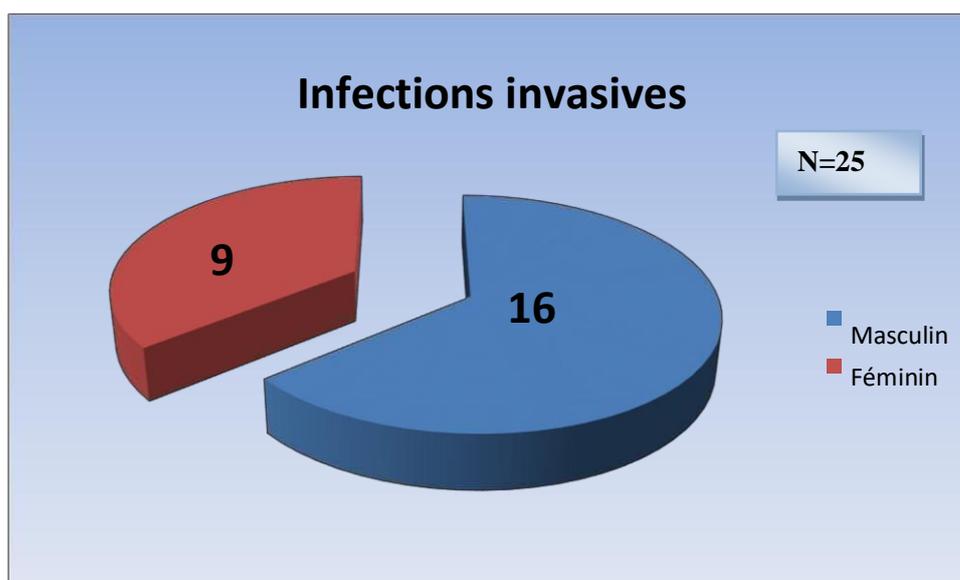


Figure 31 : Répartition des infections invasives du *S.pneumoniae* selon le sexe.

Nos résultats montrent une prédominance du sexe masculin dans les infections pneumococciques invasives avec (16 /25), contre 9 sur un total de 25 malades ont été observés chez des patients de sexe féminin.

VI.2.5.2. L'âge :

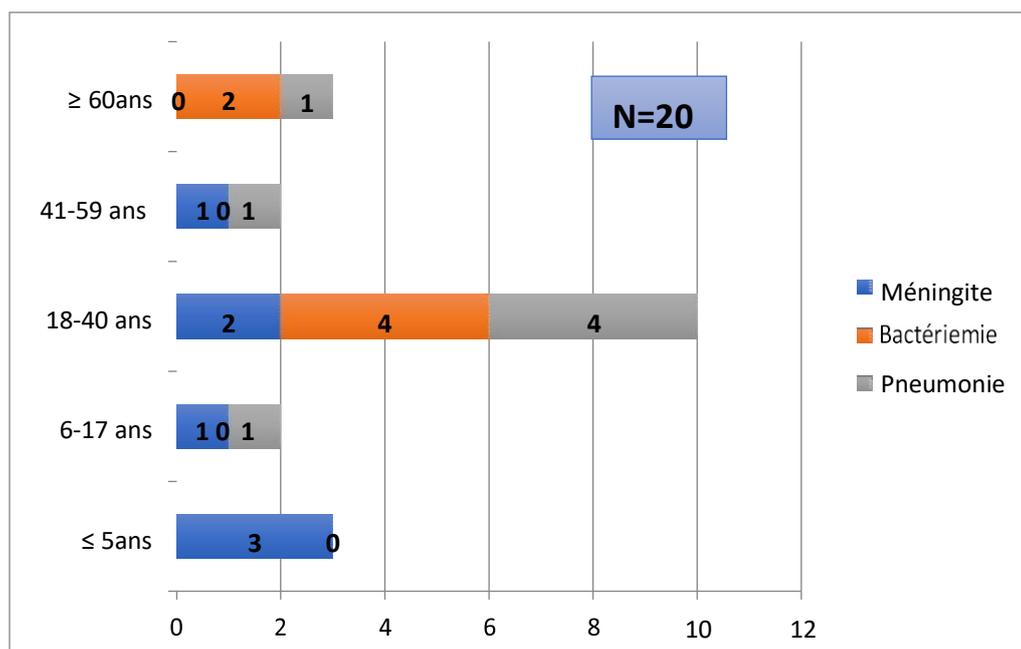


Figure 32 : Distribution des souches du *S. pneumoniae* en fonction du type de l'infection et de l'âge.

L'âge est documenté uniquement pour **20** malades souffrant d'infections invasives à pneumocoque.

Les infections à *S.pneumoniae* sont observées dans toutes les tranches d'âge avec des extrémités variantes entre **5mois** et **75ans**.

Le taux des infections invasives à pneumocoques est élevé chez l'adulte dont la tranche d'âge est comprise entre **18** et **40 ans (50%)**.

Chez les nourrissons l'atteinte est rare. Trois cas d'infections invasives (**méningite**) sont observés chez **2** nourrissons âgés de **5** et **7 mois** et **1** enfant de **2ans**

La tranche d'âge allant de **6** à **17 ans** et de **41** à **59 ans** sont atteintes aussi avec un taux de **10%** pour chacun.

Pour l'adulte âgé de **60 ans** et plus **3** cas sont observés : **2** cas de bactériémie et **1** seul cas de pneumonie.

A. Les méningites :

Tableau 7 : Répartition des souches du *S.pneumoniae* isolées des méningites (LCR) selon l'année.

		2013	2014	2015	2016	2017	2018*	Total
Méningite	S.p	0	1	2	4	0	2	9
	Bactéries isolées	66	53	49	69	64	8	309

-Place du pneumocoque dans les méningites bactériennes :

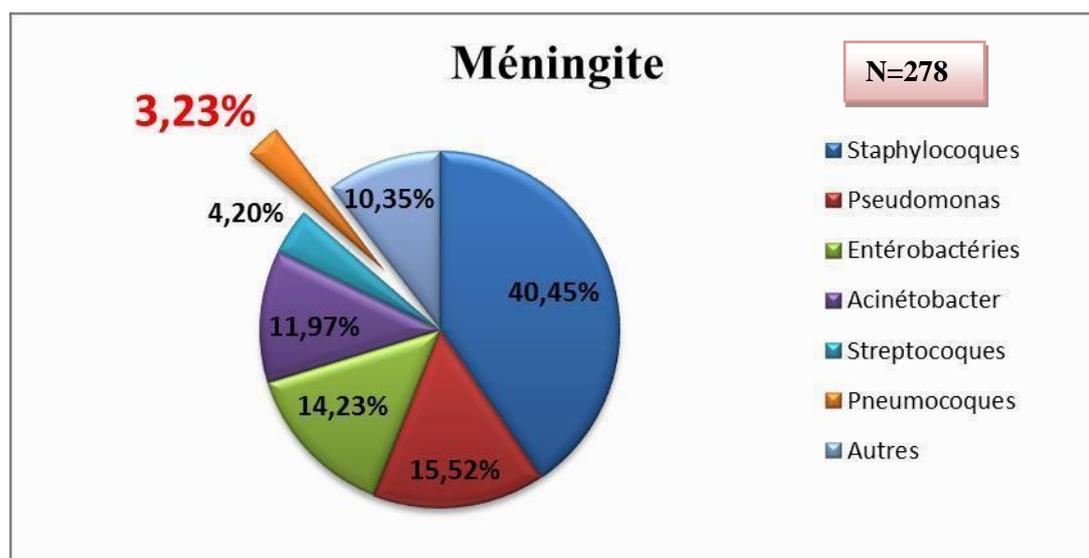


Figure 33: Place du pneumocoque dans les méningites bactériennes.

Nous remarquons que le pneumocoque est en dernier rang dans la classification des étiologies bactériennes responsable de méningite avec un taux de **3,23%**.

La famille des staphylocoques occupe la 1^{ère} place avec un taux très élevé (**40,45%**). Le Pseudomonas, les entérobactéries et l'acinéto bacter viennent ensuite : **15,52%**, **14,23%** et **11,97%**.

Après l'étude des dossiers médicaux de 4 patients sur 9, on a constaté :

- 2 cas / 4 ont consulté pour des céphalées et des troubles neurologique, la découverte de la méningite pneumococcique était fortuite et l'état des deux patients a bien évolué sous céfotaxime.
- 1 cas / 4 était hospitalisé pour un craniopharyngiome avec antécédent de spinabifida ; la méningite pneumococcique est survenue après avoir été opéré.
- 1 cas / 4 avec antécédent d'hydrocéphalie et dont la méningite a été suspecté et confirmé par l'isolement de *S.pneumoniae* dans le LCR

B/ Les bactériémies :

Tableau8 : Répartition des souches du *S.pneumoniae* isolées des bactériémies (hémoculture) selon l'année.

		2013	2014	2015	2016	2017	2018*	Total
Bactériémie	S.p	1	0	0	2	2	1	6
	Bactéries isolées	58	50	99	209	196	51	663

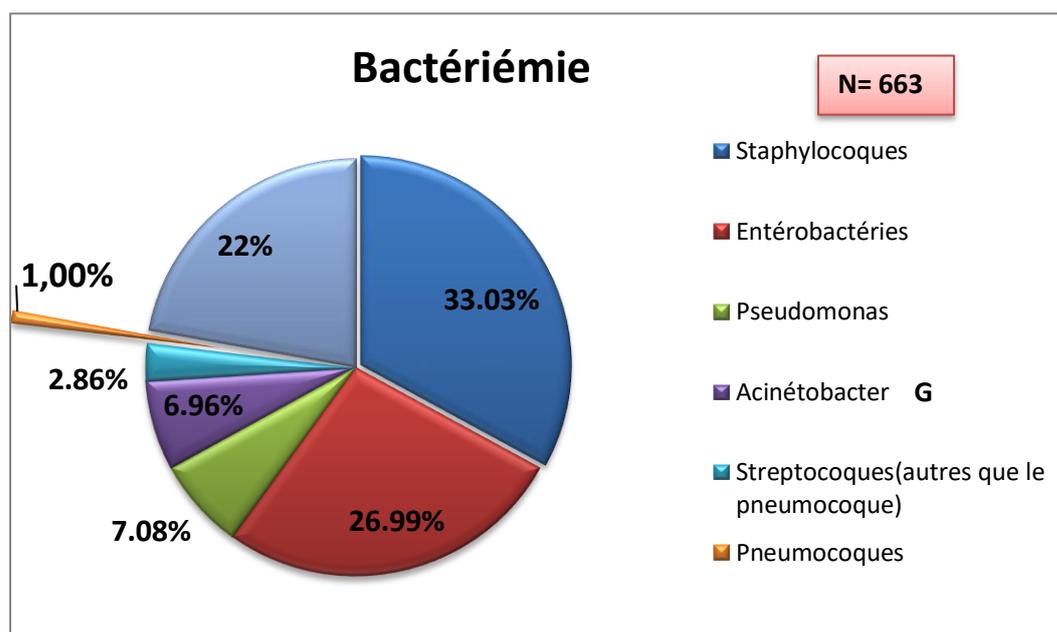
Place du pneumocoque dans les bactériémies :

Figure 34 : Place du pneumocoque dans les bactériémies.

1% seulement des bactériémies diagnostiquées à notre hôpital sont due à *S.pneumoniae*. Les staphylocoques et les entérobactéries causent plus de la moitié des bactériémies, avec un taux de 33,03% et 26,99% respectivement.

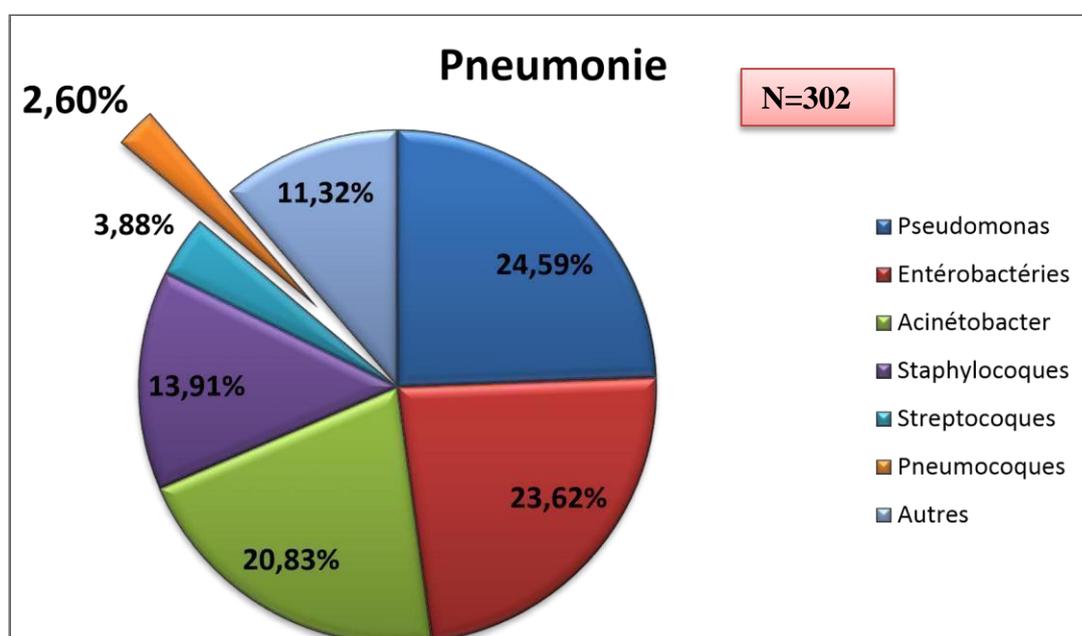
Après l'étude de dossiers médicaux de 4 patients /6 on a constaté :

- 2 patients ont été hospitalisés au service de cardiologie pour suspicion d'endocardite infectieuse sur valve native, l'évolution était favorable sous antibiothérapie (céfotaxime et ampicilline).
- 1 cas est documenté avec bactériémie après 3 jours d'hospitalisation en réanimation et il avait des antécédents chirurgicaux d'hydrocéphalie, le patient était décédé quelques jours après.
- 1 seul cas de bactériémie pneumococcique a été hospitalisé au service d'oncologie durant notre étude. fort probable que l'état d'immunodépression qui était la cause de la survenue d'infection.

C/Les pneumonies et pleurésies infectieuses :

Tableau 9 : Répartition des souches de *S.pneumoniae* isolées des pneumonies (PDP/LBA) et de pleurésie (Liquide pleurale) selon l'année.

		2013	2014	2015	2016	2017	2018	Total
Pneumonie	S.p	0	0	0	3	3	2	8
	Bactéries isolées	15	20	15	85	128	47	310
Pleurésie	S.p	0	0	0	0	1	1	2
	Bactéries isolées	1	0	4	5	13	4	28

-Place du pneumocoque dans la pneumonie :**Figure 35** : Place du pneumocoque dans la pneumonie.

Comme la figure indique, le pneumocoque occupe le dernier rang dans la pneumonie (2,60%) précédé par les autres streptocoques avec un taux aussi faible (3,88%).

Le Pseudomonas, les entérobactéries et l'Acinéto bacter occupent les premières places avec des taux respectifs sont de 24,59%, 23,62% et 20,83% .

L'étude des dossiers médicaux (5/8) a montré que :

-la totalité des patients (5/8) étaient hospitalisés au service de réanimation pour autres raisons que la pneumonie (polytraumatisme, AVC, arrêt cardio-respiratoire)

-L'infection à pneumocoque est survenue **24 à 48h** après l'hospitalisation, **3** cas de décès ont été observés à l'admission dont la pneumonie n'était pas la cause.

- **1** seul cas a présenté une image radiologique caractéristique d'une atteinte pulmonaire qui a été mis sous antibiothérapie (céfotaxime et flagyl), l'état du malade a été bien évolué.

- Le pneumocoque a été isolé seul dans la majorité des cas .

VI.3.Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques d'isolat *S.pneumoniae*

VI.3.1.Résistance aux différents antibiotiques :

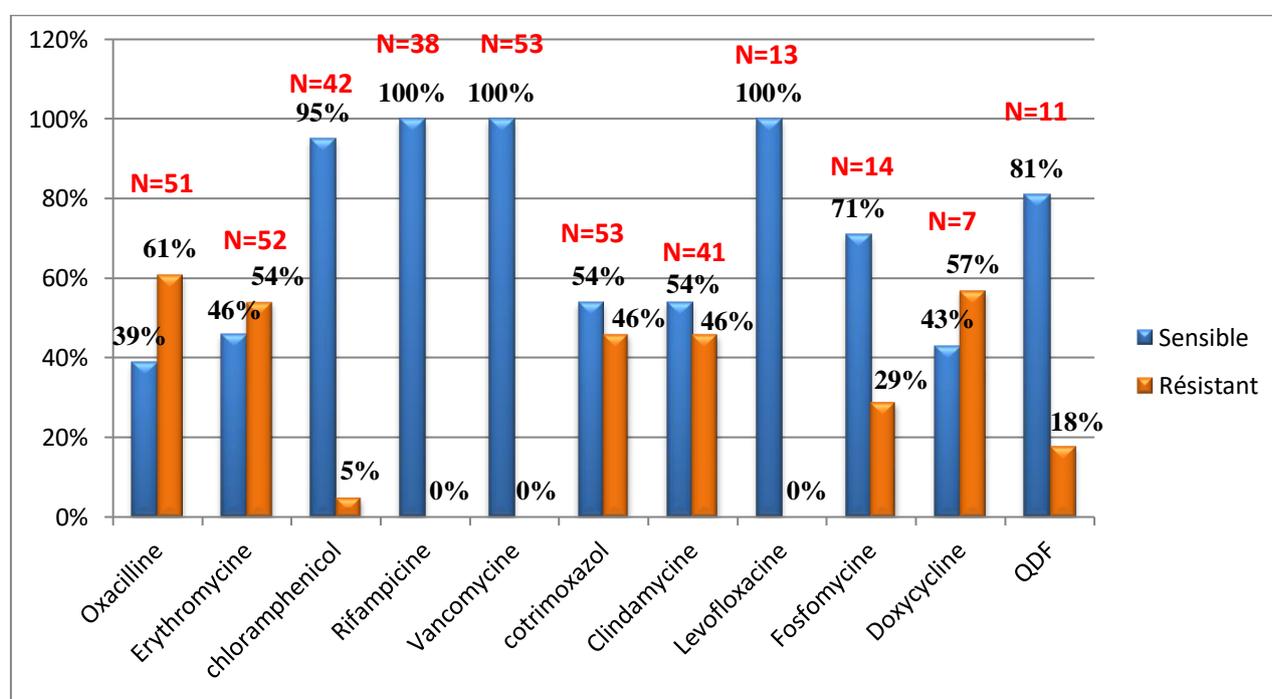


Figure 36 : Taux de résistance aux antibiotiques des isolats du *S.pneumoniae*.

-D'après la figure les taux de résistance les plus élevés ont été observés avec l'érythromycine (54%) soit (28/52) suivi de la résistance au cotrimoxazol et à la clindamycine avec un taux de 46% pour chacune.

-Aucune résistance n'a été observée avec la lévofloxacine, la vancomycine et la rifampicine par contre on a constaté un très faible taux de résistance avec le chloramphénicol (5%) soit 2/38.

-La résistance au QDF a été testé pour 11 souches seulement dont 2 étaient résistantes.

-4/14 souches étaient résistantes la fosfomycine et 4/7 souches étaient résistantes à la doxycycline.

-61% soit (31/51) souches étaient résistantes à l'oxacilline et donc considérées probablement de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) .

VI.3.2. Résistance à la pénicilline (PSDP) et aux autres bêta-lactamines :

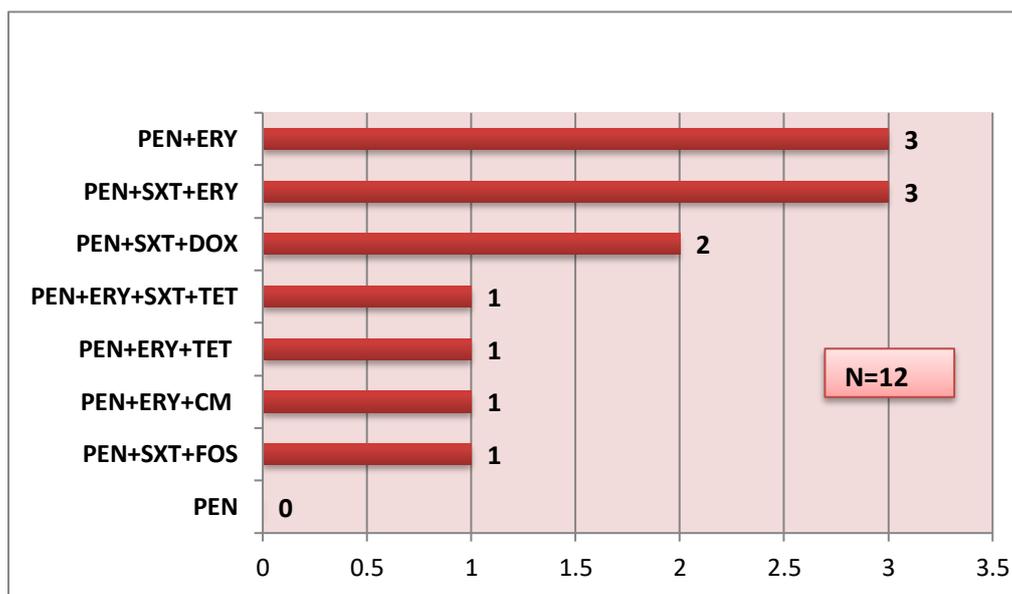
Tableau 10 : Résultats de la détermination des CMI par E. test obtenus avec l'amoxicilline, la pénicilline, la céfotaxime et l'imipénème.

CMI bêta-lactamines	Amoxicilline	Pénicilline	Céfotaxime	Imipénème
Souches sensibles	33/33	3/15	22/25	4/5
Souches non sensibles (R+I)	0/33	12/15	3/25	2/5

-D'après le tableau nous remarquons :

- ✦ **100%** des souches testées à l'amoxicilline étaient sensibles avec des CMI allant de **0,016 à 1,5 µg/ml** isolées des différentes infections pneumococciques.
- ✦ **12/15** soit **80%** des souches sont des **PSDP** confirmé par une détermination de la CMI pénicilline.
- ✦ Parmi les **12** souches non sensibles à la pénicilline, **2** ont été isolées du LCR dont les valeurs de CMI sont : **0,38 et 8 µg/ml**, une a été isolé d'hémoculture (**CMI=3 µg/ml**), **2** isolées de PDP (**CMI de 0.25 et 1.5 µg/ml**) ,**1** de liquide pleural (**0.25 µg/ml**), **6** d'otite (**0.125 ,1 et 1.5 µg/ml**)
- ✦ Pour le céfotaxime **22/25** souches étaient sensibles ; dont **5** souches ont été isolés du LCR (les valeurs de CMI étaient comprises entre **0,04 et 0,19 µg/ml**).En revanche **3** souches isolés d'otite ont eu des valeurs plus élevées **1,5 µg/ml** pour chaque souche (sensibilité intermédiaire).
- ✦ La CMI à l'imipénème a été rarement déterminée ; **2** souches étaient non sensible avec une CMI de **0,25 µg/ml** (isolés d'otite et de méningite).

VI.3.3. Résistance associée et multi résistance des souches PSDP:



PEN : pénicilline, ERY : érythromycine, TET : tétracycline, SXT : Cotrimoxazole, CM : Clindamycine.

Figure 37 : Résistance associée et multi-résistance du *S.pneumoniae*

Nous remarquons différents phénotypes de résistance qui sont tous associés à une diminution de la sensibilité à la pénicilline, l'érythromycine et le cotrimoxazole sont les plus souvent associés avec la pénicilline : **9/15** pour l'érythromycine et **7/15** pour le cotrimoxazole.

La multi résistance est définie chez le pneumocoque par la résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques. Elle est observée dans **9/15** souches, une seule souche associant les 4 familles : B-Lactamines, macrolides, les cyclines, et les sulfamides. (PEN+SXT+ERY+TET) et 8 associant 3 familles d'antibiotique . .

La fréquence des souches cumulant la résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques est indiquée sur la figure.

CHAPITRE VII : DISSCUSSION

Les infections à *Streptococcus pneumoniae* demeurent une cause majeure de morbidité et de mortalité mondiale chez l'enfant et l'adulte. L'apparition des souches de *Streptococcus pneumoniae* résistantes aux antibiotiques est de plus en plus fréquemment rapportée et présente de nouveaux défis pour le traitement et la prévention.

Nous avons étudié l'implication du pneumocoque dans les infections invasives et non invasives, dont le diagnostic bactériologique est effectué au niveau de l'unité de microbiologie du CHU –BLIDA unité Frantz- Fanon ainsi que le profil de sensibilité aux antibiotiques.

➤ **Epidémiologie des infections à pneumocoque :**

Durant la période d'étude ; **2131** bactéries ont été isolées de différents prélèvements, sur lesquelles **59** soit **02,76 %** souches de pneumocoque ont été identifiées.

Les infections non invasives ont été diagnostiquées dans **57,62%** des cas et les infections invasives dans **42,38%** des cas. Cette répartition est à l'encontre des taux rapportés par Tali Maamar et al (**194**) et Marzouk et Al (**132**) où *le s.pneumoniae* était plus responsable d'infections invasives.

➤ **Répartition saisonnière :**

Les infections pneumococciques surviennent particulièrement en période hivernale :

Les publications françaises indiquent que les infections à pneumocoques prédominent à la saison froide, à cause du recrutement important de pneumopathies (**118**) .

Les travaux d'Abla Haceni montrent aussi un taux élevé des infections à pneumocoque en hiver et en printemps qui est de **68% (3)** .

Le même constat a été observé dans notre travail avec un taux de **62%**, cela est dû au recrutement important d'OMA pendant la saison froide au cours de notre période d'étude.

➤ **Infection non invasives :**

57,62% des infections diagnostiquées durant notre travail sont des infections non invasives (OMA).

• **Le sexe :**

Nos résultats montrent une prédominance masculine. Selon Andrew et al, le sexe masculin est un facteur de risque important pour développer l'OMA au cours de la première année de vie (**167**) .

- **L'âge :**

Selon Chonmaitree et al et Falup-Pecurariu et al, l'OMA pneumococcique touche un cas sur deux les nourrissons âgés d'un an. Des résultats similaires ont été observés dans notre travail ou **50%** des OMA sont survenus chez les nourrissons âgés de moins de 18 mois (**63,148**) .

Ceci est en relation d'une part avec l'anatomophysiologie du conduit auditif des nourrissons dont leurs trompes d'eustache sont plus courtes et qui sont situées dans un plan plus horizontal que celles des adultes et d'autre part les enfants contractent plus d'infections virales que les adultes (**137**).

- **Place du pneumocoque dans l'OMA :**

Les principales bactéries responsables d'OMA purulente de l'adulte et de l'enfant de plus de 3mois sont : *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* non typable avec une fréquence d'isolement presque identique et moins fréquemment *Moraxella catarrhalis*.

Les mêmes données épidémiologiques sont retrouvés dans plusieurs études, la prédominance de *S.pneumoniae* ou d'*haemophilus infleunzae* est différente selon le programme de vaccination de chaque pays.

En Algérie, le *S.pneumoniae* représente la deuxième cause d'OMA (**141**) .

D'après nos résultats, *S.pneumoniae* représente seulement **3,53%** des étiologies bactériennes des otites diagnostiquées au niveau du laboratoire de microbiologie. Il occupe la 6eme place suivi d'*Haemophilus influenzae*.

Ces résultats sont incomparables aux études faites précédemment, puisque les critères inclus étaient différents. Toutefois, en analysant les taux obtenus dans notre étude on a pu conclure que le *S.pneumoniae* est plus identifié par rapport à l'*Haemophilus* dans l'OMA et que les 4 familles prédominantes dans notre étude (Entérobactéries **29,44%**, Pseudomonas 20,81 Staphylocoques **18,93%**) ont été identifiées dans des otites externes ou chroniques.

Sachant qu'en pratique , les prélèvements à visée microbiologique sont effectués soit lors d'une paracentèse généralement systématique avant l'âge de 3 mois ou effectuée après un échec d'un traitement conventionnel probabiliste préalable de 72 heures ou chez un immunodéprimé, de ce fait pour une bonne estimation de la place du pneumocoque dans l'OMA ,il faut que les données cliniques soient bien précises.

- **Impact du PCV-13 sur l'épidémiologie de l'OMA :**

Une diminution des taux d'OMA pneumococcique a été rapporté dans des études européennes après l'homologation du PCV 13 en 2010 (de **37,3%** en 2011 à **7,3%** en 2015 en France et **39,3%** en 2006 à **25,4 %** en 2016 au Royaume –Uni) (**58,131**). Une diminution est

remarquée durant notre étude ; les otites à pneumocoque ont significativement baissé après l'an 2016 (**4,54%** en 2013 à **2,86%** en 2017). Ceci est probablement dû à l'instauration du vaccin PCV-13 dans le calendrier vaccinal algérien, mais comme le vaccin est récemment introduit, l'impact de ce dernier sera mieux apprécié ultérieurement (dans 5 à 10 ans) et par des données de surveillance de meilleure qualité (sérotypage).

➤ Infections invasives

- **Le sexe :**

Beaucoup d'études montrent une prédominance masculine légère ou importante chez les patients souffrants d'infection invasive à pneumocoque.

Ramdani bouguessa qui a étudié les infections pneumocociques chez l'enfant, le sexe ratio garçon-fille était de **1,27. (141)**

Abla Hecini dont le travail s'est articulé sur les infections invasives à pneumocoque chez l'enfant et l'adulte, le sexe- ratio homme -femme était de **2,8 (3)** .

Cependant l'étude de Backhaus et al en Suède, trouve que 52% des infections invasives à pneumocoques sont retrouvés chez des patients de sexe féminin, le sexe –ratio femme-homme était de **1,04 (59)** .

Nos résultats montrent une prédominance de sexe masculin avec **64%**, le sexe –ratio homme femme est de **1,7**, et qui sont similaires a celles déjà trouvé par Ramdani bouguessa et Abla Hecini.

- **L'âge :**

Selon l'OMS, la répartition par âge de l'atteinte pneumococcique invasives met en évidence une prédominance aux deux extrémités de la vie qui est un facteur prédisposant de l'infection (**225**) .

Luciano César et al (2013) ont noté une incidence élevée de la méningite à pneumocoque chez les enfants de moins de 5 ans (**82**) .

Même résultat en Chine où *S.pneumoniae* était le plus responsable des méningites bactériennes chez les enfants âgés de 29 jours à 1an avec un pourcentage de **73,33% (180)**.

L'équipe du CHU Benbadiss Constantine rapporte que les infections invasives à pneumocoques sont observées à tout âge (**3**) .

Contrairement à ces études, le taux des infections invasives à pneumocoques à l'hôpital Frantz -fanon est élevé chez l'adulte dont la tranche d'âge est comprise entre 18 et 40 ans (**60%**) .

- **Place du pneumocoque dans les infections invasives :**

-Méningite :

Trois agents pathogènes dominent l'étiologie des méningites bactériennes communautaires : *N.meningitidis*, *H.influenzae* b et *S.pneumoniae*.

Aux Etats-Unis et en France ; la bactérie pathogène la plus commune dans les cas de méningite signalés est le pneumocoque suivi du méningocoque (172) .

À Cuba, Pérez et al ont rapporté des taux de méningite pneumococcique similaires à ceux décrits aux Etats unis. Cette dominance peut être expliquée par les campagnes périodiques de vaccination anti-méningococcique (82) .

Alors qu'au Brésil et en Tunisie, les méningites à *S. pneumoniae* occupent la deuxième étiologie des méningites bactériennes après le méningocoque en Brésil et après l'Heamophilus en Tunisie (82,17) .

En Algérie, Selon le rapport d'AARN (2016), le pneumocoque occupe la deuxième place dans les méningites bactérienne avec **93** cas après le *Pseudomonas aeruginosa* (193) .

Ces conclusions ne sont pas cohérentes avec nos résultats où le pneumocoque est dans le dernier rang des étiologies des méningites bactériennes avec un pourcentage de **3,23**. Cette contradiction s'explique par le fait que l'unité Frantz- Fanon ne dispose pas d'un service infectieux et d'un service de pédiatrie qui traite les méningites communautaires ; par conséquent la majorité des méningites diagnostiquées sont secondaire à des actes chirurgicaux. Les méningites communautaires sont rarement diagnostiquées et dont la découverte est fortuite.

-Pneumonie :

En Europe, *S. Pneumoniae* est l'agent causal le plus fréquent des pneumonies, des taux élevés de **45 à 58%** ont été rapportés en Belgique, Italie et en Angleterre. (129, 148, 86)

Au Gabon, *S pneumoniae* était l'agent pathogène le plus répandu signalé à **35%**, le diagnostic de pneumonie peut être sous-estimé car le paludisme et la pneumonie sévère chez les jeunes enfants hospitalisés présentent des similitudes cliniques. (112)

En Algérie, le pourcentage de pneumocoque dans les prélèvements des voies respiratoires basses (pneumopathie) chez les patients hospitalisés en 2016 est de **4,01%** selon l'AARN. (193)

Dans notre étude aucun cas de pneumonie n'a été observé de 2013 à 2015 cela est dû au recrutement limité des prélèvements d'origine pulmonaire qui est dû à son tour à l'absence de service de pneumologie (service de l'EPH –BLIDA). Par ailleurs à partir de 2016 le

nombre de cas a augmenté ,8 cas provenant essentiellement du service de réanimation médical polyvalente (inauguré le 1 mai 2015). **5/8** cas de pneumonie sont survenu chez des patients ventilés ou intubés (acte invasif) ,48h après l'admission en réanimation et comme le *S.pneumoniae* fait partie de la flore commensal des voies respiratoires et il était isolé seul dans la majorité des cas , on suggère que ces patients ont développé une infection à caractère nosocomial d'origine endogène.

D'autre part, l'identification bactériologique de pneumocoque à partir d'un prélèvement d'origine pulmonaire est sous –estimé car les cliniciens traitent de façon empirique les cas de pneumonie aigue par une antibiothérapie qui cible le pneumocoque, cela explique le faible taux observé dans les rapports d'AARN et dans notre travail. .

-Bactériémie :

En Afrique un taux relativement élevé de **18,3%** de bactériémie à *S. pneumoniae* est observé et qui est censé être évité par la vaccination, cela est dû à la mauvaise utilisation et la non surveillance de cette dernière. **(54)**

Contrairement aux pays européens et américains où l'incidence rapportée est beaucoup plus faible notamment en période post –vaccinale. **(58, 65, 96)**

En Algérie ; selon les rapports d'AARN ; la prévalence de pneumocoque est de 1,8 % de toutes les bactéries isolées en hémoculture, ce faible taux est similaire à nos résultat (1%) et à ceux observés dans les pays développés malgré l'instauration récente de la vaccination. **(193)**

Comme la bactériémie est produite fréquemment chez les personnes ayant des facteurs prédisposant principalement les maladies respiratoires, il est possible que les taux étudiés soient sous –estimés, car la majorité des maladies respiratoires accompagnées de syndrome fébrile sont traitées avec des antibiotiques sans obtenir de cultures sanguines. **(65)**

Quelques rapports de cas d'endocardite pneumococcique sont documentés **(104)**. Le *S.pneumoniae* est rarement associé à l'endocardite infectieuse 1-3% des cas d'adultes et **3-5%** des cas chez les enfants **(116)**

Durant notre étude on a constaté **2** cas d'endocardite pneumococcique parmi les bactériémies recensées. Ces infections sont inhabituelles mais comportent souvent de graves complications parfois même mortelles. Cela souligne l'importance d'un diagnostic précoce et d'un traitement approprié des endocardites causées par ce germe.

➤ **Résistance aux antibiotiques :**

• **Taux de PSDP :**

S. pneumoniae est resté uniformément sensible à la pénicilline pendant plus de 25 ans d'utilisation de cet antibiotique. Depuis la découverte des souches de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline aucun continent n'a été épargné.

Selon les normes du CLSI 2011 (CMI < **0,06** µg/ml sensible et CMI > **0,12** µg/ml non sensible) **80%** des souches isolées durant notre étude sont des PSDP .Les souches résistantes (CMI > **2** µg /ml) sont peu fréquentes (**2/12**) quant aux souches intermédiaires 10/12 leurs CMI sont comprises entre **0,125** et **1.5** µg/ml.

Un taux plus faible de PSDP (**25 %**) a été observé par aux États-Unis, de même à Moscou (**28%**), en Croatie (**23%**), en France **25,7%**, et au Maroc (**21.5%**). (**29, 143, 134, 58, 221**)

Un taux relativement équivalent est observé dans les pays avoisinant ; Tunisie (**75%**) et Nigeria (**82%**). (**69,190**)

Les quatre principales études faites en Algérie notent un taux de PSDP qui ne cesse d'augmenter ; **25,2%** en 2012 (**194**), **57%** en 2014 (**3**), **48%** en 2015 (**141**) et **66,7%** de PSDP isolés de méningites et **80%** des PSDP d'isolats non méningées en 2016. (**75**)

Nos résultats concordent avec les rapports antérieurs en Algérie, de la Tunisie et de Nigeria, cependant ils sont nettement plus élevés par rapport aux autres pays ; probablement en raison d'absence d'effet de la vaccination qui était introduite récemment dans le programme national de vaccination en Algérie et au Nigeria (instauré en 2016) et l'absence de ce denier du calendrier vaccinal tunisien.

Les taux obtenus étaient plus élevés dans les infections autres que la méningite, probablement en raison de l'utilisation importante des betalactamines dans le traitement des infections respiratoires ou urinaires en Algérie.

• **Résistance associée et multirésistance des souches PSDP:**

Nous notons que toutes les souches de sensibilité diminuée à la pénicilline PSDP ont présenté une résistance à d'autres classes d'antibiotique principalement à l'érythromycine et au cotrimoxazole. et une seule souche multirésistante a été isolée, associant 4 familles d'antibiotiques : B-Lactamines, macrolides, les cyclines, et les sulfamides.

Nos résultats concordent avec les études algériennes précédentes en prenant en compte le petit effectif qu'on avait dans notre échantillon. (**194, 3**)

La transformation génétique est très probablement responsable de l'acquisition de nouveaux gènes de résistance aux antibiotiques conduisant l'apparition d'isolats cliniques présentant des résistances multiples aux antibiotiques.

De plus ; il a été démontré que les antibiotiques constituaient des inducteurs directs du mécanisme de compétence chez le pneumocoque, confirmant que la pression de sélection qu'ils exercent contribue aux transferts horizontaux de gènes, et donc à l'émergence de multirésistance. (259)

- **Résistance aux autres β -lactamines :**

Quant à la sensibilité diminuée aux autres bêta-lactamines, une bonne sensibilité de pneumocoque envers la C3G et l'amoxicilline est observée dans différents pays : Nigeria (69) Brésil(88), et aux Etats –unis. (29)

Au Japon, une diminution significative après l'introduction du vaccin a été remarquée alors qu'en Inde une augmentation inattendue a été observée après la vaccination. (191, 195)

En Tunisie, La fréquence des souches non sensibles est élevée dans les infections invasives de l'enfant, **11,4 %** et **5,7 %** des souches sont respectivement de sensibilité diminuée à l'amoxicilline et au céfotaxime. (187)

En France, les plus hauts taux de résistance à l'amoxicilline et au céfotaxime ont été observés en 2009, malgré l'introduction du PCV7, on compte **16 %** de souches de sensibilité diminuée (CMI > **0,5** $\mu\text{g/ml}$) et **0,6 %** de souches résistantes (CMI > **2** $\mu\text{g/ml}$) à l'amoxicilline et **8 %** de souches de sensibilité diminuée au céfotaxime (CMI > **0,5** $\mu\text{g/ml}$). (47)

Selon Les données nationales, une évolution de la résistance est observée dans la chronologie des études, nous observons l'absence de sensibilité diminuée à l'amoxicilline et au céfotaxime en 2002 (203). en 2012, la fréquence de sensibilité diminuée au cefotaxime a atteint **4,2 %**. (194)

L'équipe de Constantine en 2014 rapporte une résistance élevée de **9 %** pour l'amoxicilline et de **8 %** pour le céfotaxime sans haut niveau de résistance. (3)

Dans notre étude ; la totalité des souches étudiées sont sensibles à l'amoxicilline 100% et 88% au céfotaxime. L'amoxicilline a gardé son indication pour le traitement des infections pneumococciques autre que la méningite. Pour les infections invasives principalement la méningite, le choix de C3G (céfotaxime) comme traitement de première ligne serait plus sage à cause de sa bonne diffusion dans le (LCR). Néanmoins les CMI doivent être mesurées en cas d'infection sévère ou d'échec clinique car des souches de sensibilité diminuées ont été signalées dans certains pays.

- **Résistance aux macrolides :**

La résistance aux macrolides reste préoccupante, *S.pneumoniae* a longtemps montré une sensibilité vis-à-vis des macrolides. Les taux de résistance aux macrolides ont augmenté dans le monde entier, mais ils varient beaucoup d'un pays à l'autre.

Cette augmentation est due à la surconsommation de ces molécules dans les infections respiratoires. (85)

Nous constatons que plus de la moitié des souches de *S.pneumoniae* isolées dans notre étude présente une résistance à l'érythromycine, un taux très élevé comparé à ceux retrouvés dans d'autres études algériennes qui sont de l'ordre (31%), (22%). (194,3)

- **Résistance au cotrimoxazol :**

Le taux de résistance au cotrimoxazole est élevé dans la présente étude (54%), des taux similaires ont été observés dans d'autres études algériennes récentes 45% (194) et aussi 51% (3) alors que des taux de résistance à cet antibiotique très bas, sont rapportés en 1994 (8 %). (189)

- **Résistance à la vancomycine et à la lévofloxacine :**

La vancomycine et la lévofloxacine montrent 100 % d'efficacité dans notre étude. La vancomycine n'est pas recommandée en monothérapie dans les méningites et les fluoroquinolones sont rarement utilisés dans le traitement des pneumopathies communautaires en Algérie. Ces deux molécules peuvent être utilisées comme alternatives dans les infections à pneumocoques multirésistants, mais l'utilisation des fluoroquinolones pourrait causer la sélection de clones résistants à ces antibiotiques dès leur utilisation, situation observée à Hong-Kong (82). D'un autre côté, l'utilisation de ces antibiotiques pourrait entraîner la sélection de bacilles tuberculeux résistants, situation observée en Afrique du sud. (202)

Difficultés et limites :

Cette étude a été restreinte par plusieurs limites :

-Le manque de documentation au CHU Blida unité Hassiba ben Bouali, nous a empêché d'élargir le spectre d'étude sur les méningites et les bactériémies communautaires chez les enfants.

-La disponibilité d'un coffret de sérotypage aurait permis d'évaluer la situation des sérotypes pneumococciques prédominants au niveau de notre établissement, de même la période d'étude qui était insuffisante pour apprécier l'impact de la vaccination (PCV-13)

-D'autre part, la conservation de toutes les souches de *S. pneumoniae* aurait permis de compléter les tests de sensibilité aux antibiotiques des 59 souches de pneumocoque isolées.(Annexe XVI)

-En outre, en raison du manque de réactif (bouillon Muller Hilton ajusté en cation et additionné du sang de cheval défibriné), nous n'avons pas pu réaliser le test CMI en milieu liquide.(Annexe XVII)

CONCLUSION :

Le pneumocoque est toujours responsable d'une charge importante des infections invasives et non invasives dans le monde.

Au terme de ce modeste travail, nous avons constaté que le diagnostic bactériologique au niveau du laboratoire de microbiologie de l'établissement, ne reflète pas l'état réel des infections pneumococciques communautaires, une collaboration clinicien –microbiologiste est nécessaire pour la surveillance et le suivi des infections à *S.pneumoniae*.

Un fait surprenant détecté dans notre étude était la contribution du pneumocoque aux infections liées aux soins, qui pourrait être évité par des mesures simples grâce à un ensemble de protocoles adaptés lors de la réalisation des actes invasifs (intubation et ventilation).

L'évolution de la résistance et l'émergence de souches multi résistantes, souligne la nécessité de la surveillance constante de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques ainsi que le contrôle de la consommation des antibiotiques en rationalisant leurs prescriptions pour éviter l'échec du traitement.

Ce travail fournit une plate-forme pour une future évaluation de l'impact de l'initiation du vaccin PCV13 dans l'épidémiologie de la maladie, y compris les sérotypes circulants.

REFERENCES

1. BIBLIOGRAPHIE

1-A. Canua, R.Leclercq: Les macrolides: une diversité de mécanismes de résistance Macrolides:, Rev Médecine et Maladies Infectieuses Volume32, Supplement 1, March 2002, Pages 32-44

2-A. Eyquem J.alouf et al: traité de microbiologie Clinique 2000

3-Abla HECINI- HANNACHI:Streptococcus pneumoniae dans les infections invasives : identification, résistance aux antibiotique et sérotypage thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences En Microbiologie Appliquée 2014 Université Constantine I

4-Alane Izu, Fatima Solomon, Susan A Nzenze, Azwifarwi Mudau, Elizabeth Zell et al:Pneumococcal conjugate vaccines and hospitalization of children for pneumonia: a time-series analysis, South Africa, 2006–2014, by OMS juin 2017; 95:618-628.

5-Aliou Thiongane, Aliou Abdoulaye Ndongo, Idrissa Demba: Syndrome hémolytique et urémique de l'enfant au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Dakar: à propos de quatre observations, Pan African Medicine Journal. 2016; 24: 138.

6-Anand Manoharan Vikas Manchanda Sundaram Balasubramanian Sanjay Lalwani: Invasive pneumococcal disease in children aged younger than 5 years in India: a surveillance study of infectious disease March 2017, Pages 305-312

7-Andres Rosenblut, Carla Napolitano, Angelica Pereira, Camilo Moreno: Etiology of acute otitis media and serotype distribution of Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae in Chilean children <5 years of age 96(6):e5974 · February 2017

8-Andres Rosenblut, Carla Napolitano, Angelica Pereira, Camilo Moreno, Devayani Kolhe and Eduardo Ortega-Barria: Etiology of acute otitis media and serotype distribution of Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae in Chilean children <5 years of age

9-Aquino Albino Nhantumbo et al:Surveillance of impact of PCV-10 vaccine on pneumococcal meningitis in Mozambique, Plos one june 2017 12(6):e0177746

10-Austrian R: A brief history of pneumococcal vaccines. 1999

11-Avril Jroundi, Mahraoui, Benmessaoud R, Moraleda : Transport de Streptococcus pneumoniae chez des patients pédiatriques sains et malades avant la généralisation du vaccin antipneumococcique 13-valent au Maroc de 2010 à 2011. Mars 2017

12-B. Barry et al:Facteurs infectieux et non infectieux des otites et des sinusites – Rev Antibiotiques Volume 7, Issue 4, December 2005, Pages 219-223.

13-Barbara D. Porter, Belinda D. Ortika, Catherine Satzke: Capsulaire sérotypage Streptococcus pneumoniae by Latex Agglutination 2014.

14-Barichello T, Collodel A, Generoso JS, Simões LR: Targets for adjunctive therapy in pneumococcal meningitis J Neuroimmunol. Jan 15 2015; 278:262-70.

15-Bautista-Márquez A et al:Prevalence of pneumococcal disease, serotype distribution, and antimicrobial susceptibility in Mexican children younger than 5 years of age. Archive Medical Res. Feb 2013; 44(2):142-50 Epub 2013 Jan 4.

- Belinda D Ortika, Maha Habib, Eileen M Dunne, Barbara D Porter and Catherine:**
Production of latex agglutination reagents for pneumococcal serotyping BMC Res Notes. 2013;
6: 49.<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3570367/>
- 16- Benbachir M, Benredjeb S, Boye CS, et al:** Two-year surveillance of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* in four African cities. Rev Antimicrobial Agents Chemotherapy 2001; 45: 627- 9.
- 17- Bernard S. Kaplan:** *Streptococcus pneumoniae* -associated hemolytic uremic syndrome. Pediatric Nephrology August 2000, Volume 14, Issue 10–11, pp 985–989
- 18- BURNICHON Nelly et al :** L'ANTIBIOGRAMME : LA DETERMINATION DES SENSIBILITES AUX ANTIBIOTIQUES TEXIER Anthony Exposé du 20 juin 2003
- 20-C. Bertelli, G. Greub:** Rapid bacterial genome sequencing: methods and applications in clinical microbiology September 2013 Volume 19, Issue 9, Pages 803–813
- 21-C. Janoir a, b, E. Varon:**221- Infections à pneumocoques, EMC - Maladies infectieuses 2014; 11(3):1-17 [Article 8-012-A-10].
- 22- Calvin C. Daniels, PhD, PharmD, P. David Rogers, PharmD, PhD and Chasity M. Shelton, PharmD:** - A Review of Pneumococcal Vaccines: Current Polysaccharide Vaccine Recommendations and Future Protein Antigens, J Pediatric Pharmacology Therapy. 2016 Jan-Feb; 21(1): 27–35.
- 23- Caroline Bergenfelz & Anders P Hakansson et al:** *Streptococcus pneumoniae* Otitis Media Pathogenesis and How It Informs Our Understanding of Vaccine Strategies, Rev PEDIATRICS: OTITIS MEDIA IN CHILDREN 2017 pages: 115–124.
- 24- Carolyn Mariona,b, Jason M. Stewart, Mia F :** *Streptococcus pneumoniae* Can Utilize Multiple Sources of Hyaluronic Acid for Growth janvier 2012
- 25- Catherine Nowak, Lei Tanaka, Serge Bobin et al:** The infections of the ear, La Presse Médicale novembre 2017 Doi : 10.1016/j.lpm.2017.09.015 .
- 26- Catherine Weil-Olivier et al:** Prevention of pneumococcal diseases in the post-seven valent vaccine era: A European perspective, BMC Infect Dis. 2012; 12: 207.
- 27- Catia Cilloniz, Antoni Torres:** Pneumococcal disease: Epidemiology and new vaccines | Page: 35-43 Dec 2014
- 28- Catia Cilloniz, Ignacio Martin-Loeches, Carolina Garcia-Vidal, Alicia San Jose et Antoni Torres:** Microbial Etiology of Pneumonia: Epidemiology, Diagnosis and Resistance Patterns 2016 décembre; 17 (12): 2120.
- 29- Cheryl P. Andam, Colin J. Worby, Ryan Gierke, Lesley McGee, Tamara Pilishvili, and William P. Hanage:** Penicillin Resistance of Nonvaccine Type *Pneumococcus* before and after PCV13 Introduction, United States 2017 Jun; 23(6): 1012–1015.
- 30- Christelle Sordeta Julien Cohen-Solala Véronique Remy b Rose-Marie :** Infections ostéoarticulaires à *Streptococcus pneumoniae* chez l'adulte immunocompétent : à propos de deux observations Bone and joint infection due to *Streptococcus pneumoniae* in two immunocompetent adults, Revue du Rhumatisme Volume 73, Issue 5, May 2006, Pages 513-516.

31- Clothilde Manzano : Caracterisation structurale et fonctionnelle des composants du pilus de *Streptococcus pneumoniae* : vers une meilleure compréhension de la biogenèse des pili. Thèse préparée au Laboratoire des Protéines Membranaires (LPM) de l'Institut de Biologie 2010

32- Cohen, Robert MD et al: Impact of Pneumococcal Conjugate Vaccine and of Reduction of Antibiotic Use on Nasopharyngeal Carriage of Nonsusceptible Pneumococci in Children With Acute Otitis Media, the pediatric infectious disease journal November 2006 -Volume 25 - Issue 11 Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2017 Richard bonnet, Jean Pierre BRU François Caron et al (livre) -144

33- Contreras CL, Verani JR, Lopez M et al: Incidence of Hospitalized Pneumococcal Pneumonia among Adults in Guatemala, 2008-2012. Plos One 10/2015; 10(10):e0140939.

34- COURVALIN Patrice, LECLERCQ Roland:Antibiogramme 3e édition Relié – 3 janvier 2012

35-Cristina Cariello: LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE MALDI-TOF ET LE DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE 2012 (thèse)

36-D Bogaert: *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to Pneumococcal disease, infection disease Volume 4, No. 3, p144–154, March 2004

37-D.Raoult: Manuel de prélèvement 2013

38- Damien Dubois, corresponding author, Christine Segonds , Marie-Françoise Prere , Nicole Marty and Eric Oswald: Identification of Clinical *Streptococcus pneumoniae* Isolates among other Alpha and Nonhemolytic Streptococci by Use of the Vitek MS Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry System 2013 Jun; 51(6): 1861–1867.

39- Daniel Lévy-Bruhl: L'épidémiologie des maladies à prévention vaccinale en 2017 Mars 2017

40- Daniel M. Weinberger, PhD, Zitta B. Harboe, MD and Eugene D. Shapiro:Developing Better Pneumococcal Vaccines for Adults 2017 Mar 1; 177(3): 303–304.

41- David R. Murdoch, Trevor P. Anderson, Kirsten A. Beynon, Alvin Chua and Lance C. Jennings: Evaluation of a PCR Assay for Detection of *Streptococcus pneumoniae* in Respiratory and Nonrespiratory Samples from Adults with Community-Acquired Pneumonia 2003 Jan; 41(1): 63–66.

42- Deirdre A. Collins, Follow Anke, Hoskins Thomas, Amanda J. Leach: Predictors of pneumococcal carriage and the effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccination in the Western Australian Aboriginal population 2013

43- Dilruba Nasrin, a Peter J Collignon, Leslee Roberts, fellow, a Eileen J Wilson: Effect of β lactam antibiotic use in children on pneumococcal resistance to penicillin: prospective cohort study 2002 Jan 5; 324(7328): 28.

44- Dinanibè Kambiré , Heidi M. Soeters , Rasmata Ouédraogo-Traoré et al: Nationwide Trends in Bacterial Meningitis before the Introduction of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine—Burkina Faso, Journal of Infection Volume 76, Issue 3, March 2018, Pages 270-279

45- Direction generale de la sante, comité technique de vaccination- guidedes vaccination 'eme edition 2012 saint-denis :488P

46- DuvalX: méningite bactérienne communautaire de l'adulte à l'exception de méningite tuberculeuse 2015.

- 47-E. Varon:** Pneumococcal invasive disease in France: Trends in antibiotic resistance and serotype distribution, *Journal des Anti-infectieux* (2011) 13, 201—208
- 48- ECN.PILLY 2018 5°eme edition:**maladies infectieuse et tropicales
- 49- Eileen M. Dunne, Eng Kok Ong, Ralf J. Moser, Peter M. Siba and Catherine Satzke:**Multilocus Sequence Typing of *Streptococcus pneumoniae* by Use of Mass Spectrometry 2011 Nov; 49(11): 3756–3760.
- 50- El Mdaghri N, Jilali N, Belabbes H, Jouhadi Z, Lahssoune M, Zaid S:** Epidemiological profile of invasive bacterial diseases in children in Casablanca, Morocco: antimicrobial susceptibilities and serotype distribution.*Rev East Mediterranean Health* 2012 Nov;18(11):1097-101.
- 51- Eliane Küng, William R. Coward, Daniel R. Neill et al:** The Pneumococcal Polysaccharide Capsule and Pneumolysin Differentially Affect CXCL8 and IL-6 Release from Cells of the Upper and Lower Respiratory Tract, *journal of PLOS* March 24, 2014
- 52- Elita Jaunekaite Anna S.Tocheva Johanna M.C.Jefferie Rebecca:** Current methods for capsular typing of *Streptococcus pneumoniae* June 2015, Pages 41-49
- 53- Elita Jaunekaite, Zareena Khan-Orakzai, Georgia Kapatai , Susannah Bloch c :**Nosocomial Outbreak of Drug-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Serotype 9V in an Adult. *Respiratory Medicine Ward* dec 2016
- 54- Elizabeth A Reddy et al:** Les infections sanguines d'origine communautaire en Afrique: une revue systématique et une méta-analyse, *The Lancet Infection Disease*. 2010 juin; 10 (6): 417-432.
- 55- Elizabeth A Reddy, Andrea V Shaw, and John A Crump:** Community-acquired bloodstream infections in Africa: a systematic review and meta-analysis 2010 Jun; 10(6): 417–432.
- 56- Elyse Poitras et Alain Houde:**La PCR en temps réel: principes et applications 2 December 2002. Pp.2-11
- 57- Emina Karcic, Mufida Aljicevic, Sabaheta Bektas and Bekir Karcic:** Antimicrobial Susceptibility/Resistance of *Streptococcus Pneumoniae* *Mater Sociomed*. Jun 2015; 27(3): 180–184.
- 58- Emmanuel Varon et Claire Janoir:**Rapport d'activité (CNRP 2016)
- 59- Erik Backhaus et al:**Epidemiology of invasive pneumococcal infections: manifestations, incidence and case fatality rate correlated to age, gender and risk factors, *BMC Infectious Disease* 2016; 16: 367.
- 60- Erik Backhaus, Stefan Berg, Rune Andersson, Gunilla Ockborn and Birger:** Epidemiology of invasive pneumococcal infections: manifestations, incidence and case fatality rate correlated to age, gender and risk factors *Trollfors* 2016; 16: 367.
- 61- Esther González-Escartún, Itziar Angulo López:** Pneumococcal meningitis in Cantabria (Spain) in the pneumococcal conjugate vaccine era (2001-2015) *April* 2017; 115(2):160-164.
- 62-F. de Vos , Mark C. Dessing , Adriana J, Sandrine Florquin, Onno J. de Boer, Regina de Beer et al :**The Polysaccharide Capsule of *Streptococcus pneumoniae* Partially Impedes MyD88-Mediated Immunity during Pneumonia in Mice *Alex, journal of PLOS* February 20, 2015

- 63- Falup-Pecurariu et al:**Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania, 2009-2011: microbiological characteristics and potential coverage by pneumococcal conjugate vaccines. *Rev Infectious Disease*. 2013 Sep;17(9):e702-6
- 64- Fatima BOUKIND:**Bacteriemie a streptococcus Pneumonia in Agadir, these Pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie
- 65- Fernando Cobo et al:** 5- La bactériémie à *Streptococcus pneumoniae*: épidémiologie clinique et microbiologique dans une zone de santé du sud de l'Espagne, *rev Infection Disease Report*. Avr 27 2012; 4 (2): e29.
- 66- François Jehl, Jacque Tankovic et al:**De l'antibiogramme à a prescription editon B comerieux oct 2012
- 67- Fritz H. Kayser, M.D, Kurt A. Bienz, Ph.D.:** Medical Microbiology 2005
- 68-G. John Gibson, Robert Loddenkemper, Bo Lundbäck, and Yves Sibille:**Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book, *JournalEuropean Respiratory Journal* 2013, 42: 559-563.
- 69- Garba Ilyasu, Abdulrazaq G Habib, Mohammad B Amin:** Antimicrobial susceptibility pattern of invasive pneumococcal isolates in North West Nigeria Year: 2015 | Volume: 7 | Issue: 2 | Page: 70-74
- 70- Georgia Kapatai, Carmen L. and Norman K. Fry:**Whole genome sequencing of *Streptococcus pneumoniae*: development, evaluation and verification of targets for serogroup and serotype prediction using an automated pipeline *PeerJ*. 2016; 4: e2477.
- 71- Gladys Sarkis Nabil ElHachem:**Approche manuelle de l'otite moyenne *Rev* 2012;12(132):12–17
- 72- Godwin harun:**Nigeria: Pneumonia - Children's Silent Killer. 8 MAY 2014
- 73- Gretchen Holm:** Pneumococcal Meningitis <https://www.msn.com/health/2016/01/27/pneumococcal-meningitis> Medically reviewed by Jeanne Morrison, PhD, MSN helthline on January 27, 2016
- 74- Habib Farooqui, Mark Jit, David L. Heymann and Sanjay Zodpey et al:** Burden of Severe Pneumonia, Pneumococcal Pneumonia and Pneumonia Deaths in Indian States: Modelling Based Estimates, in *PLoS ONE* 10(6):e0129191 · June 2015
- 75- Hanifa Ziane, Vera Manageiro, Eugénia Ferreira, Inês B. Moura, Soumia Bektache and Manuela Caniça :** Serotypes and Antibiotic Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* Isolates from Invasive Pneumococcal Disease and Asymptomatic Carriage in a Pre-vaccination Period, in Algeria, *Antimicrobials, resistance and chemotherapy* 14 June 2016
- 75- Hanifa Ziane, Vera Manageiro, Eugénia Ferreira, Inês B. Moura and Manuela Caniça :** Serotypes and Antibiotic Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* Isolates from Invasive Pneumococcal Disease and Asymptomatic Carriage in a Pre-vaccination Period, in Algeria *Front Microbiol*. 2016; 7: 803.
- 76- Helena Alpkvist, Simon Athlin, Pontus Naucér, and Kristoffer Strålin et al:**Clinical and Microbiological Factors Associated with High Nasopharyngeal Pneumococcal Density in Patients with Pneumococcal Pneumonia, *journal of PLOS* 2015, 10(10): e0140112
- 77- Henrichsen J et al:** 219-Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1995; 33(10): 2759- 62.

- 78- Henriques-Normark B1, Tuomanen EI:** The pneumococcus: epidemiology, microbiology, and pathogenesis, Cold Spring Harb Perspect Med. 2013 Jul 1; 3(7).
- 79- Hernán A. Iannella, MD, FCCPI Carlos M. Luna:**Community-Acquired Pneumonia in Latin America 2016; 37:868–875
- 80- Hervé O. Zender, Philippe Olivier, Daniel Genné:** Méningites bactériennes communautaires aiguës chez l'adulte, Rev Medicine Suisse 2009, volume 5. 1968-1974
- 81- Hicham Chemsî, Maryama Chadli et Yassine Sekhsokh:**Pneumococcal arthritis in an immunocompetent adulte, African Medicine Journal. 2015; 21: 139.
- 82- Ho PL, Que TL, Chiu SS, et al:**Fluoroquinolone and other antimicrobial resistance in invasive pneumococci, Hong Kong, 1995-2001. Emergence Infectious Diseases 2004;10(7): 1250-7
- 83- Hsin-Hang Chen, Hsin-Chieh Li, Lin-Hui Su:** Fluoroquinolone-nonsusceptible Streptococcus pneumoniae isolates from a medical center in the pneumococcal conjugate vaccine era December 2017Volume 50, Issue 6, Pages 839–845
- 84- Huaiqing Chen, Yueyun Ma, Jun Yang, Christopher J. O'Brien, Scott L et al:**Genetic Requirement for Pneumococcal Ear Infection, journal of PLOS August 13, 2008
- 85- Hyde TB, Gay K, Stephens DS, et al:** Macrolide resistance among invasive Streptococcus pneumoniae isolates. Antimicrobial Stewardship 2001; 286(15): 1857-62.
- 86- Iris De Schutter, Anne Vergison, David Tuerlinckx, Marc Raes et al :**Pneumococcal Aetiology and Serotype Distribution in Paediatric Community-Acquired Pneumonia, Journal of PLOSFebruary 18, 2014
- 87-J. Bodilsen L. Larsen, L. Wiese, J. Helweg-Larsen, A.-M. Lebech, C. Brandt:**Infectious meningitis and encephalitis in adults in Denmark: a prospective nationwide observational cohort study, Jan 2018 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.016>
- 88-J. Bras. Patol,Rio de Janeiro:** Jornal Brasileiro de Patologiae Medicina Laboratorial May. /June 2017
- 89-J. Lethuille et al:**Les épanchements pleuraux parapneumoniques : épidémiologie, diagnostic, classification, traitementParapneumonic pleural effusions: Epidemiology, diagnosis, classification and management, Revue des Maladies Respiratoires Volume 32, Issue 4, April 2015, Pages 344-357
- 90-J. Paradisi G. Corti R. Cinelli:**Streptococcus pneumoniae as an agent of nosocomial infection: treatment in the era of penicillin-resistant strains. Clinical Microbial Infection. 201; 7 Suppl 4:34-42.
- 91-J. Raymond et al:**Facteurs influençant le portage de Streptococcus pneumoniaeFactors influencing Streptococcus pneumoniae carriage, Médecine et Maladies Infectieuses Volume 32, Supplement 1, March 2002, Pages 13-20
- 92-J.-P. Stahl:**Méningites aiguës - 22/06/12
- 93- Jae-Hoon Songet al:** Advances in pneumococcal antibiotic resistance Expert. Rev Respiratory Medicine. 7(5), 491–498 (2013)
- 94- James E. Kurz et al:**Otite moyenne aiguë, Rev Médecine interne de Netter, pp.81-86 December 2011.
- 95- Jan Peter Thomas et al:** L'otite moyenne aiguë - une approche structure. Infection – ORL – Pédiatrique 2017

- 96- Jan Peter Thomas, Reinhard Berner, Thomas Zahnert; and Stefan Dazert:** Acute Otitis Media—a Structured Approach 2014 Feb; 111(9): 151–160.
- 97- Jardine, Andrew PhD, Menzies, Robert:** Reduction in Hospitalizations for Pneumonia Associated With the Introduction of a Pneumococcal Conjugate Vaccination Schedule Without a Booster Dose in Australia; The Pediatric Infectious Disease Journal: July 2010 - Volume 29 - Issue 7 - p 607-612
- 98- JC Moïsi, SK Saha , AG Falade , BM Njanpop-Lafourcade , J Oundo , and BD Gessner:** Enhanced diagnosis of pneumococcal meningitis using the Binax NOW® S. pneumoniae immunochromatographic test: a multi-site study 2009 Mar 1; 48(Suppl 2): S49–S56.
- 99- Jean pierre-dedet:** la microbiologie, de ses origines aux maladies emergente –2007 (livre)
- 100- Jean-Pierre Flandrois :** Bacteriologie medicale (presse universitaire) 1997
- 101-J-L Avril, H.Dabernat et al:** bacteriologie clinique 2000 3eme edition Rev Deutsches Arzteblatt International 2014 février; 111 (9): 151-160.
- 102-Joon Young Song, Moon H. Nahm and M. Allen Moseley:** Clinical Implications of Pneumococcal Serotypes: Invasive Disease Potential, Clinical Presentations, and Antibiotic Resistance 2013
- 102- Joon Young Song, Moon H. Nahm and M.Allen:** Clinical Implications of Pneumococcal Serotypes: Invasive Disease Potential, Clinical Presentations, and Antibiotic Resistance Moseley J Korean Med Sci. 2013 Jan; 28(1): 4–15.
- 103- Joon Young Song, Moon H. Nahm, Hee Jin Cheong, Woo Joo Kim:** Impact of Preceding FluLike Illness on the Serotype Distribution of Pneumococcal Pneumonia, PLoS ONE 9(4):e93477 · April 2014
- 104- Juan Lacalzada et al:** 27- Endocardite infectieuse due à Streptococcus pneumoniae chez un patient en chirurgie cardiaque: une nouvelle forme de présentation Clinique taClinical Case Report 2016 février; 4 (2): 129-132.
- 105- Julia Rhodes, Surang Dejsirilert, Susan A. Maloney, Possawat Jorakate :** Pneumococcal Bacteremia Requiring Hospitalization in Rural Thailand: An Update on Incidence, Clinical Characteristics, Serotype Distribution, and Antimicrobial Susceptibility, 2005–2010, Plos one June 26, 2013
- 106- Julia Schmitzet al:** Fluoroquinolone resistance in Streptococcus pneumoniae isolates in Germany from 2004–2005 to 2014–2015, International Journal of Medical Microbiology Volume 307, Issues 4–5, June 2017, Pages 216-222
- 107- Julien Storai :** Analyse métabolique et transcriptomique de Streptococcus pneumoniae en lien avec la production de polysaccharide capsulaire, Thèse délivré par l’INSA de Toulouse 2008
- 108-K. Aaron Genoa, Gwendolyn L. Gilbertb,c, Joon Young Songd, Ian :** Pneumococcal Capsules and Their Types: Past, Present, and Future C17 juin 2015
- 109-K. Aaron Genoa, Gwendolyn L. Gilbertb,c, Joon Young Songd, Ian C. Skovstede:** Pneumococcal Capsules and Their Types: Past, Present, and Future vol. 28 no. 3 871-899 1 July 2015

110- Kari Auranen, Ritva Syrjänen, Tuija Leino and Terhi Kilpi et al:New Pneumococcal Carriage Acquired in Association with Acute Respiratory Infection Is Prone to Cause Otitis Media, journal of PLOS 2016, 11(6): e0156343.

111- Khadija Baccouche: Infection ostéo-articulaire à pneumocoque April 2017

112- Kisakye A, Makumbi I, Nansera D, et al:Surveillance for Streptococcus pneumoniae meningitis in children aged <5 years: implications for immunization in Uganda.Rev Clinical Infectious Disease 2009; 48(2): 153- 161.

113- Kowalsky RH, Jaffe DM et al: Bacterial meningitis post-PCV7: declining incidence and treatment. Pediatric Emergence Care. 2013 Jun; 29(6):758-66; quiz 767-8.

114-L Baril,J Dietemann, M Essevaz-Roulet, L Béniguel, P Coan : Pneumococcal surface protein A (PspA) is effective at eliciting T cell-mediated responses during invasive pneumococcal disease in adults aout ; Clinical Experimental Immunology. Aug 2006; 145(2): 277–286.

115-Lamya El Mortaji: 220- Mécanismes moléculaires de la biogenèse du pilus chez Streptococcus pneumoniae. Université de Grenoble, 2010(thèse).

116-Laurence B. Givner Edward O. Mason, Jr. Tina Q. Tan William J. Barson Gordo:130- Pneumococcal Endocarditis in Children, Clinical Infectious Diseases, Volume 38, Issue 9, 1 May 2004, Pages 1273–1278.

116- Laurence B. Givner et al: 26- Pneumococcal Endocarditis in Children, Clinical Infectious Diseases, Volume 38, Issue 9, 1 May 2004, Pages 1273–1278.

117- Lena Setchanova, Marianna Murdjeva, Iglia Stancheva:Serotype changes and antimicrobial nonsusceptibility rates of invasive and non-invasive Streptococcus pneumoniae isolates after implementation of 10-valent pneumococcal nontypeable Haemophilus influenzae protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) in Bulgaria Braz J Infect Dis vol.21 no.4 Salvador July/Aug. 2017

118- Levy C, de La Rocque F, and Cohen R:Epidemiology of pediatric bacterial meningitis in France. Med Mal Infect 2009; 39: 419- 31.

119- Liam S. Redgrave et al: Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success Trends in microbiology 2104 Volume 22, Issue 8, p438–445, August 2014

120- Lindstrand A et al: Sinusitis and pneumonia hospitalization after introduction of pneumococcal conjugate vaccine, Pediatrics. Dec 2014; 134(6):e1528-36. Epub 2014 Nov 10.

121- Ling-yun Guo, Zhi-xiao Zhang , Xi Wang , Ping-ping Zhang , Wei Shi, Kai-hu Yao :Clinical and pathogenic analysis of 507 children with bacterial meningitis in Beijing, 2010–2014 International Journal of Infectious Diseases 50 (2016) 38–43

122- Luciano Cesar Pontes Azevedo , Cristiana M. Toscano, Ana Luiza Bierrenbach : 65-Bacterial Meningitis in Brazil: Baseline Epidemiologic Assessment of the Decade Prior to the Introduction of Pneumococcal and Meningococcal Vaccines, PLOS one June 18, 2013

123- Lucy J. Hathaway, Silvio D. Brugger, Brigitte Morand and Kathrin Mühlemann:Capsule Type of Streptococcus pneumoniae Determines Growth Phenotype, Plos one 2012 Mar; 8(3): e1002574.

- 124-M. A. Fletcher, H.-J. Schmitt, M. Syrochkina, and G. Sylvester:** Pneumococcal empyema and complicated pneumonias: global trends in incidence, prevalence, and serotype epidemiology *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. M14; 33(6): 879–910.
- 125-M. Catherine McEllistrem, Jennifer M. Adams, Kartik et al:** Acute Otitis Media Due to Penicillin-Non susceptible *Streptococcus pneumoniae* Before and After the Introduction of the Pneumococcal Conjugate Vaccine. *Rev Clinical infectious diseases* 2005, Pages 1738–1744.
- 126-M. Bouskraoui et al:** Étude du portage rhinopharyngé de *Streptococcus pneumoniae* et de sa sensibilité aux antibiotiques chez les enfants en bonne santé âgés de moins de 2 ans dans la région de Marrakech (Maroc), *archive de pediatrie* Volume 18, Issue 12, December 2011, Pages 1265-1270
- 127-M.-S. Le Gacet al:** Sinusites de l'enfant, *Rev Archives de Pédiatrie* Volume 20, Supplement 3, November 2013, Pages e5-e9.
- 128- Marie-Line Barbet:** Virulence et résistance des infections à pneumocoques ; Article in *Option/Bio* 22(453):11-13 · April 2011
- 129- Marta Di Pasquale, Stefano Aliberti, Chara Azzari, Maria Moriondo, and Marco Mantero:** Serotypes and antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from hospitalized patients with community-acquired pneumonia in Italy 2017
- 130- Martin CJ Maiden et al :** Multilocus sequence typing: Une approche portable pour l'identification des clones dans les populations de micro-organismes pathogènes, *Proceedings of the National Academy Science USA* . 1998 Mar 17; 95 (6): 3140-3145.
- 131- Mary P E Slack:** Benefits of the pneumococcal immunization programme in children in the United Kingdom 2006-2014, march 2015
- 132- Marzouk M et al:** Serotype distribution and antimicrobial resistance of invasive and noninvasive pneumococcal isolates in Tunisia. *Rev Microbiology Drug Resistance*. 2015 Feb;21(1):85-9.
- 133- Max R. Schroeder¹ and David S. Stephens:** Macrolide Resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Rev Front Cell Infect Microbiol*. 2016; 6: 98.
- 134- Mehmet Ceyhan et al:** Surveillance of pneumococcal diseases in Central and Eastern Europe, *Rev Humain Vaccin and Immunotherapeutic* 2016 Aug; 12(8): 2124–2134.
- 135- Mehmet Ceyhan, Ron Dagan, Abdullah Sayiner, Liudmyla Chernyshova, Ener Çağrı Dinleyici, Waleria Hryniewicz, Andrea Kulcsár:** Surveillance of pneumococcal diseases in Central and Eastern Europe 2016 Aug; 12(8): 2124–2134
- 136- Mercedes Marín, Emilia Cercenado, Álvaro Gómez González, Belén Rodríguez-Sánchez, and Emilio Bouza:** Accurate Differentiation of *Streptococcus pneumoniae* from other Species within the *Streptococcus mitis* Group by Peak Analysis Using MALDI-TOF MS *Front Microbiol*. 2017; 8: 698.
- 137- Mina SATLI:** 258- Etude du portage rhinopharyngé du pneumocoque chez les nourrissons ayant une OMA à Marrakech, these pour l'obtention doctorat en medecine.
- 138- Miwako Kobayashi, Laura M. Conklin, Godfrey Bigogo and Robert F:** Pneumococcal carriage and antibiotic susceptibility patterns from two cross-sectional colonization surveys among children aged <5 years prior to the introduction of 10-valent pneumococcal conjugate vaccine — Kenya, 2009–2010 *BMC Infectious Disease*. 2017; 17:25.

139- MO Kanbi: The burden of respiratory disease in Nigeria, *Advances in bio research* Volume 2, Issue 2, December 2011: 18 - 21

140- Muhammad Waseem: Otitis Media Treatment & Management, *Medscape* 19 mars 2018

141-N Ramdani-Bouguessa et al: Evolution of antimicrobial resistance and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolated from children with invasive and noninvasive pneumococcal diseases in Algeria from 2005 to 2012, *Rev New Microbes and New Infections* Volume 6, July 2015, Pages 42-48

142-N.Ramdani-bouguessa: diagnostic bacteriologique des infections broncho-pulmonaire K.Rahel 2008.

143- NA Mayyansky, NM Alyabyeva, OA Ponomarenko, TV Kulichenko, IV Artemova, AV Lazareva: dynamique de la prevalence des sérotypes et de la resistance aux antibiotiques de la pneumocoque non succédente dedie aux enfants en 2010-2016

144- Nadjia Ramdani-Bouguessa and Kheira Rahal: Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae* Isolated in Algiers, Algeria 2002

145- Nadjia Ramdani-Bouguessa and Kheira Rahal: Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae* Isolated in Algiers, Algeria, *Rev Antimicrobial agent and chemotherapy* June 2018, Volume 62, Issue 6

146- Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Suga S and Noguchi: Serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in paediatric patients after the introduction of 13-valent conjugate vaccine in a nationwide surveillance study conducted in Japan in 2012-2014. *Jan 2 2016*; 34(1):67-76.

147- Nakano S, Matsumura Y, Ito Y, Fujisawa T, Chang B, Suga S, Kato k: Development and evaluation of MALDI-TOF MS-based serotyping for *Streptococcus pneumoniae* 2015 Nov;34(11):2191-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26282790>

148- Nick Andrews, Julia Stowe, Elizabeth Miller and Albert Jan van Hoek: Elucidating the impact of the pneumococcal conjugate vaccine programme on pneumonia, sepsis and otitis media hospital admissions in England using a composite control, *BMC Medicine* (2018) 16:13

149- Nicola Principi and Susanna Esposito: Prevention of Community-Acquired Pneumonia with Available Pneumococcal Vaccines Published online 25Dec 2016

150- Nikolay Mayanskiy Natalia Alyabieva: Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive *Streptococcus pneumoniae* circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia *International Journal of Infectious Diseases* Volume 20, March 2014, Pages 58-62

151- Nizar F. Maraqa et al: Pneumococcal Infections, *Library & CKM* on December 10, 2014

152- Oliwia Makarewicz et al: Whole Genome Sequencing of 39 Invasive *Streptococcus pneumoniae* Sequence Type 199 Isolates Revealed Switches from Serotype 19A to 15B; *anuary 3, 2017*

153-P. Brisou, J.-M. Chamouilli, Tiphaine Gaillard, Y. Muzellec et al: Infection à pneumocoque *encyclopedie medico-chirurgical sep 2004*

154-P. Chavanet et al: Portage nasopharyngé, sensibilités et sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* chez les enfants de crèches, *Médecine et maladies infectieuses* Volume 41, n° 6 pages 307-317 (juin 2011)

- 155-P. Tattevin et al:** Pneumonies communautaires: épidémiologie, clinique, traitement
Communityacquired pneumonia: Epidemiology, clinical presentation, treatment, Journal des Anti-
Infectieux Volume 17, n° 1 pages 20-24 (mars 2015)
- 156- Park HK, Lee HJ, Kim W:**Real-time PCR assays for the detection and quantification of
Streptococcus pneumoniae 2010 Jun 18.
- 157- Paul de Voss:** Berger's manual of systemic bacteriology second edition 2009
- 158- Peter C. Appelbaum:** Antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae, Clinical Infectious
Diseases, Volume 15, Issue 1, 1 July 1992, Pages 77–83
- 159- Peter Mellroth, Robert Daniels, Alice Eberhardt, Daniel Rönnlund, Hans Blom, Jerker
Widengren, Staffan Normark and Birgitta Henriques-Normark:** LytA, Major Autolysin of
Streptococcus pneumoniae, Requires Access to Nascent Peptidoglycan. Journal of Biologic and
Chemistry. 2012 Mar 30; 287(14): 11018–11029.
- 160- Pierre Aubry, Docteur Bernard-AlexGaüzère :** Tests de diagnostic rapide par
immunochromatographie en zones tropicales Actualités 2017 23/01/2018
- 161- Pieter-Jan Ceysens et al:**Molecular Analysis of Rising Fluoroquinolone Resistance in Belgian
Non-Invasive Streptococcus pneumoniae Isolates (1995-2014); May 26, 2016
- 162- Porter BD, Ortika BD, Satzke:**Capsular Serotyping of Streptococcus pneumoniae by latex
agglutination. 2014 Sep 25 ;(91):51747
- 163- Prudhomme M, Attaiech L, Sanchez G, Martin B, Claverys JP et al:** Le stress antibiotique
induit une transformabilité génétique chez le pathogène humain Streptococcus pneumoniae. Science. 7
Juillet 2006; 313 (5783): 89-92.
- 164-R.Cohen et al:** Dynamic of pneumococcal nasopharyngeal carriage in children with acute otitis
media following PCV7 introduction in France, Vaccine Volume 28, Issue 37, 23 August 2010, Pages
6114-6121
- 165-R.HIRST, A KADIOGLU, C O'CALLAGHAN, and P W ANDREW:**The role of pneumolysin
in pneumococcal pneumonia and meningitis, Clinical and experimental immunology 2004, 138(2):
195–201.
- 166- Rahal.K :**les antibiotiques- 5 emédition
- 167- Ravinder Kaur, Matthew Morris, Michael E. Pichichero:** Epidemiology of Acute Otitis Media
in the Postpneumococcal Conjugate Vaccine Era, From the American Academy of Pediatrics
PEDIATRICS Vol. 140 No. 3 September 01, 2017 e20170181
- 168- Rinaudo-Gaujous M, Talagrand E, Verhoeven PO, Garraud O, Flourié F:** A case report of
Streptococcus pneumoniae-induced hemolytic uremic syndrome: appropriate transfusional
management by T-antigen determination, Analytic Biologic Clinic (Paris). 2013 Mar-Apr; 71(2):215-
8.
- 169- Robert Austrian:** A Brief History of Pneumococcal Vaccines; Rev Drugs & Aging, Volume 15,
Supplement 1, pp 1–10, December 1999
- 170- Robert Cilveti , Montserrat Olmo, Josefa Pérez-Jove, Juan-José Picazo et al :**Epidemiology
of Otitis Media with Spontaneous Perforation of the Tympanic Membrane in Young Children and

Association with Bacterial Nasopharyngeal Carriage, Recurrences and Pneumococcal Vaccination in Catalonia, Spain - The Prospective HERMES Study , PLoS One. 2017 Feb 1; 12(2):e0170316

171- Rodrigo DeAntonio, Juan-Pablo Yarzabal, James Philip Cruz, Johannes E. Schmidt & Jos Kleijnen: Epidemiology of community-acquired pneumonia and implications for vaccination of children living in developing and newly industrialized countries: A systematic literature review Pages 2422-2440, 11 Jan 2016

172- Rodrigo Lopez Castellanos, MinJae Lee: Epidemiology of bacterial meningitis in the USA from 1997 to 2010: a population-based observational study, journal of PLOS 04 August 2014

173- Roger Baxter et al: Risk of underlying chronic medical conditions for invasive pneumococcal disease in adults, Vaccine Volume 34, Issue 36, 5 August 2016, Pages 4293-4297

174- Roland Leclercq and Patrice Courvalin: Resistance to Macrolides and Related Antibiotics in *Streptococcus pneumoniae* RevAntimicrob Agents Chemother. 2002 Sep; 46(9): 2727–2734.

175- Roxanne S. Leung, MD, Rohit Katial: The Diagnosis and Management of Acute and Chronic Sinusitis, Clinical review articles Volume 35, Issue 1, March 2008, Pages 11-24.

176- Russell W Steele: Pediatric Pneumococcal Bacteremia 4 nov 2015 122- **Julián-Jiménez A, Timón Zapata J, Laserna Mendieta E, Parejo Miguez P :** Ability of procalcitonin to predict bacteremia in patients with community acquired pneumonia Medecine Clinique, 2014 Apr 7;142(7):285-92.

177-S. Athlin, A. Iversen and V. Özenci: Comparison of the ImmuView and the BinaxNOW antigen tests in detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in urine 2017; 36(10): 1933–1938

178-S. Suarez, X. Nassif, A. Ferroni: Applications de la technologie MALDI-TOF en microbiologie Clinique Applications of MALDI-TOF technology in clinical microbiology 8 avril 2014 Pathologie Biologie Volume 63, pages 43-52

179-S.Oukid, Tali Maamar et al: streptococcus pneumoniae carriage and frequency of serotypes in children less than 25 months: a preliminary study in Algeria, 33-nd annual meeting of the European society for pediatric infectious diseases may 12-14 2015

180- Sabrina J. Moyo, Martin Steinbakk, Said Aboud, Namala Mkopi, Mabula Kasubi: Penicillin resistance and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* in nasopharyngeal carrier children under 5 years of age in Dar es Salaam, Tanzania Journal of Medical Microbiology 61: 952959, 01/07/2012

181- Samuel Sigurdsson Helga, Erlends dóttir Sigríður Júlía Quirk: Pneumococcal vaccination: Direct and herd effect on carriage of vaccine types and antibiotic resistance in Icelandic children Vaccine Volume 35, Issue 39, 18 September 2017, Pages 5242-5248

182- Sandra S. Richtera, Kristopher P. Heilmann, and Gary V. Doernb: Evaluation of Pneumococcal Serotyping by Multiplex PCR and Quellung Reactions , decembre 2013

183- Sara L. Lawrence, Susanne C. Feil, Craig J. Morton, Michael W. Parker et al: Crystal structure of *Streptococcus pneumoniae* pneumolysin provides key insights into early steps of pore formation sep 25/2015

184- Sara Tomczyk, Nancy M. Bennett et al: Use of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine and 23-Valent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine Among Adults Aged ≥ 65 Years:

Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Morbidity and Mortality Weekly Report. 37, September 19, 2014

185- Saumyaa, Lindsey Pujanauski, Jesus Colino, Michael Flora Raul M Torres, Elaine Tuomanen and Clifford M Snappe: Pneumococcal surface protein A plays a major role in Streptococcus pneumoniae-induced immunosuppression, *Journal of Immunology*. 2016 May 1; 196(9): 3677–3685.

186- Sergio Gala'n-Bartual, Inmaculada Pe'rez-Dorado, Pedro Garcı and Juan A. Hermoso: Structure and Function of Choline-Binding Proteins, *Rev Streptococcus Pneumoniae; Molecular Mechanisms of Host-Pathogen Interactions* 2015, Pages 207–230

187- Smaoui H, Amri J, Haji N, Kechrid Aet al: Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of streptococcus pneumoniae isolates in children in Tunis. *Archives de P'diatrie* 2009; 16: 220- 226.

188- Smaoui H, Amri J, Hajji N, Kechrid Aet al: Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of streptococcus pneumoniae isolates in children in Tunis. *Rev Archives de P'diatrie* 2009; 16: 220- 226

189- Smati F, Laouar H, Khalifa F, et al: R'sistance à la p'nicilline G de Streptococcus pneumoniae responsable d'infections graves communautaires en Alg'rie. *Medecine et Maladies Infectieuse* 1994; 24: 1190- 2.

190- Sonia Ktari, Ikram, Manel Mroua, Sonda Maalej, Nour ElHouda Ben Ayed Basma Mnif : Serotype distribution and antibiotic susceptibility of Streptococcus pneumoniae strains in the south of Tunisia: A five-year study (2012–2016) of pediatric and adult populations December 2017 Volume 65, Pages 110–115

191- Stoppelaar S, Bootsma HJ, Zomer A and Roelofs: Streptococcus pneumoniae serine protease HtrA, but not SFP or PrtA, is a major virulence factor in pneumonia. novembre 2013

192- Standardisation de l'antibiogramme à l'echelle national 2011 Document 'dit' avec la collaboration de l'OMS 6 eme edition -145

193- Surveillance de la r'sistance des bact'ries aux antibiotiques 17'eme Rapport d'valuation (de janvier à d'cembre 2016) -214

194- Tali-Maamar H, Laliem R, Bentchouala C, et al: reprint of Serotyping and antibiotic susceptibility of Streptococcus pneumoniae strains isolated in Algeria from 2001 to 2010. *Vaccine* 2012; 30(6): 25- 31.

195- Tatiana Barichello et al: Role of Oxidative Stress in the Pathophysiology of Pneumococcal Meningitis, *Oxidative Medecine Cellular Longevity* 2013; 2013: 371465.

196- Tatiana CA Pinto, Natalia S. Costa, Luciana FS Castro, M Teixeira:155- Potential of MALDITOF MS as an alternative approach for capsular typing Streptococcus pneumoniae isolates 2017 Mar 28

197- Tom van der Poll et al: Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumonia, *the lancet* Volume 374, No. 9700, p1543–1556, 31 October 2009.

198- Tony Hart, Paul Shears: 4- Atlas de poche de microbiologique 1ere edition 1999

199- Varghese R, Jayaraman R, Veeraraghavan B: Current challenges in the accurate identification of *Streptococcus pneumoniae* and its serogroups/serotypes in the vaccine era 2017 Aug 2. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701217302075>

200- Varon E: Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* 2012 Aug; 42(8):361-5.

201- Vrishali Avinash Muley, Dnyaneshwari Purushottam Ghadage, Gauri Eknath Yadav, Arvind Vamanrao Bhore: Study of invasive pneumococcal infection in adults with reference to penicillin resistance Year: 2017, Volume: 9, Issue: 1, Page: 31-35

202- Wolter N, du Plessis M, von Gottberg A, et al: Molecular characterization of emerging non-levofloxacin-susceptible pneumococci isolated from children in South Africa.

203- W. Jacques Thierry, Jean David Pierre Claude et Thierry Tasseron: 13 bacteriologie Clinique 2^eme édition 2007

2. WEBOGRAPHIE :

204- <http://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.07.015>

205- http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254456/WER9123_298-

206- [.pdf?sequence=1&isAllowed=y](#)

207- <http://cmr.asm.org/content/28/3/871.full>

208- <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-aprevention-vaccinale/Infections-a-pneumocoque/Point-sur-les-connaissances> <http://sci-hub.tw/10.1179/0001551213Z.00000000015>

209- <http://solidarites->

sante.gouv.fr/IMG/pdf/dossier_de_presse_11_vaccinations_indispensables_obligatoires_au_1er_janvier_2018.pdf

210- <http://univers-sciences.blogspot.com/2013/02/quelle-est-lefficacite->

[2... antipsychotiques.html#.Wyw7n9JKjIU](#)

211- <http://www.jle.com/fr/revues/met/e->

[docs/streptococcus_pneumoniae_resistance_aux_antibiotiques_180594/article.phtml?tab=text e](#)

212- <http://www.medical-actu.com/cours/bacteriologie/streptococcus-pneumoniae/>

214- <http://www.sante.gov.dz>

215- <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/beta-lactamines-penicillinescephalosporines>

216- <https://rea.revuesonline.com/en/articles/lvrea/ref/2017/04/lvrea263p167/lvrea263p167.html>

217- <https://www.amazon.com/Antig%C3%A9nurie-pneumococcique-BPCOd%C3%A9compensation-Omn-Univ-Europ/dp/384178108X> -

218- <https://www.antibio-responsable.fr/->

[/media/EMS/Conditions/Consumer%20Healthcare/AntiBioTherapic/PDFFiles/Evolutionsensibilite-pneumocoque-france%20pdf](#)

219- <https://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/spneu15.html>

220- <https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt08-id-characterization-streppneumo.pdf> -

221- [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(15\)00229-5/fulltext?code=ijid-site](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(15)00229-5/fulltext?code=ijid-site)

220- <https://www.memorangapp.com/flashcards/98357/Week+2+-+Bacteriology+Genetics/> -

221- <https://www.meningitis.org/>

222- <http://www.rockefeller.edu>

224- <https://us.search.yahoo.com/yhs/search?hspart=blp&hsimp=yhs->

[default&type=hmp_9999_727_0&p=Physiopathologie+des+infections+%C3%A0+pneumocoque+en+p%C3%A9diatrie%2C+ao%C3%BBt+2005&rnd=1305272353¶m1=sid%3D727%3Aaid%3D9999%3Aver%3D0%3Asrc%3Dhmp%3AInq%3Den%3Aitype%3De%3Ainstid%3D0%3Aaup%3D695043550%3Aup%3DUGh5c2lvcGF0aG9sb2dpZSBkZQ%253D%253D](#)

225- <http://www.who.int/>

- 226- <http://free.geriatrics.overblog.com/2017/08/vaccination-antipneumococcique-chez-les-personnes-agees.html>.
- 227- <http://cmr.asm.org/content/11/4/645/F1.expansion.html>.
- 228- <http://fr.winesino.com/public-health-safety/public-health/1007075663.html>
- 229- http://disciplines.ac-montpellier.fr/biotechnologies/sites/sti3/files/pdf/06-resistance_atb_strepto_et_enterococcus.pdf..
- 230- [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(09\)61114-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(09)61114-4/fulltext)
- 231-doi:10.1016/j.medmal.2009.02.019 **.V. des Portes .Quel suivi à long terme pour quels patients Séquelles des méningites bactériennes chez l'enfant et chez l'adulte : incidence, types, modes d'évaluation.**
- 232-<https://fr.slideshare.net/mirajmicrobio/microsoft-office-power-point-presentation-12906694>.

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : L'expérience de Griffith démontrant la transformation naturelle chez le pneumocoque.

Annexe II : Mise en évidence de la capsule par l'encre de chine.

Annexe III : Protocole de la réaction de Quellung.

Annexe IV : Mécanisme moléculaire responsable de la plupart des cas observés de résistance aux antibiotique pneumococcique

Annexe V : Interaction entre *S. pneumoniae* et les cellules épithéliales

Annexe VI : Passage du *S. pneumoniae* dans le LCR.

Annexe VII : Les facteurs de virulences

Annexe VIII : Le Nouveau calendrier vaccinal en Algérie

Annexe XI : Arrête ministériel de la mise de nouveau programme vaccinal

Annexe X : Schéma vaccinal antipneumococcique

Annexe IX : Matériel non biologique disponible au laboratoire.

Annexe XII : Mode de prélèvement et conditions de transport et de conservation.

Annexe XIII : Fiche de renseignement

Annexe XIV : Fiches techniques

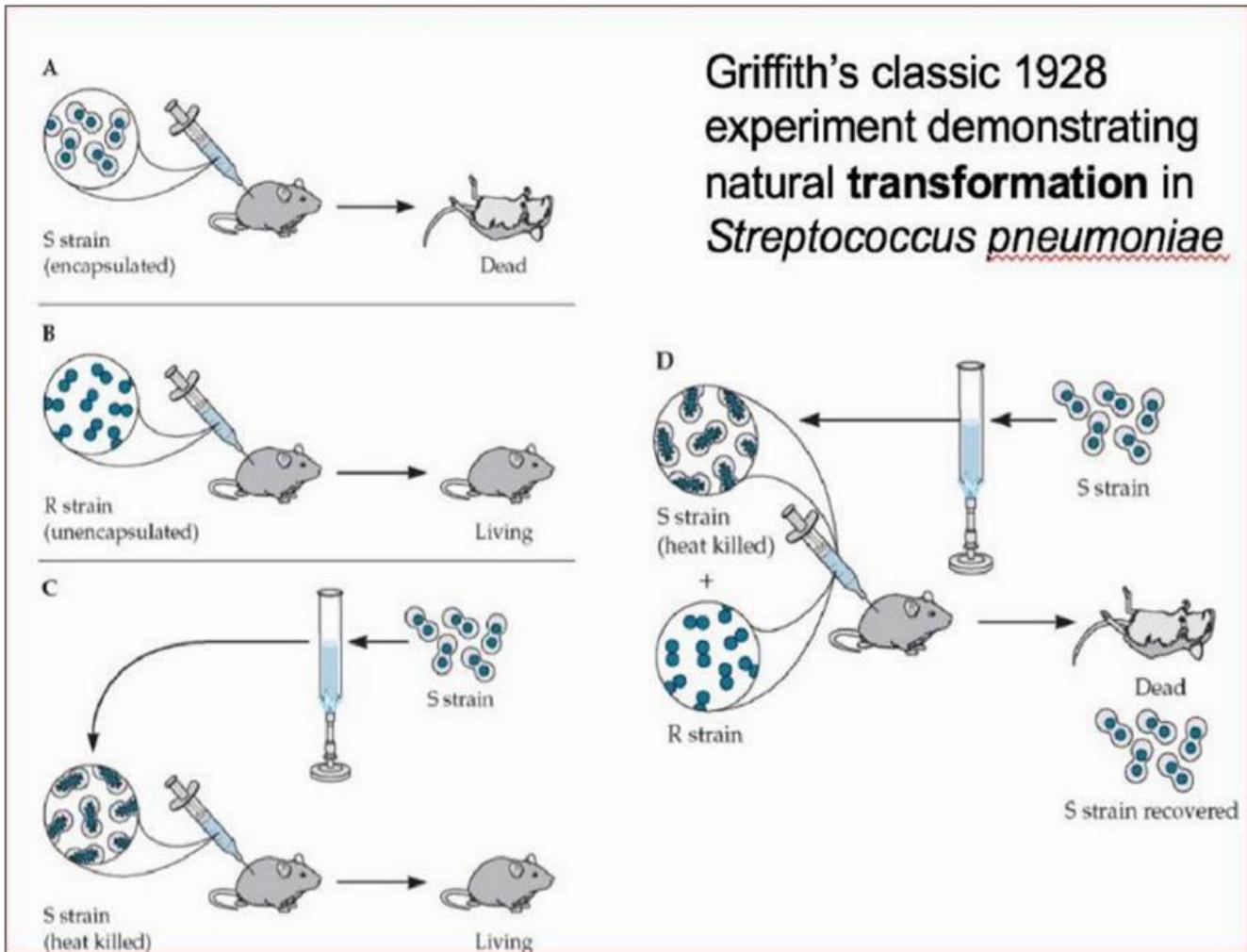
Annexe XV : Liste des antibiotiques à tester pour *S. pneumoniae*

Annexe XVI : Fiche élaborée pour les prélèvements effectués au niveau du service ORL.

Annexe XVII : Technique de conservation des souches du *S. pneumoniae*.

Annexe XVIII : Technique de détermination de la CMI en milieu liquide

Annexe I : L'expérience de Griffith démontrant la transformation naturelle chez le pneumocoque. (220)



Annexe II : Mise en évidence de la capsule par l'encre de chine (229)

Technique du l'encre de Chine:

Principe :

Sert à la mise en évidence de la capsule qui est une couche gélatino-muqueuse, de nature glucidique le plus souvent, présente chez certaines bactéries (*Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus...*) et chez certaines levures (*Cryptococcus*).
L'encre de Chine, suspension de particules de carbone, sert de contrastant. .

Technique :

Déposer sur une lame propre, soit une goutte de culture en milieu liquide, soit une goutte d'eau distillée dans laquelle on dissociera une parcelle de colonie.
Déposer à côté une petite goutte d'encre de Chine.
Recouvrir d'une lamelle (les deux gouttes se mélangent).
Examiner la préparation à l'objectif x 40, en particulier dans la zone où l'encre de Chine est diluée sans trop l'être (contraste adéquat).

Lecture :

La capsule apparaît comme un halo clair autour des corps bactériens

Annexe III : Protocole de la réaction de Quellung.(230) (182).

Réaction de Quellung :

Principe :

Les anticorps anticapsulaires présents dans le sérum réagissent avec la matière glucidique de la capsule pneumococcique, provoquant une réaction de la microprécipitine à la surface du *Streptococcus pneumoniae*. Cette réaction antigène-anticorps entraîne une modification de l'indice de réfraction de la capsule, de sorte qu'elle apparaît «gonflée». plus visible.

Technique :

A-Préparation d'une suspension cellulaire bactérienne

Cultiver l'isolat (s) à tester pendant 18-24 heures sur une plaque de gélose au sang à 35-37 ° C avec ~ 5% de CO₂ (ou dans un bougie-pot).

À partir de la croissance d'une nuit sur la gélose au sang, utiliser une boucle stérile pour préparer une suspension cellulaire légère à modérée (approximativement égale à un étalon de densité de 5 McFarland) dans 0,5 ml de solution saline à 0,85%.

Des réactions de quellung optimales peuvent être observées quand il y a 25-50 cellules visibles dans un champ microscopique à un grossissement de 1000X.

B. Mélange de cellules et d'antisérums sur une lame de verre

Distribuer des quantités égales d'antisérum (5 pi) et de bleu de méthylène (5 pi) sur une lame de microscope.

Ajouter environ 0,2-1,0 pi de la suspension cellulaire diluée et mélanger tous les trois avec un embout de pipette.

Couvrir la suspension avec une lamelle couvre-objet de 22 mm² et incuber à température ambiante (25 ° c) pendant 10-15 minutes.

Ne laissez pas le liquide sur la lame sécher.

C. Lecture de la réaction de Quellung à l'aide d'un microscope

Examiner la lame à 1000X en utilisant une lentille à immersion dans l'huile.

Commencer les tests avec des antisérums groupés. Une fois qu'une réaction positive est obtenue, procéder avec des antisérums individuels de groupe et de sérotype spécifique inclus dans les antisérums regroupés qui ont donné la réaction positive pour déterminer le sérotype et le sérotype.

Lecture :

Une réaction de Quellung positive est observée lorsque la capsule apparaît comme un halo fortement délimité autour de la cellule colorée en bleu foncé

Une réaction d'étouffement négative est observée lorsqu'il n'y a pas d'apparition d'un halo clair et élargi entourant la cellule colorée.

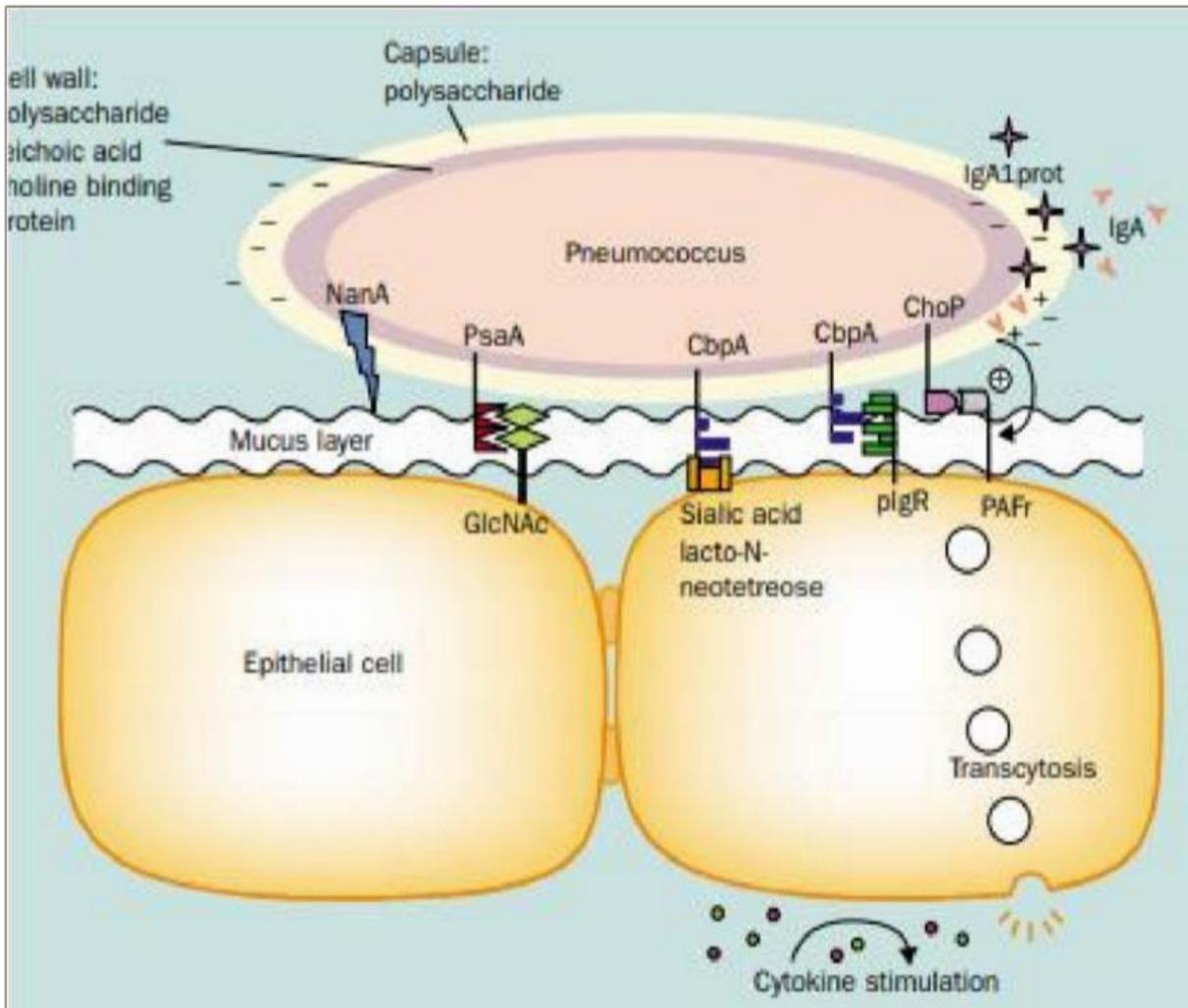
**Annexe IV : Mécanisme moléculaire responsable de la plupart des cas observés
de résistance aux antibiotique pneumococcique. (213)**

TABEAU 1

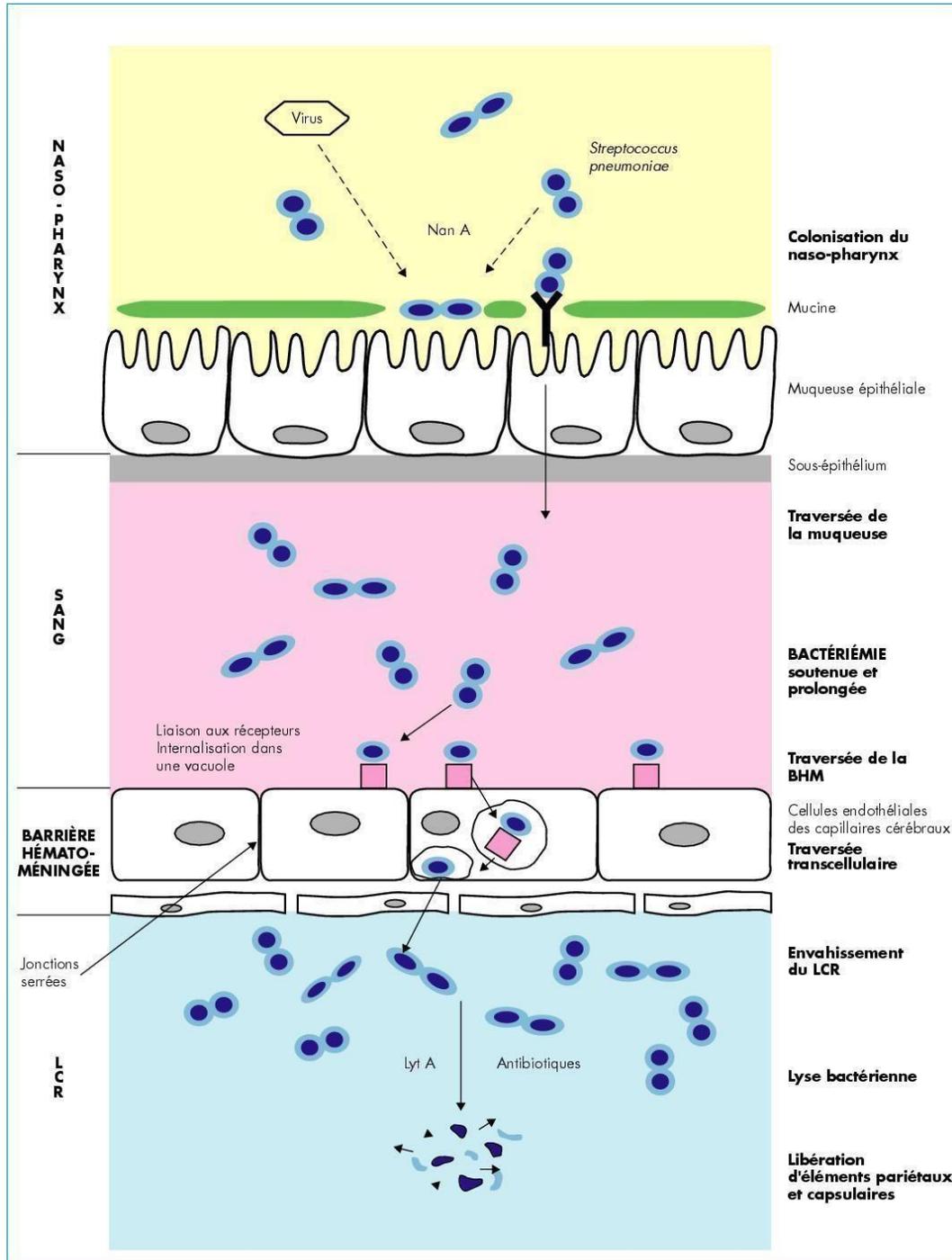
Mécanismes moléculaires responsables de la plupart des cas observés de résistance aux antibiotiques pneumococciques

Antibiotique	Mécanisme (s)
β-Lactames (pénicilline et céphalosporines)	Mutations dans les domaines de liaison à la pénicilline (transpeptidase) des gènes <i>pbp</i> (principalement <i>pbp2x</i> , <i>pbp2b</i> et <i>pbp1a</i>); des mutations dans le gène de l'aminocyl-ARNt-ligase (<i>murM</i>); mutations dans d'autres gènes, y compris <i>pdgA</i> , <i>ciaH-ciaR</i> et <i>sikP</i>
Macrolides	<i>erm</i> (23S ARNr méthyltransférases) (<i>ermB</i> et rarement <i>ermTR</i>), efflux à médiation par <i>mef</i> [<i>mef(A)</i> ou <i>mef(E)</i>], mutations dans les gènes ARNr 23S ou gènes de protéines ribosomiques L4 ou L22 (respectivement <i>rplD</i> et <i>rplV</i>)
Fluoroquinolones	Mutations dans les gènes de l'ADN gyrase (principalement <i>gyrA</i>) et / ou de la topoisomérase IV (principalement <i>parC</i>), efflux médié par la PmrA
Tétracycline	Protéines de protection ribosomales, principalement Tet (M) et rarement Tet (O)
Rifampin	Mutations dans <i>rpoB</i> codant pour la sous-unité β de l'ARN polymérase
Chloramphénicol	Inactivation du chloramphénicol par la chloramphénicol acétyltransférase codée par le <i>cat</i>
Triméthoprim- sulfaméthoxazole	Mutations du gène de la dihydrofolate réductase (<i>folA</i>) et du gène de la dihydroptéroate synthétase (<i>folP</i>)
Kétolides	Mutations dans l'ARNr 23S ou dans les gènes des protéines ribosomiques L4 ou L22 (<i>rplD</i> et <i>rplV</i>), <i>ermB</i> avec délétion ou mutation dans la séquence leader
Oxazolidinones	Mutations dans les gènes de l'ARNr 23S, délétions dans le gène de la protéine ribosomique L4 <i>rplD</i>

Annexe V : : Interaction entre *S. pneumoniae* et les cellules épithéliales (182)



Annexe VI : Passage du *S. pneumoniae* dans le LCR. (182)



Annexe VII : Les facteurs de virulences. (112)

Tableau I. Rôle des facteurs de virulence de *S. pneumoniae*.

Éléments de surface du pneumocoque intact = Échappement au système immunitaire de l'hôte

Capsule polysaccharidique Gène considérablement l'opsono-phagocytose (± efficace suivant le sérotype)
Forte diminution de l'activation de la voie alterne du complément (voie activée sans anticorps)

Protéines de surface :
PspA et PspC Activité anti-phagocytaire : inhibe la voie alterne du complément
Apport de fer pour la croissance in vivo grâce à la fixation de PspA à la lactoferrine

Facteurs exprimés après la lyse bactérienne = Effets délétères pour l'hôte

Pneumolysine Activité cytotoxique : lyse cellulaire, inhibe ou réduit l'action du système immunitaire non spécifique et spécifique
Active la voie classique du complément au profit de la bactérie ; amplifie la réaction inflammatoire : détruit l'épithélium des voies respiratoires supérieures et des alvéoles

Paroi cellulaire :
Peptidoglycane Induit des réactions inflammatoires puissantes
Active la voie alterne du complément ; stimule la production d'IL₁ (acide téichoïque)
Acides (lipo)téichoïques Attachement aux cellules hôtes préalablement activées via les récepteurs du PAF ; active la voie classique du complément en se fixant à la CRP (phosphorylcholine)
Phosphorylcholine

Facteurs contributifs à la virulence

Autolysines :
LytA, LytB et LytC LytA libère la pneumolysine, les fragments pariétaux et autres composés non excrétés
LytB et LytC facilitent probablement la colonisation du nasopharynx

IgA protéase Portage oropharyngé ; colonisation des muqueuses ; gêne la phagocytose

CbpA (adhésine) Colonisation du nasopharynx ; adhésion aux cellules eucaryotes activées par des cytokines

Peptide-perméases Augmente l'adhésion aux cellules

Neuraminidases :
NanA et NanB Persistance dans le nasopharynx ; adhésion aux cellules épithéliales ; colonisation du système respiratoire ; participe à la cytotoxicité cellulaire en association avec la pneumolysine

Hyaluronidase lyase Facilite l'invasion systémique ; facteur important pour la pathogenèse des méningites

Sérine protéase Facilite l'invasion systémique et la formation d'œdèmes

PsaA (transporteur d'ions) Importe les ions Mn²⁺ essentiels à la virulence

Tous gènes impliqués dans la survie et l'adaptation aux différentes conditions environnementales de l'hôte

Annexe VIII : Le Nouveau calendrier vaccinal en Algérie (www.sante.gov.dz/). (212)

NOUVEAU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION

Vaccin \ Âge	Naissance	2 mois	3 mois	4 mois	11 mois	12 mois	18 mois	6 ans	11-13 ans	16-18 ans	Tous les 10 ans à partir de 18 ans
BCG	BCG										
HVB	HVB										
VPO	VPO	VPO		VPO		VPO		VPO	VPO		
DTC-Hib-HVB		DTC Hib HVB		DTC Hib HVB		DTC Hib HVB					
Pneumocoque		Pneumo-coque		Pneumo-coque		Pneumo-coque					
VPI			VPI								
ROR					ROR		ROR				
DTC								DTC			
dT Adulte									dT Adulte	dT Adulte	dT Adulte

BCG : tuberculose, **HVB** : hépatite B, **VPO** : poliomyélite orale, **DTC-Hib-HVB** : Diphtérie-Tétanos- Coqueluche- Haemophilus influenzae type b-Hépatite B, **VPI** : poliomyélite injectable, **ROR** : Rougeole-Oreillons-Rubéole, **DTC** : Diphtérie Tétanos Coqueluche, **dT Adulte** : diphtérie Tétanos Adulte

Annexe XI : Arrête ministériel de la mise de nouveau programme vaccinal. (212)

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة الصحة، السكان وإصلاح المستشفيات
MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

المديرية العامة للوقاية و ترقية الصحة
DIRECTION GENERALE DE LA PREVENTION
ET DE LA PROMOTION DE LA SANTE

INSTRUCTION N° 10 DU 24 AVRIL 2016 RELATIVE
A LA MISE EN ŒUVRE DU NOUVEAU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION
DIMANCHE 24 AVRIL 2016

Destinataires		
	<ul style="list-style-type: none">• Monsieur le Directeur Général de l'INSP• Monsieur le Directeur Général de l'IPA• Mesdames et Messieurs les Directeurs de Santé et de la Population :	Pour exécution
	<p>En communication à Mesdames et Messieurs :</p> <ul style="list-style-type: none">• Les Directeurs des Etablissements Hospitaliers• Les Directeurs des Etablissements Hospitaliers Spécialisés• Les Directeurs des Etablissements Publics Hospitaliers• Les Directeurs des Etablissements Publics de Santé de Proximité• Les Directeurs des Etablissements Hospitaliers Privés et les responsables de Cabinets médicaux agréés	Pour exécution et suivi
	<ul style="list-style-type: none">• Mesdames et Messieurs les Directeurs Généraux de FEHU d'Oran et des CHU	Pour exécution

Le programme de vaccination a toujours été une des préoccupations majeures du MSPRH, et ce d'autant que la vaccination constitue une composante essentielle du droit à la santé et qu'elle a pour but de réduire significativement la morbidité et la mortalité attribuables aux maladies cibles contrôlables par la vaccination, contribuant ainsi à réduire la mortalité infantile.

Dans ce cadre, le MSPRH a entrepris de mettre en œuvre un nouveau calendrier national de vaccination, introduisant simultanément quatre nouveaux vaccins. Cette actualisation tient compte de la situation épidémiologique et de ses tendances, du plan d'action mondial pour les vaccins, des recommandations de l'OMS et des avancées technologiques dans le domaine des vaccins.

La présente instruction vient fixer les modalités de mise en œuvre de ce nouveau calendrier national de vaccination.

• CONCERNANT LA DATE DE MISE EN ŒUVRE DU NOUVEAU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION

Le nouveau calendrier national de vaccination est applicable à partir du **Dimanche 24 Avril 2016**. Cette date coïncidera avec la célébration de la semaine mondiale et africaine de la vaccination.

• CONCERNANT LA COMPOSITION DU NOUVEAU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION

Le calendrier national de vaccination conformément à l'arrêté ministériel du 24 novembre 2014, a vu l'introduction simultanée de quatre nouveaux vaccins : i) le vaccin antipoliomyélitique injectable (VPI), ii) le vaccin anti-rubéoleux, iii) le vaccin anti-ourlien (contre les oreillons), iv) le vaccin anti-pneumococcique. Il se compose comme suit :

Âges de la vaccination	Vaccins
Naissance	BCG-VPO-HVB
2 mois	DTC-Hib-HVB + VPO + anti pneumococcique
3 mois	VPI
4 mois	DTC- Hib HVB + VPO + anti pneumococcique
11 mois	ROR
12 mois	DTC Hib HVB + VPO + anti pneumococcique
18 mois	ROR
6 ans	DTC + VPO
11-13 ans	Dt + VPO
16-18 ans	dT
Tous les 10 ans à partir de 18 ans	dT

• CONCERNANT LES NOUVEAUX VACCINS DU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION

1. LE VACCIN ANTIPOLIOMYELITIQUE INJECTABLE (VPI)

La vaccination au Vaccin Polio Injectable (VPI) a été introduite depuis le 15 décembre 2015, et a touché tous les nourrissons nés à partir du 15 septembre 2015.

• Description

Le VPI est un vaccin trivalent qui contient les trois types de virus (1, 2,3) sous forme inactivée.

• Présentation

Le VPI se présente sous forme liquide en flacons multidoses (5 doses et 10 doses).

• Conservation

Le VPI étant sensible à la chaleur, il doit être stocké à une température comprise entre + 2°C et + 8°C et à l'abri de la lumière.

Le VPI est sensible au gel et ne doit pas être congelé.

Annexe X : Schéma vaccinal antipneumococcique

vaccin anti pneumococcique	2 mois	3 mois	4 mois	12 mois
Chez les nourrissons	première injection		deuxième injection	rappel
Chez les prématurés	première injection	deuxième injection	Troisième injection	rappel

Annexe IX : Matériel non biologique disponible au laboratoire. (Originale)

Equipements	Fournitures	Verrerie
<ul style="list-style-type: none"> -Paillasse -L'évier et eau courante -Eau physiologique -Bec bunsen -Microscope optique - Etuve à 35°C. -Séchoir -Réfrigérateur -Congélateur -Bain-marie -Densitomètre 	<ul style="list-style-type: none"> -Blouse de laboratoire -Gants -Savon pour les mains -Liquide désinfectant -Ances, ciseaux et pinces -Collecteurs des objets -Portoirs pour tubes -Disques d'ATB -Bougie, bocal et jarre -Ecouvillons en coton stérile -Paires et embouts -Seringues stériles -Huile à immersion -Huile de vaseline stérile -Pied à Coulisse métallique 	<ul style="list-style-type: none"> -Boite de Pétrie 90 mm de diamètre en plastiques -Lame et lamelle -Pipettes Pasteur -Tubes à essai stériles -Tubes secs -Cellule de Nageotte et cellule de Malassez
Milieu de culture et d'identification	Solution de coloration	Réactifs d'identification
<ul style="list-style-type: none"> - Milieu de Mueller Hinton. - Milieu de conservation. - Galeries API 20. -Milieu sang frais. -Milieu sang cuit. 	<ul style="list-style-type: none"> - Violet de gentiane. - Lugol. - Bleu de méthylène. - Fuschine. - Alcool éthylique à 95°. 	<ul style="list-style-type: none"> -eau oxygénée -Disque d'optochine - latex anti <i>S.pneumoniae</i> -disques d'antibiotiques -Bandelette E test

Annexe XII : Mode de prélèvement et condition de transport et de conservation .

• Mode de prélèvement :

Les PDP : Nécessitent un double cathéter lié à une seringue qui est introduite par l'oropharynx et dirigée à l'aveugle vers les bronches, les sécrétions bronchiques sont alors aspirées. Le cathéter est coupé dans un tube stérile. **(142)**

LBA : Après introduction de bronchoscope et son blocage dans une bronche segmentaire ou sous segmentaire, 50ml de sérum physiologique sont instillés en 5 à 6 fois puis aspiré pour recueillir les sécrétions. Le produit (sécrétion + eau physiologique stérile) est recueilli dans un dispositif stérile. Centrifugé les prélèvements pendant 10 min à 3000 tours par minute, jeter le surnageant et homogénéiser le culot. Travailler sur le culot. **(142)**

Liquide céphalorachidien : Est réalisé par ponction lombaire, ponction sous occipitale ou intra ventriculaire avec une asepsie rigoureuse. Recueillir 3 ml de LCR dans 3 tubes stériles en verre numérotés 1, 2, 3 servant respectivement à l'examen biochimique, microbiologique et cytologique. **(142)**

Les hémocultures : Sont effectués après désinfection de la surface à prélever et des mains de préleveur et en dehors de toute antibiothérapie. Une série d'au moins trois flacons est prélevée dans des sites différents, le type des flacons est de préférence le milieu basique où 5 à 10cc de sang inoculé par flacon. **(142)**

Pus auriculaire : Est réalisé à l'aide d'un cathlon monté sur seringue puis versé le pus dans un pot stérile ou à l'aide de deux écouvillons fins montés sur tige métallique, le premier sert à préparer un frottis et le second à ensemercer les milieux de culture. **(142)**

Liquide pleurale : La ponction pleurale est faite à l'aiguille après une désinfection de la région costale à l'aide d'une solution antiseptique. **(142)**

Les crachats : Sont effectués le matin, chez un sujet qui a préalablement rincé la bouche à l'eau, à la suite d'un effort de toux et provoque les sécrétions bronchiques accumulées pendant la nuit. Un volume de 5 ml représente une quantité convenable, le minimum exigible est de 2 ml. **(142)**

• Modalités de conservation et de transport :

-Les prélèvements sont acheminés au laboratoire toute en respectant les modalités du transport et conservation.

-L'emballage primaire (récipient) contenant le matériel biologique doit être étanche (flacons stériles...)

-La plupart des échantillons primaires peuvent être transportés à température ambiante (22°C) s'ils sont apportés rapidement au laboratoire (délai inférieur à 4h).

-Pour le LCR, les échantillons doivent être acheminés au moins de 30 min, température ambiante ou immédiatement si forte suspicion de méningite infectieuse.

-Dans le cas des prélèvements d'origine pulmonaire (PDP, crachat, LBA) doivent être transportés au moins de 2h à température ambiante.

- Enfin pour les hémocultures le délai du transport est au maximum 12h à température ambiante.

-Les bactéries qui ne supportent pas de délai peuvent être préservées dans des milieux de transport. **(143)**

Annexe XIII : Fiche de renseignement

MINISTERE DE LA SANTE DE LA POPULATION ET DE LA
REFORMEHOSPITALIERE CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE
BLIDA UNITE FRANTZ-FANON LABORATOIRE CENTRALE DE
BIOLOGIE UNITE
DE MICROBIOLOGIE

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

N d'ordre :

Nom et Prénoms :

Age :

Service :

Nature du prélèvement :

Date : et heure du prélèvement :

Examens demandés :

Traitement éventuel :

-Antibiothérapie : -préventive

-Curative

- Autre traitement :

Renseignements cliniques [maladie associée, antécédent ...]

Bilan biologique :

Autres explorations :

Hospitalisation :

Motif d'admission :

Date d'entrée :

Date de sortie :

Signature et griffe du médecin.

Annexe XIV : Fiches techniques

Examen à l'état frais
Principe : C'est une méthode rapide qui permet d'observer entre lame et lamelle les bactéries vivantes mobiles et immobiles, les différentes structures cellulaires de la réaction inflammatoire (les leucocytes), les hématies, les cellules épithéliales et les levures.
Technique : <ul style="list-style-type: none">• Humidifier l'écouvillon avec une goutte d'eau physiologique pour faciliter l'étalement sur la lame• Déposer une goutte de prélèvement sur une lame propre et stérile.• Recouvrir la goutte par une lamelle en partant d'une position inclinée de 45°
Lecture : observation à l'objectif $\times 40$ (G$\times 40$) <ul style="list-style-type: none">• Visualisation des bactéries et leur mobilité, avec approche de leur mode de regroupement.• La présence des éléments cellulaires qui indique la réaction inflammatoire (les leucocytes), les hématies, les cellules épithéliales et les levures.

Examen après coloration au bleu de méthylène
Principe : Dans certains cas où nous observons des globules blancs à l'état frais, nous faisons appel à la coloration au bleu de méthylène pour déterminer l'équilibre leucocytaire, afin de distinguer le type de l'infection (bactérienne ou virale). C'est une coloration très simple qui permet non seulement la détermination de l'équilibre leucocytaire, mais aussi l'observation des bactéries, des champignons
Technique : <ul style="list-style-type: none">• Réaliser un frottis, le fixer et le sécher.• Recouvrir par le bleu de méthylène• Laisser agir 10 minutes.• Laver à l'eau du robinet, puis sécher entre deux feuilles du papier buvard.
Lecture : <ul style="list-style-type: none">• Examiner à l'objectif $\times 100$ (G$\times 100$) à immersion (avec une goutte d'huile).

Examen après coloration au bleu de méthylène

Principe :

Dans certains cas où nous observons des globules blancs à l'état frais, nous faisons appel à la coloration au bleu de méthylène pour déterminer l'équilibre leucocytaire, afin de distinguer le type de l'infection (bactérienne ou virale).

C'est une coloration très simple qui permet non seulement la détermination de l'équilibre leucocytaire, mais aussi l'observation des bactéries, des champignons

Technique :

- Réaliser un frottis, le fixer et le sécher.
- Recouvrir par le bleu de méthylène
- Laisser agir 10 minutes.
- Laver à l'eau du robinet, puis sécher entre deux feuilles du papier buvard.

Lecture :

- Examiner à l'objectif $\times 100$ (**G \times 100**) à immersion (avec une goutte d'huile).

Système Api :

Principe :

Elle comporte en général 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant a période d'incubation se traduisant par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

Technique :

- **Préparation de l'inoculum** : de charge bactérienne bien définie selon la galerie Apiutilisé.
- **Préparation de la galerie** : réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation en répartissant environ 5ml d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, puis déposer la galerie dans laboite d'incubation.
- **Inoculation de la galerie** : introduire la suspension bactérienne dans le micro-tube de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la mêmepipette sur le côté de la cupule), en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

Pour les tests encadrés : remplir les tubes et les cupules

Pour les tests soulignés : remplir les tubes avec l'inoculum, et les cupules avec la vaseline ou l'huile de paraffine.

Pour les autres tests : remplir uniquement les tubes.

- **Incubation des galeries** : refermer la boîte d'incubation et incuber à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24h.

Lecture et interprétation :

La lecture se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou de logiciel d'identification.

Annexe XV : Liste des antibiotiques à tester pour *S. pneumoniae*

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètres Critiques (mm)		
		R	I	S
Vancomycine	30µg	-----	-----	≥ 17
Erythromycine	15µg	≤ 15	16-20	≥ 21
Clindamycine	2µg	≤ 15	16-18	≥ 19
Lévofoxacine	5µg	≤ 13	14-16	≥ 17
Gémifloxacine	5µg	≤ 19	20-22	≥ 23
Doxycycline	30µg	≤ 24	25-27	≥ 28
Chloramphénicol	30µg	≤ 20	---	≥ 21
Rifampicine	5µg	≤ 16	17-18	≥ 19
Triméthoprim+Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 15	16-18	≥ 19
Quinupristine-Dalfopristine	15µg	≤ 15	16-18	≥ 19
Oxacilline	1µg		-----	≥ 20

Annexe XVI : Fiche élaborée pour les prélèvements effectués au niveau du service ORL.

**MINISTERE DE LA SANTE DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA
UNITE FRANTZ-FANON
LABORATOIRE CENTRALE DE BIOLOGIE UNITE DE MICROBIOLOGIE**

Fiche patient :

Date :

Nom et prénom :

Date de naissance :

Statut Vaccinal :

Singes cliniques :

Traitement antibiotique ultérieure :

Annexe XVII : Technique de conservation des souches du *S.pneumoniae*.

Méthode de conservation par congélation

Principe :

C'est une technique de conservation visant à faire passer un produit à l'état solide par des techniques de refroidissement forcé. Les températures de conservation sont en générale : -20C°(congélation standards) et -80C°.

La congélation à (-20C°) permet notamment la conservation des *streptococcus pneumoniae*. La congélation à (-80C°) permet une excellente conservation de la plupart des souches bactériennes (232)(3).

Technique :

- Préparation du milieu de congélation : 5cc de BGT (bouillon glucosé tamponné) ou BMH (bouillon Mueller Hinton) + 1cc du glycérol soit (20% du glycérol).
- Agiter
- Récolter les colonies du *Streptococcus pneumoniae* sur la gélose au sang (quantité importante) et faire une suspension dans le milieu de congélation.
- Répartir la suspension dans des microtubes (tube Eppendorf)
- Transférer ensuite les microtubes dans le congélateur.

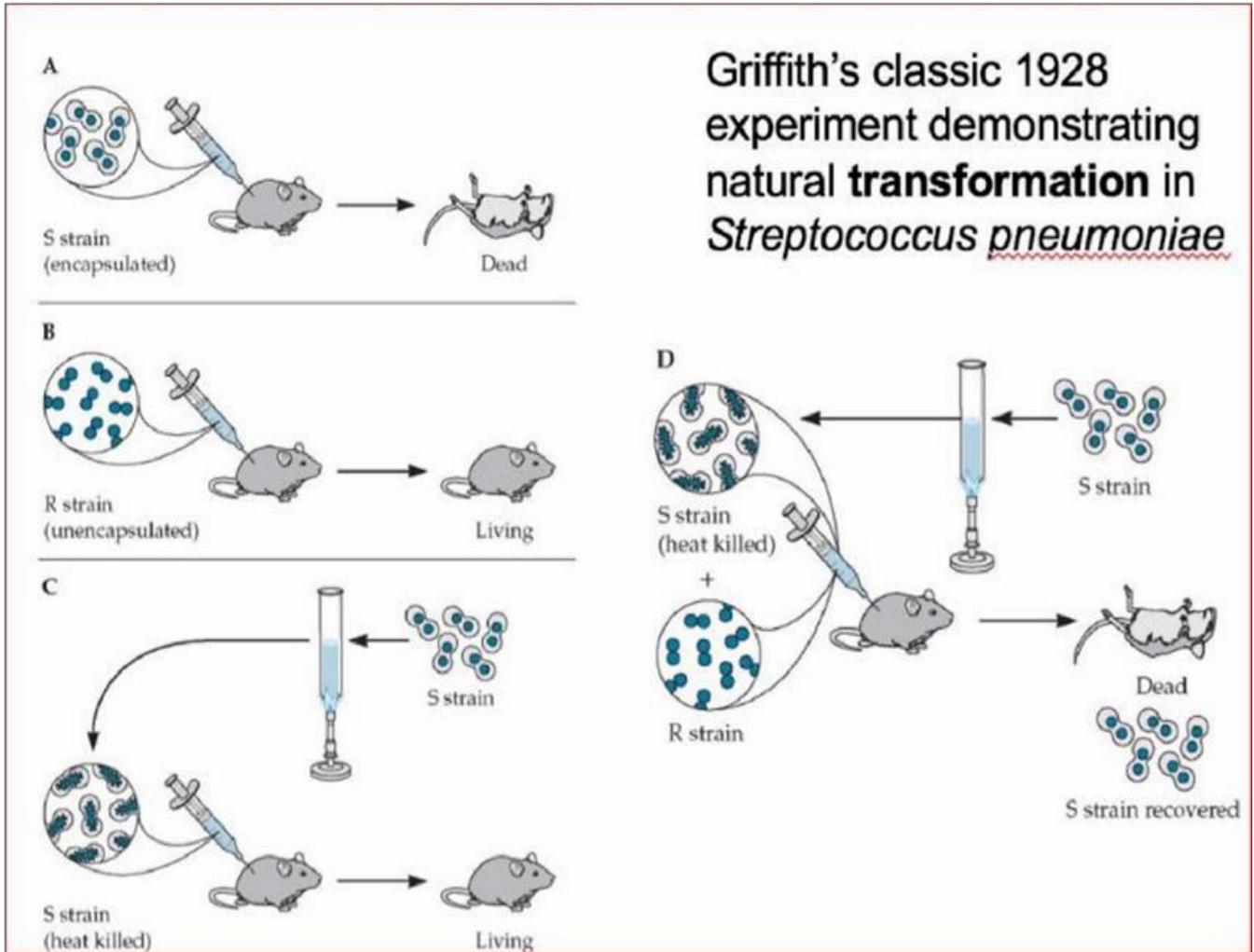
Régénération :

Il suffit de laisser la suspension se liquéfie à température ambiante puis ensemercer directement la gélose au sang frais à l'aide d'un écouvillon imbibé par cette suspension.

**Annexe XVIII : Technique de détermination de la CMI en milieu liquide
(CLSI2011)**

Technique de détermination de la CMI en milieu liquide :
<p>Principe :</p> <p>En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.</p>
<p>Technique :</p> <p>-Milieu : Répartir du Mueller Hinton (MH) liquide ajusté en cation et additionné de 2 à 5% de sang de cheval lysé et défibriné dans des tubes stériles à raison de 0,25ml par tube (ou en microplaque à fond rond ou conique à raison de 25µl par cupule).</p> <p>Contrôle de qualité : La souche <i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619 sera testée dans les mêmes conditions que les souches à tester.</p> <p>Gamme de dilutions : Dissoudre 10,24mg de poudre titrée d'antibiotique (exemple pénicilline G) dans 10ml d'eau distillée stérile, pour obtenir une solution à 1024 µg/ml.</p> <p>- Inoculum : A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures, sur gélose au sang frais, préparer une suspension de la souche à étudier dans de l'eau physiologique, d'une densité équivalente à 0,5 Mc Farland. Répartir 0,05ml (50µl) par tube ou 0,005ml (5µl) par cupule de la suspension bactérienne. Au total, dans chaque tube (ou cupule) il y a : 0,25ml (ou 25 µl) de la gamme de dilution de l'antibiotique, 50µl (ou 5µl) de l'inoculum bactérien et 0,70ml (ou 70µl) de milieu MH liquide+ sang hémolysé.</p> <p>Le tube (ou cupule) témoin comportera : 0,25ml (ou 25µl) d'eau distillée, 50 µl (ou 5µl) de l'inoculum bactérien et 0,70ml de milieu MH liquide + sang hémolysé.</p> <p>Incubation : Incuber les tubes ou les microplaques à 35°C pendant 18 à 20 heures en atmosphère ordinaire. Les micros plaques doivent être recouvertes à l'aide de couvercles.</p>
<p>Lecture :</p> <ul style="list-style-type: none">- La CMI de chaque antibiotique correspond au 1er tube ou à la 1ère cupule CLAIRE (pas de culture par rapport au témoin sans antibiotique).- Comparer la CMI lue, aux CMI critiques correspondantes à chaque antibiotique testé.- Classer les bactéries dans la catégorie R, I ou S selon le résultat.

Annexe I : L'expérience de Griffith démontrant la transformation naturelle chez le pneumocoque. (220)



Annexe II : Mise en évidence de la capsule par l'encre de chine (229)

Technique du l'encre de Chine:

Principe :

Sert à la mise en évidence de la capsule qui est une couche gélatino-muqueuse, de nature glucidique le plus souvent, présente chez certaines bactéries (*Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus...*) et chez certaines levures (*Cryptococcus*).

L'encre de Chine, suspension de particules de carbone, sert de contrastant. .

Technique :

Déposer sur une lame propre, soit une goutte de culture en milieu liquide, soit une goutte d'eau distillée dans laquelle on dissociera une parcelle de colonie.

Déposer à côté une petite goutte d'encre de Chine.

Recouvrir d'une lamelle (les deux gouttes se mélangent).

Examiner la préparation à l'objectif x 40, en particulier dans la zone où l'encre de Chine est diluée sans trop l'être (contraste adéquat).

Lecture :

La capsule apparaît comme un halo clair autour des corps bactériens

Annexe III : Protocole de la réaction de Quellung.(230) (182).

Réaction de Quellung :

Principe :

Les anticorps anticapsulaires présents dans le sérum réagissent avec la matière glucidique de la capsule pneumococcique, provoquant une réaction de la microprécipitine à la surface du *Streptococcus pneumoniae*. Cette réaction antigène-anticorps entraîne une modification de l'indice de réfraction de la capsule, de sorte qu'elle apparaît «gonflée». plus visible.

Technique :

A-Préparation d'une suspension cellulaire bactérienne

Cultiver l'isolat (s) à tester pendant 18-24 heures sur une plaque de gélose au sang à 35-37 ° C avec ~ 5% de CO₂ (ou dans un bougie-pot).

À partir de la croissance d'une nuit sur la gélose au sang, utiliser une boucle stérile pour préparer une suspension cellulaire légère à modérée (approximativement égale à un étalon de densité de 5 McFarland) dans 0,5 ml de solution saline à 0,85%.

Des réactions de quellung optimales peuvent être observées quand il y a 25-50 cellules visibles dans un champ microscopique à un grossissement de 1000X.

B. Mélange de cellules et d'antisérums sur une lame de verre

Distribuer des quantités égales d'antisérum (5 pi) et de bleu de méthylène (5 pi) sur une lame de microscope.

Ajouter environ 0,2-1,0 pi de la suspension cellulaire diluée et mélanger tous les trois avec un embout de pipette.

Couvrir la suspension avec une lamelle couvre-objet de 22 mm² et incuber à température ambiante (25 ° c) pendant 10-15 minutes.

Ne laissez pas le liquide sur la lame sécher.

C. Lecture de la réaction de Quellung à l'aide d'un microscope

Examiner la lame à 1000X en utilisant une lentille à immersion dans l'huile.

Commencer les tests avec des antisérums groupés. Une fois qu'une réaction positive est obtenue, procéder avec des antisérums individuels de groupe et de sérotype spécifique inclus dans les antisérums regroupés qui ont donné la réaction positive pour déterminer le sérotype et le sérotype.

Lecture :

Une réaction de quellung positive est observée lorsque la capsule apparaît comme un halo fortement délimité autour de la cellule colorée en bleu foncé

Une réaction d'étouffement négative est observée lorsqu'il n'y a pas d'apparition d'un halo clair et élargi entourant la cellule colorée.

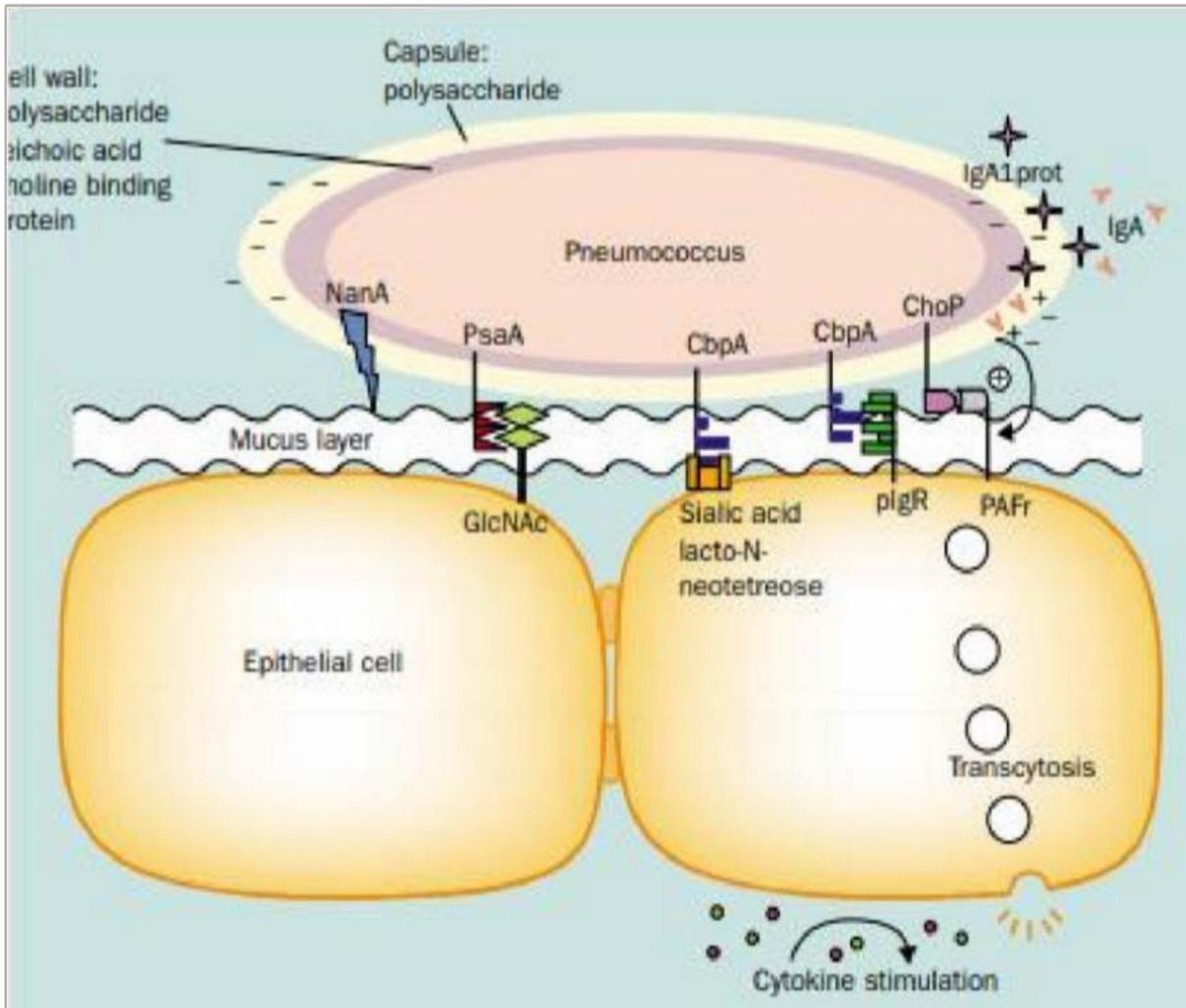
**Annexe IV : Mécanisme moléculaire responsable de la plupart des cas observés
de résistance aux antibiotique pneumococcique. (213)**

TABEAU 1

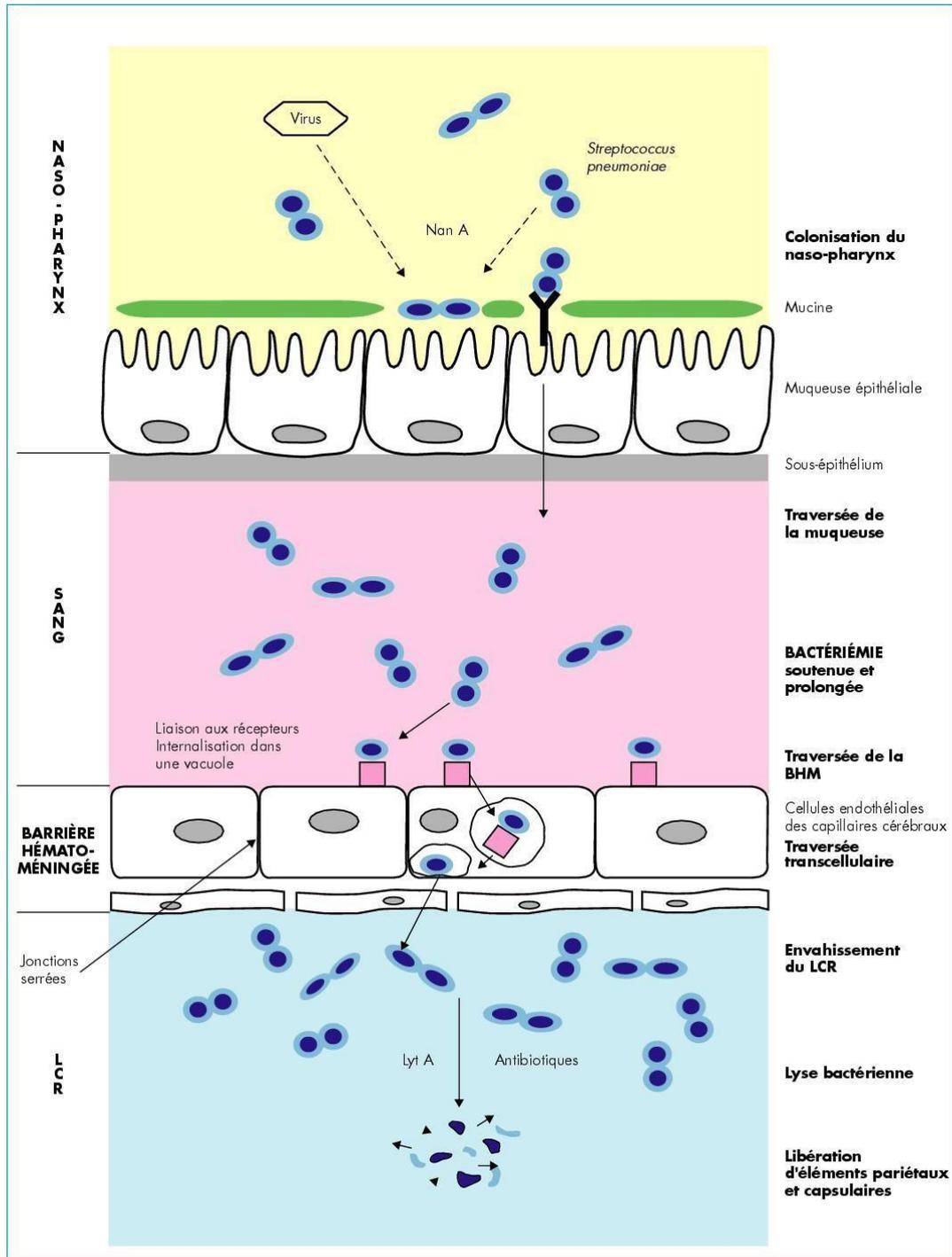
Mécanismes moléculaires responsables de la plupart des cas observés de résistance aux antibiotiques pneumococciques

Antibiotique	Mécanisme (s)
β-Lactames (pénicilline et céphalosporines)	Mutations dans les domaines de liaison à la pénicilline (transpeptidase) des gènes <i>pbp</i> (principalement <i>pbp2x</i> , <i>pbp2b</i> et <i>pbp1a</i>); des mutations dans le gène de l'aminocyl-ARNt-ligase (<i>murM</i>); mutations dans d'autres gènes, y compris <i>pdgA</i> , <i>ciaH-ciaR</i> et <i>sikP</i>
Macrolides	<i>erm</i> (23S ARNr méthyltransférases) (<i>ermB</i> et rarement <i>ermTR</i>), efflux à médiation par <i>mef</i> [<i>mef(A)</i> ou <i>mef(E)</i>], mutations dans les gènes ARNr 23S ou gènes de protéines ribosomiques L4 ou L22 (respectivement <i>rplD</i> et <i>rplV</i>)
Fluoroquinolones	Mutations dans les gènes de l'ADN gyrase (principalement <i>gyrA</i>) et / ou de la topoisomérase IV (principalement <i>parC</i>), efflux médié par la PmrA
Tétracycline	Protéines de protection ribosomales, principalement Tet (M) et rarement Tet (O)
Rifampin	Mutations dans <i>rpoB</i> codant pour la sous-unité β de l'ARN polymérase
Chloramphénicol	Inactivation du chloramphénicol par la chloramphénicol acétyltransférase codée par le <i>cat</i>
Triméthoprim- sulfaméthoxazole	Mutations du gène de la dihydrofolate réductase (<i>folA</i>) et du gène de la dihydroptéroate synthétase (<i>folP</i>)
Kétolides	Mutations dans l'ARNr 23S ou dans les gènes des protéines ribosomiques L4 ou L22 (<i>rplD</i> et <i>rplV</i>), <i>ermB</i> avec délétion ou mutation dans la séquence leader
Oxazolidinones	Mutations dans les gènes de l'ARNr 23S, délétions dans le gène de la protéine ribosomique L4 <i>rplD</i>

Annexe V : : Interaction entre *S. pneumoniae* et les cellules épithéliales (182)



Annexe VI : Passage du *S. pneumoniae* dans le LCR. (182)



Annexe VII : Les facteurs de virulences. (112)

Tableau I. Rôle des facteurs de virulence de *S. pneumoniae*.

Éléments de surface du pneumocoque intact = Échappement au système immunitaire de l'hôte

Capsule polysaccharidique Gène considérablement l'opsono-phagocytose (\pm efficace suivant le sérotype)
Forte diminution de l'activation de la voie alterne du complément (voie activée sans anticorps)

Protéines de surface : Activité anti-phagocytaire : inhibe la voie alterne du complément
PspA et PspC Apport de fer pour la croissance in vivo grâce à la fixation de PspA à la lactoferrine

Facteurs exprimés après la lyse bactérienne = Effets délétères pour l'hôte

Pneumolysine Activité cytotoxique : lyse cellulaire, inhibe ou réduit l'action du système immunitaire
non spécifique et spécifique
Active la voie classique du complément au profit de la bactérie ; amplifie la réaction inflammatoire :
détruit l'épithélium des voies respiratoires supérieures et des alvéoles

Paroi cellulaire : Induit des réactions inflammatoires puissantes
Peptidoglycane Active la voie alterne du complément ; stimule la production d'IL₁ (acide téichoïque)
Acides (lipo)téichoïques Attachement aux cellules hôtes préalablement activées via les récepteurs du PAF ; active la voie
Phosphorylcholine classique du complément en se fixant à la CRP (phosphorylcholine)

Facteurs contributifs à la virulence

Autolysines : LytA libère la pneumolysine, les fragments pariétaux et autres composés non excrétés
LytA, LytB et LytC LytB et LytC facilitent probablement la colonisation du nasopharynx

IgA protéase Portage oropharyngé ; colonisation des muqueuses ; gêne la phagocytose

CbpA (adhésine) Colonisation du nasopharynx ; adhésion aux cellules eucaryotes activées par des cytokines

Peptide-perméases Augmente l'adhésion aux cellules

Neuraminidases : Persistance dans le nasopharynx ; adhésion aux cellules épithéliales ; colonisation du système
NanA et NanB respiratoire ; participe à la cytotoxicité cellulaire en association avec la pneumolysine

Hyaluronidase lyase Facilite l'invasion systémique ; facteur important pour la pathogenèse des méningites

Sérine protéase Facilite l'invasion systémique et la formation d'œdèmes

PsaA (transporteur d'ions) Importe les ions Mn²⁺ essentiels à la virulence

Tous gènes impliqués dans la survie et l'adaptation aux différentes conditions environnementales de l'hôte

Annexe VIII : Le Nouveau calendrier vaccinal en Algérie (www.sante.gov.dz/). (212)

NOUVEAU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION

Vaccin \ Âge	Naissance	2 mois	3 mois	4 mois	11 mois	12 mois	18 mois	6 ans	11-13 ans	16-18 ans	Tous les 10 ans à partir de 18 ans
BCG	BCG										
HVB	HVB										
VPO	VPO	VPO		VPO		VPO		VPO	VPO		
DTC-Hib-HVB		DTC Hib HVB		DTC Hib HVB		DTC Hib HVB					
Pneumocoque		Pneumo-coque		Pneumo-coque		Pneumo-coque					
VPI			VPI								
ROR					ROR		ROR				
DTC								DTC			
dT Adulte									dT Adulte	dT Adulte	dT Adulte

BCG : tuberculose, **HVB** : hépatite B, **VPO** : poliomyélite orale, **DTC-Hib-HVB** : Diphtérie-Tétanos- Coqueluche- Haemophilus influenzae type b-Hépatite B, **VPI** : poliomyélite injectable, **ROR** : Rougeole-Oreillons-Rubéole, **DTC** : Diphtérie Tétanos Coqueluche, **dT Adulte** : diphtérie Tétanos Adulte

Annexe XI : Arrête ministériel de la mise de nouveau programme vaccinal. (212)

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
 وزارة الصحة، السكان وإسئاع المتخفياص
MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
 المديرية العامة للوقاية و ترقية الصحة
 DIRECTION GENERALE DE LA PREVENTION
 ET DE LA PROMOTION DE LA SANTE

INSTRUCTION N°10 DU 24 AVRIL 2016
RELATIVE
A LA MISE EN ŒUVRE DU NOUVEAU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION
DIMANCHE 24 AVRIL 2016

Destinataires		
	<ul style="list-style-type: none"> - Monsieur le Directeur Général de l'INSP - Monsieur le Directeur Général de l'IPA - Mesdames et Messieurs les Directeurs de Santé et de la Population : 	Pour exécution Pour exécution et suivi
	En communication à Mesdames et Messieurs : <ul style="list-style-type: none"> • Les Directeurs des Etablissements Hospitaliers • Les Directeurs des Etablissements Hospitaliers Spécialisés • Les Directeurs des Etablissements Publics Hospitaliers • Les Directeurs des Etablissements Publics de Santé de Proximité • Les Directeurs des Etablissements Hospitaliers Privés et les responsables de Cabinets médicaux agréés 	Pour exécution
	<ul style="list-style-type: none"> • Mesdames et Messieurs les Directeurs Généraux de l'EHU d'Oran et des CHU 	Pour exécution

Le programme de vaccination a toujours été une des préoccupations majeures du MSPRH, et ce d'autant que la vaccination constitue une composante essentielle du droit à la santé et qu'elle a pour but de réduire significativement la morbidité et la mortalité attribuables aux maladies cibles contrôlables par la vaccination, contribuant ainsi à réduire la mortalité infantile.

Dans ce cadre, le MSPRH a entrepris de mettre en œuvre un nouveau calendrier national de vaccination, introduisant simultanément quatre nouveaux vaccins. Cette actualisation tient compte de la situation épidémiologique et de ses tendances, du plan d'action mondial pour les vaccins, des recommandations de l'OMS et des avancées technologiques dans le domaine des vaccins.

La présente instruction vient fixer les modalités de mise en œuvre de ce nouveau calendrier national de vaccination.

• CONCERNANT LA DATE DE MISE EN ŒUVRE DU NOUVEAU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION

Le nouveau calendrier national de vaccination est applicable à partir du **Dimanche 24 Avril 2016**. Cette date coïncidera avec la célébration de la semaine mondiale et africaine de la vaccination.

• CONCERNANT LA COMPOSITION DU NOUVEAU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION

Le calendrier national de vaccination conformément à l'arrêté ministériel du 24 novembre 2014, a vu l'introduction simultanée de quatre nouveaux vaccins : i) le vaccin antipoliomyélitique injectable (VPI), ii) le vaccin anti-rubéoleux, iii) le vaccin anti-ourlien (contre les oreillons), iv) le vaccin anti-pneumococcique. Il se compose comme suit :

Âges de la vaccination	Vaccins
Naissance	BCG-VPO-HVB
2 mois	DTC-Hib-HVB + VPO + anti pneumococcique
3 mois	VPI
4 mois	DTC- Hib HVB + VPO + anti pneumococcique
11 mois	ROR
12 mois	DTC Hib HVB + VPO + anti pneumococcique
18 mois	ROR
6 ans	DTC + VPO
11-13 ans	Dt + VPO
16-18 ans	dT
Tous les 10 ans à partir de 18 ans	dT

• CONCERNANT LES NOUVEAUX VACCINS DU CALENDRIER NATIONAL DE VACCINATION

1. LE VACCIN ANTIPOLIOMYELITIQUE INJECTABLE (VPI)

La vaccination au Vaccin Polio Injectable (VPI) a été introduite depuis le **15 décembre 2015**, et a touché tous les nourrissons nés à partir du **15 septembre 2015**.

• Description

Le VPI est un vaccin trivalent qui contient les trois types de virus (1, 2,3) sous forme inactivée.

• Présentation

Le VPI se présente sous forme liquide en flacons multidoses (5 doses et 10 doses).

• Conservation

Le VPI étant sensible à la chaleur, il doit être stocké à une température comprise entre + 2°C et + 8°C et à l'abri de la lumière.

Le VPI est sensible au gel et ne doit pas être congelé.

Annexe X : Schéma vaccinal antipneumococcique

vaccin anti pneumococcique	2 mois	3 mois	4 mois	12 mois
Chez les nourrissons	première injection		deuxième injection	rappel
Chez les prématurés	première injection	deuxième injection	Troisième injection	rappel

Annexe IX : Matériel non biologique disponible au laboratoire. (Originale)

Equipements	Fournitures	Verrerie
<ul style="list-style-type: none"> -Paillasse -L'évier et eau courante -Eau physiologique -Bec bunsen -Microscope optique - Etuve à 35°C. -Séchoir -Réfrigérateur -Congélateur -Bain-marie -Densitomètre 	<ul style="list-style-type: none"> -Blouse de laboratoire -Gants -Savon pour les mains -Liquide désinfectant -Ances, ciseaux et pinces -Collecteurs des objets -Portoirs pour tubes -Disques d'ATB -Bougie, bocal et jarre -Ecouillons en coton stérile -Paires et embouts -Seringues stériles -Huile à immersion -Huile de vaseline stérile -Pied à Coulisse métallique 	<ul style="list-style-type: none"> -Boite de Pétrie 90 mm de diamètre en plastiques -Lame et lamelle -Pipettes Pasteur -Tubes à essai stériles -Tubes secs -Cellule de Nageotte et cellule de Malassez
Milieu de culture et d'identification	Solution de coloration	Réactifs d'identification
<ul style="list-style-type: none"> - Milieu de Mueller Hinton. - Milieu de conservation. - Galeries API 20. -Milieu sang frais. -Milieu sang cuit. 	<ul style="list-style-type: none"> - Violet de gentiane. - Lugol. - Bleu de méthylène. - Fuschine. - Alcool éthylique à 95°. 	<ul style="list-style-type: none"> -eau oxygénée -Disque d'optochine - latex anti <i>S.pneumoniae</i> -disques d'antibiotiques -Bandelette E test

Annexe XII : Mode de prélèvement et condition de transport et de conservation .

- **Mode de prélèvement :**

Les PDP : Nécessitent un double cathéter lié à une seringue qui est introduite par l'oropharynx et dirigée à l'aveugle vers les bronches, les sécrétions bronchiques sont alors aspirées. Le cathéter est coupé dans un tube stérile. **(142)**

LBA : Après introduction de bronchoscope et son blocage dans une bronche segmentaire ou sous segmentaire, 50ml de sérum physiologique sont instillés en 5 à 6 fois puis aspiré pour recueillir les sécrétions. Le produit (sécrétion + eau physiologique stérile) est recueilli dans un dispositif stérile. Centrifugé les prélèvements pendant 10 min à 3000 tours par minute, jeter le surnageant et homogénéiser le culot. Travailler sur le culot. **(142)**

Liquide céphalorachidien : Est réalisé par ponction lombaire, ponction sous occipitale ou intraventriculaire avec une asepsie rigoureuse. Recueillir 3 ml de LCR dans 3 tubes stériles en verre numérotés 1, 2, 3 servant respectivement à l'examen biochimique, microbiologique et cytologique. **(142)**

Les hémocultures : Sont effectués après désinfection de la surface à prélever et des mains de préleveur et en dehors de toute antibiothérapie. Une série d'au moins trois flacons est prélevée dans des sites différents, le type des flacons est de préférence le milieu basique où 5 à 10cc de sang inoculé par flacon. **(142)**

Pus auriculaire : Est réalisé à l'aide d'un cathlon monté sur seringue puis versé le pus dans un pot stérile ou à l'aide de deux écouvillons fins montés sur tige métallique, le premier sert à préparer un frottis et le second à ensemercer les milieux de culture. **(142)**

Liquide pleurale : La ponction pleurale est faite à l'aiguille après une désinfection de la région costale à l'aide d'une solution antiseptique. **(142)**

Les crachats : Sont effectués le matin, chez un sujet qui a préalablement rincé la bouche à l'eau, à la suite d'un effort de toux et provoque les sécrétions bronchiques accumulées pendant la nuit. Un volume de 5 ml représente une quantité convenable, le minimum exigible est de 2 ml. **(142)**

- **modalités de conservation et de transport :**

-Les prélèvements sont acheminés au laboratoire toute en respectant les modalités du transport et conservation.

-L'emballage primaire (récipient) contenant le matériel biologique doit être étanche (flacons stériles...)

-La plupart des échantillons primaires peuvent être transportés à température ambiante (22°C) s'ils sont apportés rapidement au laboratoire (délai inférieur à 4h).

-Pour le LCR, les échantillons doivent être acheminés au moins de 30 min, température ambiante ou immédiatement si forte suspicion de méningite infectieuse.

-Dans le cas des prélèvements d'origine pulmonaire (PDP, crachat, LBA) doivent être transportés au moins de 2h à température ambiante.

- Enfin pour les hémocultures le délai du transport est au maximum 12h à température ambiante.

-Les bactéries qui ne supportent pas de délai peuvent être préservées dans des milieux de transport. **(143)**

Annexe XIII : Fiche de renseignement

MINISTERE DE LA SANTE DE LA POPULATION ET DE LA
REFORME HOSPITALIERE CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE
BLIDA UNITE FRANTZ-FANON LABORATOIRE CENTRALE DE
BIOLOGIE UNITE
DE MICROBIOLOGIE

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

N d'ordre :

Nom et Prénoms :

Age :

Service :

Nature du prélèvement :

Date : et heure du prélèvement :

Examens demandés :

Traitement éventuel :

-Antibiothérapie : -préventive

-Curative

- Autre traitement :

Renseignements cliniques [maladie associée, antécédent ...]

Bilan biologique :

Autres explorations :

Hospitalisation :

Motif d'admission :

Date d'entrée :

Date de sortie :

Signature et griffe du médecin.

Annexe XIV : Fiches techniques

Examen à l'état frais
Principe : C'est une méthode rapide qui permet d'observer entre lame et lamelle les bactéries vivantes mobiles et immobiles, les différentes structures cellulaires de la réaction inflammatoire (les leucocytes), les hématies, les cellules épithéliales et les levures.
Technique : <ul style="list-style-type: none">• Humidifier l'écouvillon avec une goutte d'eau physiologique pour faciliter l'étalement sur la lame• Déposer une goutte de prélèvement sur une lame propre et stérile.• Recouvrir la goutte par une lamelle en partant d'une position inclinée de 45°
Lecture : observation à l'objectif $\times 40$ (G$\times 40$) <ul style="list-style-type: none">• Visualisation des bactéries et leur mobilité, avec approche de leur mode de regroupement.• La présence des éléments cellulaires qui indique la réaction inflammatoire (les leucocytes), les hématies, les cellules épithéliales et les levures.

Examen après coloration au bleu de méthylène
Principe : Dans certains cas où nous observons des globules blancs à l'état frais, nous faisons appel à la coloration au bleu de méthylène pour déterminer l'équilibre leucocytaire, afin de distinguer le type de l'infection (bactérienne ou virale). C'est une coloration très simple qui permet non seulement la détermination de l'équilibre leucocytaire, mais aussi l'observation des bactéries, des champignons
Technique : <ul style="list-style-type: none">• Réaliser un frottis, le fixer et le sécher.• Recouvrir par le bleu de méthylène• Laisser agir 10 minutes.• Laver à l'eau du robinet, puis sécher entre deux feuilles du papier buvard.
Lecture : <ul style="list-style-type: none">• Examiner à l'objectif $\times 100$ (G$\times 100$) à immersion (avec une goutte d'huile).

Examen après coloration au bleu de méthylène

Principe :

Dans certains cas où nous observons des globules blancs à l'état frais, nous faisons appel à la coloration au bleu de méthylène pour déterminer l'équilibre leucocytaire, afin de distinguer le type de l'infection (bactérienne ou virale).

C'est une coloration très simple qui permet non seulement la détermination de l'équilibre leucocytaire, mais aussi l'observation des bactéries, des champignons

Technique :

- Réaliser un frottis, le fixer et le sécher.
- Recouvrir par le bleu de méthylène
- Laisser agir 10 minutes.
- Laver à l'eau du robinet, puis sécher entre deux feuilles du papier buvard.

Lecture :

- Examiner à l'objectif $\times 100$ (**G \times 100**) à immersion (avec une goutte d'huile).

Système Api :

Principe :

Elle comporte en général 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant a période d'incubation se traduisant par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

Technique :

- **Préparation de l'inoculum :** de charge bactérienne bien définie selon la galerie Api utilisé.
- **Préparation de la galerie :** réunir le fond et le couvercle d'une boite d'incubation en répartissant environ 5ml d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, puis déposer la galerie dans la boite d'incubation.
- **Inoculation de la galerie :** introduire la suspension bactérienne dans le micro-tube de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la même pipette sur le côté de la cupule), en inclinant légèrement la boite d'incubation vers l'avant.

Pour les tests encadrés : remplir les tubes et les cupules

Pour les tests soulignés : remplir les tubes avec l'inoculum, et les cupules avec la vaseline ou l'huile de paraffine.

Pour les autres tests : remplir uniquement les tubes.

- **Incubation des galeries :** refermer la boite d'incubation et incuber à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24h.

Lecture et interprétation :

La lecture se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou de logiciel d'identification.

Annexe XV : Liste des antibiotiques à tester pour *S. pneumoniae*

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètres Critiques (mm)		
		R	I	S
Vancomycine	30µg	-----	-----	≥ 17
Erythromycine	15µg	≤ 15	16-20	≥ 21
Clindamycine	2µg	≤ 15	16-18	≥ 19
Lévofoxacine	5µg	≤ 13	14-16	≥ 17
Gémifloxacine	5µg	≤ 19	20-22	≥ 23
Doxycycline	30µg	≤ 24	25-27	≥ 28
Chloramphénicol	30µg	≤ 20	---	≥ 21
Rifampicine	5µg	≤ 16	17-18	≥ 19
Triméthoprim+Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 15	16-18	≥ 19
Quinupristine-Dalfopristine	15µg	≤ 15	16-18	≥ 19
Oxacilline	1µg		-----	≥ 20

Annexe XVI : Fiche élaborée pour les prélèvements effectués au niveau du service ORL.

**MINISTERE DE LA SANTE DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA
UNITE FRANTZ-FANON
LABORATOIRE CENTRALE DE BIOLOGIE UNITE DE MICROBIOLOGIE**

Fiche patient :

Date :

Nom et prénom :

Date de naissance :

Statut Vaccinal :

Singes cliniques :

Traitement antibiotique ultérieure :

Annexe XVII : Technique de conservation des souches du *S.pneumoniae*.

Méthode de conservation par congélation

Principe :

C'est une technique de conservation visant à faire passer un produit à l'état solide par des techniques de refroidissement forcé. Les températures de conservation sont en générale :
-20C°(congélation standards) et -80C°.

La congélation à (-20C°) permet notamment la conservation des *streptococcus pneumoniae*.
La congélation à (-80C°) permet une excellente conservation de la plupart des souches bactériennes (232)(3).

Technique :

- Préparation du milieu de congélation : 5cc de BGT (bouillon glucosé tamponné) ou BMH (bouillon Mueller Hinton) + 1cc du glycérol soit (20% du glycérol).
- Agiter
- Récolter les colonies du *Streptococcus pneumoniae* sur la gélose au sang (quantité importante) et faire une suspension dans le milieu de congélation.
- Répartir la suspension dans des microtubes (tube Eppendorf)
- Transférer ensuite les microtubes dans le congélateur.

Régénération :

Il suffit de laisser la suspension se liquéfie à température ambiante puis ensemencer directement la gélose au sang frais à l'aide d'un écouvillon imbibé par cette suspension.

**Annexe XVIII : Technique de détermination de la CMI en milieu liquide
(CLSI2011)**

Technique de détermination de la CMI en milieu liquide :

Principe :

En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

Technique :

-Milieu : Répartir du Mueller Hinton (MH) liquide ajusté en cation et additionné de 2 à 5% de sang de cheval lysé et défibriné dans des tubes stériles à raison de 0,25ml par tube (ou en microplaque à fond rond ou conique à raison de 25µl par cupule).

Contrôle de qualité : La souche *S. pneumoniae* ATCC 49619 sera testée dans les mêmes conditions que les souches à tester.

Gamme de dilutions : Dissoudre 10,24mg de poudre titrée d'antibiotique (exemple pénicilline G) dans 10ml d'eau distillée stérile, pour obtenir une solution à 1024 µg/ml.

- Inoculum : A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures, sur gélose au sang frais, préparer une suspension de la souche à étudier dans de l'eau physiologique, d'une densité équivalente à 0,5 Mc Farland. Répartir 0,05ml (50µl) par tube ou 0,005ml (5µl) par cupule de la suspension bactérienne. Au total, dans chaque tube (ou cupule) il y a : 0,25ml (ou 25 µl) de la gamme de dilution de l'antibiotique, 50µl (ou 5µl) de l'inoculum bactérien et 0,70ml (ou 70µl) de milieu MH liquide+ sang hémolysé.

Le tube (ou cupule) témoin comportera : 0,25ml (ou 25µl) d'eau distillée, 50 µl (ou 5µl) de l'inoculum bactérien et 0,70ml de milieu MH liquide + sang hémolysé.

Incubation : Incuber les tubes ou les microplaques à 35°C pendant 18 à 20 heures en atmosphère ordinaire. Les micros plaques doivent être recouvertes à l'aide de couvercles.

Lecture :

- La CMI de chaque antibiotique correspond au 1er tube ou à la 1ère cupule CLAIRE (pas de culture par rapport au témoin sans antibiotique).

- Comparer la CMI lue, aux CMI critiques correspondantes à chaque antibiotique testé.

- Classer les bactéries dans la catégorie R, I ou S selon le résultat.

RÉSUMÉ

Introduction : La maladie pneumococcique se réfère à un large éventail d'infections causées par la bactérie *Streptococcus pneumoniae*. La prise en charge de ces infections a été aggravée par l'augmentation rapide de la résistance à la pénicilline et aux autres antibiotiques dans le monde.

Objectifs : Notre travail a pour objectifs, d'estimer l'implication des souches de *S. pneumoniae* isolées des infections invasives et non invasives diagnostiquées au niveau du CHU- BLIDA unité FRANTZ-FANON ainsi que de déterminer leurs profils de résistance aux antibiotiques

Matériel et Méthodes : L'étude a porté sur toutes les souches de *S.pneumoniae* isolées des prélèvements non stériles (pus auriculaire) et normalement stériles (LCR, PDP, LBA, hémoculture), de janvier 2013 à avril 2018. L'isolement et l'identification de *S. pneumoniae* ont été faits selon les techniques décrites dans le Référentiel de Microbiologie Médicale (**REMIC 2015**) et Les conditions d'essai et l'interprétation de la sensibilité aux antibiotique ont suivi les normes proposées par le Clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI 2011**). Les données cliniques ont été collectées grâce à l'étude des dossiers médicaux des patients.

Résultats : *S. pneumoniae* représente **02.76 % (59 /2131)** du totale des souches bactériennes isolées. **57.62 % (34/59)** étaient des infections non invasives (otites), observées principalement chez les nourrissons (**5/10**), sexe ratio de **1,42** .Versus **42,38%(25/59)** d'infections invasives, **50%** des patients étaient âgés entre **18** et **40** ans. Le sexe ratio est de **1,7**.Parmi les infections invasives : **15,25%(9/59)** sont des méningites, **13,55%(8/59)** des pneumonies, **6,77%(6/59)** des bactériémies, **3,38%(2/59)** des pleurésies et **3,38%(2/59)** des endocardites. Plus de la moitié des cas de pneumonie avaient un caractère nosocomial. On a constaté que le pneumocoque occupe la dernière place des étiologies bactériennes quel que soit le type de l'infection : **3,88%** (pneumonie) ; **3,53%** (otite) ; **3,23%** (méningite) ; **1%**(bactériémie). Un taux alarmant de **80 % (12/15)** des souches PSDP a été révélé .Des taux de résistance élevés ont été signalé avec l'érythromycine (**54%**), le cotrimoxazol et à la clindamycine (**46%**) pour chacune. **9** souches multi résistante ont été isolées.

Conclusion : Nos résultats révèlent un sous diagnostique des infections à pneumocoque au niveau de CHU- BLIDA unité Frantz-Fanon, l'implication du pneumocoque dans plusieurs types d'infections et sa résistance croissante aux antibiotiques rendant le traitement difficile. L'introduction récente du vaccin antipneumococcique en Algérie peut contribuer à la diminution de ces infections.

Mots clés : *Streptococcus pneumoniae*, infections invasives, infection non invasives, PSDP.

ABSTRACT

Introduction: Pneumococcal disease refers to a wide range of infections caused by the *Streptococcus pneumoniae* bacterium. The management of these infections has been exacerbated by the rapid increase in resistance to penicillin and other antibiotics worldwide.

Objectives: Our work aims to estimate the involvement of *S. pneumoniae* strains isolated from invasive and non-invasive infections diagnosed at the CHU-BLIDA FRANTZ-FANON unit and to determine their antibiotic resistance profile.

Material and methods: The study included all strains of *S. pneumoniae* isolated from non-sterile and supposed sterile (CSF, PDP, BAL, blood culture) samples from January. 2013 to April 2018. The isolation and identification of *S. pneumoniae* was carried out according to the techniques described in the Medical Microbiology Referential (**REMIC 2015**) and the study of their sensitivity to antibiotics according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI 2011**). The Clinical data collected through the study of patients' medical records.

Results: *S. pneumoniae* represents **02.76% (59/2131)** of the total isolated bacterial strains. **57.62% (34/59)** of non-invasive infections represented by otitis, observed mainly in infants (**5/10**), sex ratio of **1.42**. Versus **42.38% (25/59)** of invasive infections, **50 %** of patients were aged between **18** and **40** years. The sex ratio is **1.7**. Among invasive infections : **15.25% (9/25)** are meningitis, **13.55%(8/59)** pneumonia, **6.77%(6/59)** bacteremia, **3.38 % (2/59)** of pleurisy and **3.38%(2/59)** of endocarditis. More than half of the cases of pneumonia had a nosocomial character. Pneumococcus was found to be the last of the bacterial etiologies, regardless of the type of infection with **3.88%** (pneumoniae); **3.53%** (otitis); **3.23%** (meningitis); **1%** (bacteremia). An alarming rate of **80%(12/15)** of PSDP strains was revealed. High levels of resistance were reported with erythromycin (**54%**), cotrimoxazol and clindamycin (**46%**) for each. 9 multi-resistant strains (**BMR**) has been isolated.

Conclusion : Our results reveal an under diagnosed pneumococcal infection at BLIDA's CHU Frantz-Fanon unit, the involvement of pneumococcus in several types of infections and its increasing resistance to antibiotics making treatment difficult. The recent introduction of pneumococcal vaccine in Algeria can contribute to the reduction of these infections.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, invasive infections, non-invasive infection, PSDP.

Moussaoui kenza Kenzaoui.mouss@gmail.com	Djezzar Maroua marwawiwi0909@gmail.com
--	--

RÉSUMÉ

Introduction : La maladie pneumococcique se réfère à un large éventail d'infections causées par la bactérie *Streptococcus pneumoniae*. La prise en charge de ces infections a été aggravée par l'augmentation rapide de la résistance à la pénicilline et aux autres antibiotiques dans le monde.

Objectifs : Notre travail a pour objectifs, d'estimer l'implication des souches de *S. pneumoniae* isolées des infections invasives et non invasives diagnostiquées au niveau du CHU- BLIDA unité FRANTZ- FANON ainsi que de déterminer leurs profils de résistance aux antibiotiques

Matériel et Méthodes : L'étude a porté sur toutes les souches de *S.pneumoniae* isolées des prélèvements non stériles (pus auriculaire) et normalement stériles (LCR, PDP, LBA, hémoculture), de janvier 2013 à avril 2018. L'isolement et l'identification de *S. pneumoniae* ont été faits selon les techniques décrites dans le Référentiel de Microbiologie Médicale (**REMIC 2015**) et Les conditions d'essai et l'interprétation de la sensibilité aux antibiotique ont suivi les normes proposées par le Clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI 2011**). Les données cliniques ont été collectées grâce à l'étude des dossiers médicaux des patients.

Résultats : *S. pneumoniae* représente **02.76 % (59 /2131)** du totale des souches bactériennes isolées. **57.62 % (34/59)** étaient des infections non invasives (otites), observées principalement chez les nourrissons (**5/10**), sexe ratio de **1,42**. Versus **42,38%(25/59)** d'infections invasives, **50%** des patients étaient âgés entre **18 et 40** ans. Le sexe ratio est de **1,7**. Parmi les infections invasives : **15,25%(9/59)** sont des méningites, **13,55%(8/59)** des pneumonies, **6,77%(6/59)** des bactériémies, **3,38%(2/59)** des pleurésies et **3,38%(2/59)** des endocardites. Plus de la moitié des cas de pneumonie avaient un caractère nosocomial. On a constaté que le pneumocoque occupe la dernière place des étiologies bactériennes quel que soit le type de l'infection : **3,88%** (pneumonie) ; **3,53%** (otite) ; **3,23%** (méningite) ; **1%**(bactériémie). Un taux alarmant de **80 % (12/15)** des souches PSDP a été révélé. Des taux de résistance élevés ont été signalés avec l'érythromycine (**54%**), le cotrimoxazol et à la clindamycine (**46%**) pour chacune. **9** souches multi résistantes ont été isolées.

Conclusion : Nos résultats révèlent un sous diagnostic des infections à pneumocoque au niveau de CHU- BLIDA unité Frantz-Fanon, l'implication du pneumocoque dans plusieurs types d'infections et sa résistance croissante aux antibiotiques rendant le traitement difficile. L'introduction récente du vaccin antipneumococcique en Algérie peut contribuer à la diminution de ces infections.

Mots clés : *Streptococcus pneumoniae*, infections invasives, infection non invasives, PSDP.

ABSTRACT

Introduction: Pneumococcal disease refers to a wide range of infections caused by the *Streptococcus pneumoniae* bacterium. The management of these infections has been exacerbated by the rapid increase in resistance to penicillin and other antibiotics worldwide.

Objectives: Our work aims to estimate the involvement of *S. pneumoniae* strains isolated from invasive and non-invasive infections diagnosed at the CHU-BLIDA FRANTZ-FANON unit and to determine their antibiotic resistance profile.

Material and methods: The study included all strains of *S. pneumoniae* isolated from non-sterile and supposed sterile (CSF, PDP, BAL, blood culture) samples from January. **2013** to April **2018**. The isolation and identification of *S. pneumoniae* was carried out according to the techniques described in the Medical Microbiology Referential (**REMIC 2015**) and the study of their sensitivity to antibiotics according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI 2011**). The Clinical data collected through the study of patients' medical records.

Results: *S. pneumoniae* represents **02.76% (59/2131)** of the total isolated bacterial strains. **57.62% (34/59)** of non-invasive infections represented by otitis, observed mainly in infants (**5/10**), sex ratio of **1.42**. Versus **42.38% (25/59)** of invasive infections, **50 %** of patients were aged between **18 and 40** years. The sexe ratio is **1.7**. Among invasive infections : **15.25% (9/25)** are meningitis, **13.55%(8/59)** pneumonia, **6.77%(6/59)** bacteremia, **3.38 % (2/59)** of pleurisy and **3.38%(2/59)** of endocarditis. More than half of the cases of pneumonia had a nosocomial character. Pneumococcus was found to be the last of the bacterial etiologies, regardless of the type of infection with **3.88%** (pneumoniae); **3.53%** (otitis); **3.23%** (meningitis); **1%** (bacteremia). An alarming rate of **80%(12/15)** of PSDP strains was revealed. High levels of resistance were reported with erythromycin (**54%**), cotrimoxazol and clindamycin (**46%**) for each. **9** multi-resistant strain (**BMR**) has been isolated.

Conclusion : Our results reveal an under diagnosed pneumococcal infection at BLIDA's CHU Frantz-Fanon unit, the involvement of pneumococcus in several types of infections and its increasing resistance to antibiotics making treatment difficult. The recent introduction of pneumococcal vaccine in Algeria can contribute to the reduction of these infections.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, invasive infections, non-invasive infection, PSDP.

ملخص

مقدمة: يشير مرض المكورات الرئوية إلى مجموعة واسعة من العدوى التي تسببها بكتيريا العقديّة الرئوية. وقد تفاقم التكفل بهذه العدوى من خلال زيادتها السريعة في مقاومة البنسلين والمضادات الحيوية الأخرى في جميع أنحاء العالم.

الأهداف: أهداف عملنا، هي تقدير المكانة التي تحتلها المكورة الرئوية في الالتهابات الغازية وغير الغازية المشخصة في المستشفى الجامعي البلّيدة وحدة فرانز فانون وتقييم مقاومة سلالات المكورات الرئوية المعزولة للمضادات الحيوية.

المواد وطرق: شملت الدراسة جميع سلالات المكورة الرئوية المعزولة من عينات غير معقمة (قيح الأذن) و المعقمة (السائل الدماغي الشوكي، السائل القصيبي، الدم) خلال الفترة من جانفي 2013 إلى أفريل 2018. تم تنفيذ العزل والتعرف على المكورة الرئوية وفقا للتقنيات الموضحة في مرجع الميكروبيولوجيا الطبي **2015 REMIC** ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية وفقا لتوصيات معهد المعايير السريرية والمخبرية **CLSI2011** تم جمع البيانات السريرية من خلال دراسة السجلات الطبية للمرضى.

النتائج: المكورة الرئوية تمثل **2,76% 2131/59** من مجموع السلالات البكتيرية المعزولة. **57,62% 59/34** من العدوى غير الغازية الممثلة في التهاب الأذن، لوحظت بشكل رئيسي عند الرضع **10/5**، نسبة الجنس **1,42**. مقارنة مع **42,38%** من العدوى الغازية، **50%** من المرضى تتراوح أعمارهم ما بين 18 و40 سنة. نسبة الجنس هي **1,7**. من العدوى الغازية: **15,25%** هي التهاب السحايا، **13,55%** الالتهاب الرئوي، **6,77%** تجرثم الدم، **3,38%** التهاب الجنبية و**3,83%** التهاب الشغاف. كان أكثر من نصف حالات الالتهاب الرئوي ذات طبيعة مستشفوية، حيث وجد أن المكورات الرئوية هي آخر المسببات البكتيرية، بغض النظر عن نوع العدوى بـ: **3,88%** الرئوية. **3,53%** التهاب الأذن **3,23%** التهاب السحايا **1%** تجرثم الدم. وقد تم الكشف عن نسبة مقلقة **80%** من سلالات المكورات الرئوية ذات حساسية متناقصة للبنسلين. معدلات مقاومة كبيرة تم التبليغ عنها مع الاريثروميسين **54%**، والكوتريموكسارول والكلينداميسين **46%** لكل منهما. تم عزل سلالة واحدة متعددة المقاومة.

الخلاصة: نتائجا تسلط الضوء على دور المكورات الرئوية في المستشفى الجامعي البلّيدة وحدة البلّيدة فرانز فانون، ودورها في أنواع عديدة من العدوى ومقاومتها المتزايدة للمضادات الحيوية مما يصعب العلاج. استحداث لقاح مضاد للمكورات الرئوية في الجزائر يمكن أن يساهم في الحد من هذه العدوى.

كلمات مفتاحية: المكورات الرئوية، العدوى الغازية، العدوى الغير غازية، المكورات الرئوية ذات حساسية متناقصة للبنسلين.

