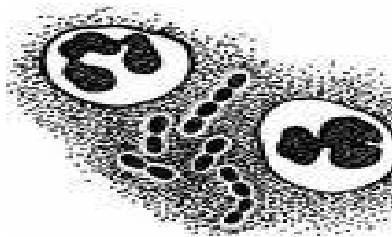


# ***Streptococcus pneumoniae:***

## **Rappels Bactériologiques &**

## **État actuel de la sensibilité aux antibiotiques**



**Dr Saïdani M**

**Laboratoire de Microbiologie-Hôpital Charles Nicolle de Tunis**

# *Streptococcus pneumoniae*: cas particulier

- Depuis toujours responsable d'infections fréquentes et graves
- Plus encore aujourd'hui, en raison de sa résistance aux antibiotiques



# Rappels Bactériologiques

# TAXONOMIE

- ❖ Genre: *Streptococcus*
- ❖ Espèce: *Streptococcus pneumoniae*
- ❖ Groupe : Streptocoques oraux  
(constitue à lui seul le sous - ensemble or 3)
- ❖ Famille: *Streptococcaceae*

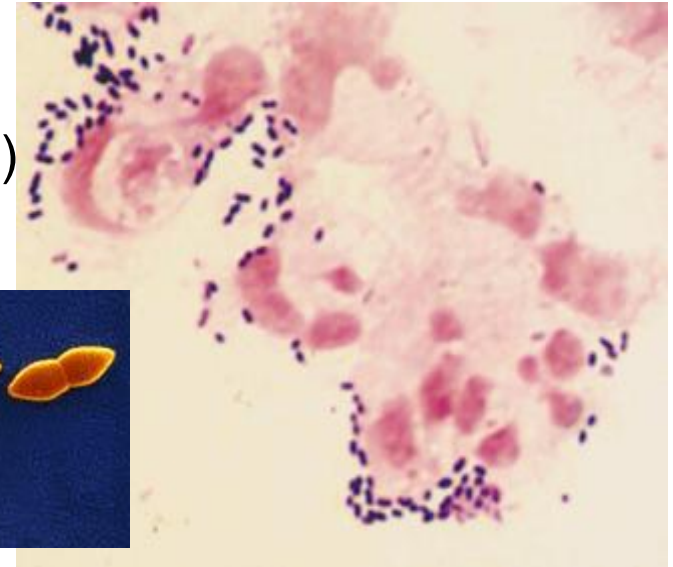
# HABITAT

- ❖ Commensal des voies aériennes supérieures (rhinopharynx)
- ❖ Germe essentiellement humain il est très rarement isolé chez les animaux.
- ❖ Colonisation: précoce → enfants < 2 ans
- ❖ Transmission aérienne, Il est fragile et survit peu dans le milieu extérieur

# CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

## 1. MORPHOLOGIE :

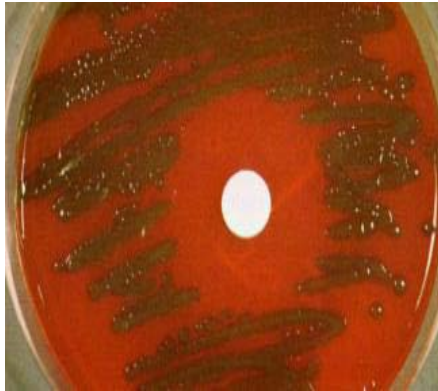
Cocci Gram positif (0.5 à 1  $\mu\text{m}$   $\Phi$ )  
immobiles,  
en diplocoques  
ovoïdes, lancéolés,  
en flamme de bougie  
capsulés



## 2. CARACTERES CULTURAUX

- anaérobie- aérotoleurant → Anaérobie est parfois indispensable en primoculture!
- germe exigeant → Sa culture nécessite de facteurs de croissance.
- pH optimum 7.2, et T°: entre 20°C et 42°C avec un optimum de 35-37°C
- Sur des milieux enrichis (GS), il pousse facilement après 18 heures à 37°C, sous 5% de CO<sub>2</sub>.
- Son développement est accru par addition de glucose.

- l'aspect typique des colonies:
  - un diamètre de 0,5 à 1,5 mm
  - sont transparentes, brillantes, non pigmentées, gouttes de rosée, ayant tendance à confluer
  - entourées d'une zone d'hémolyse incomplète ou  $\alpha$  (pneumolysine)
  - En anaérobiose → l'hémolyse peut devenir complète ( type  $\beta$ )
- colonies jeunes: forme en dôme. Plus les capsules sont grandes, plus les colonies sont grosses (type smooth ou S)



*S.pneumoniae: souche muqueuse*



- cultures âgées: une autolyse est observée dans la partie centrale de la colonie → formant une dépression centrale



### 3- CARACTERES BIOCHIMIQUES

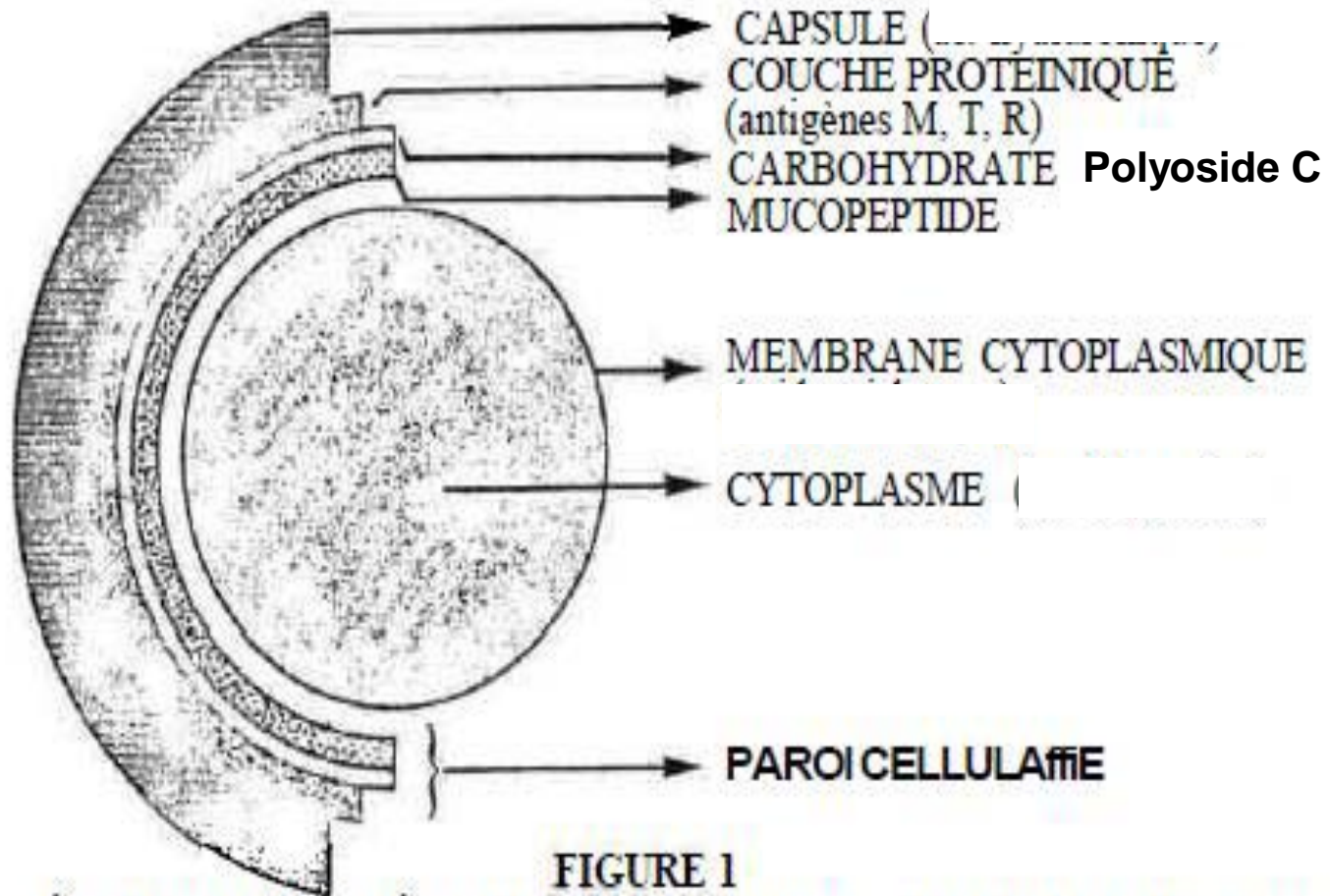
- dépourvu d'oxydase et de catalase
- Deux caractères biochimiques essentiels permettent de différencier *S. pneumoniae* des autres streptocoques  $\alpha$ -hémolytiques
  - \* Sensibilité à l'optochine
  - \* Lyse par la bile et les sels biliaires



- \* Sensibilité à la vancomycine en anaérobiose avec aspect dentelé et hémolyse  $\beta$  autour diamètre d'inhibition



# 4- STRUCTURES ANTIGENIQUES



**FIGURE 1**  
REPRÉSENTATION SCHEMATIQUE DES COMPOSANTS CELLULAIRES DES  
STREPTOCOQUES DU GROUPE A (Modifié d'après R.M.KRAUSE)

# 5- Facteurs de virulence

## ➤ **capsule** :

- polysides spécifiques de type
- composition polymorphe → à la base du sérotypage des souches → 90 sérotypes classés en 45 sérogroupes
- facteur principal de virulence grâce à ses propriétés anti-opsonophagocytaires

## ➤ **pneumolysine**

- Apparentée à streptolysine O du *S.pyogenes*, intracytoplasmique
- produite en anaérobiose, thermolabile, oxygénolabile
- Pathogénicité multifonctionnelle:
  - Activité cytotoxique cellules respiratoires et endothéliales → envahissement arbre respiratoire
  - Effet proinflammatoire (capacité de liaison au fragment Fc des IgG et C1q du Complément)

## ➤ protéines de surface:

- Nombreuses
- Rôle: adhésion aux cellules ciliées arbre bronchique
  - protéine A de surface des pneumocoques : PspA
  - adhésine A de surface des pneumocoques :Psa A
  - perméases-peptidiques : AmiA et PlpA
  - acides lipoteichoïques de paroi

## ➤ **Protéines hydrolytiques cytoplasmiques**

Rôle: colonisation et invasion

- **neuraminidase:** en particulier dans la diffusion méningée du pneumocoque en clivant les acides sialiques des glycoprotéines et glycolipides à la surface des muqueuses et des liquides biologiques

\* ↓viscosité du mucus

- **hyaluronidase:**

C'est une enzyme qui dépolymérise l'acide hyaluronique, composant important de la matrice extracellulaire

→ contribue à la propagation du germe dans les tissus.

## - **protéases:**

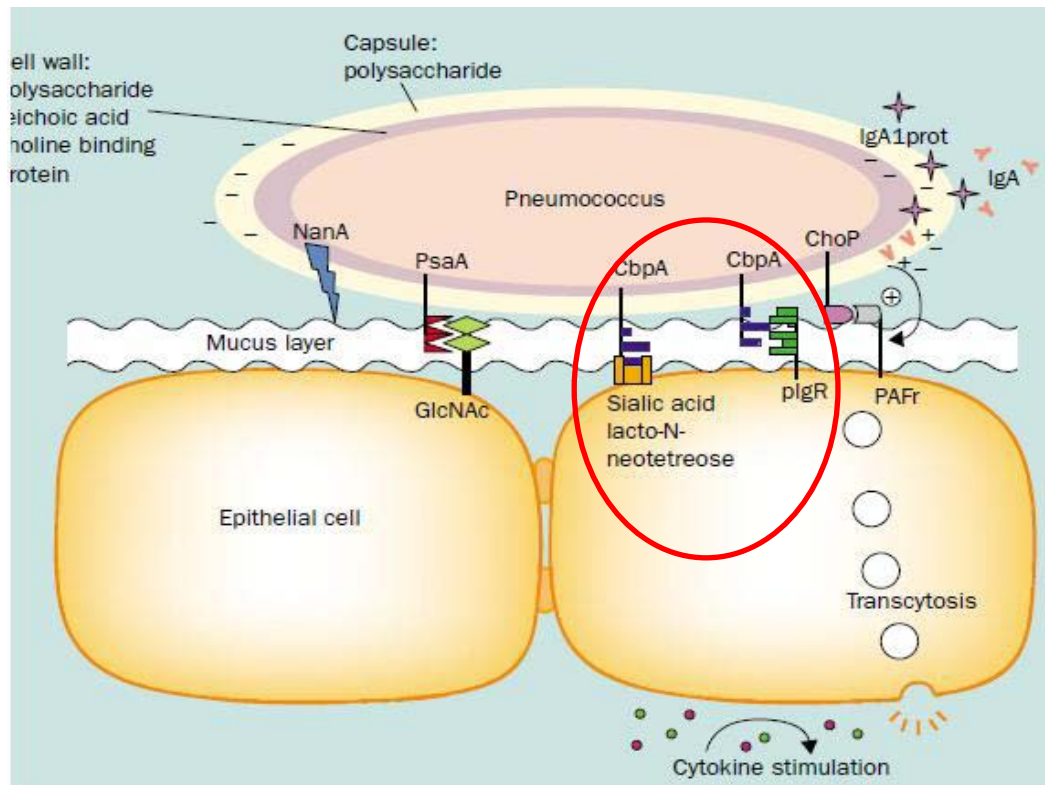
- **La sérine protéase** : dégrade de façon non sélective les immunoglobulines, fibrinogène et autres protéines de la matrice extracellulaire → facilite la pénétration des pneumocoques dans les muqueuses et le système sanguin
- **l'IgA1 protéase** qui est une protéine hydrolytique cytoplasmique qui contribue aux phénomènes d'invasion et de colonisation  
→ Augmente l'adhérence aux cellules épithéliales en présence d'IgA

## - **La leucocidine pneumococcique**

- analogue à la leucocidine staphylococcique → lyse leucocytes
- elle contribue ainsi à la propagation du germe dans les tissus..

## - La choline binding protein A (CbpA):

- Elle n'interviendrait qu' à un stade avancé de la pathogénèse, entre la colonisation et l'invasion
- affinité acide sialique → activation de production de cytokines
- interagit avec Rp pour Ig → favorise passage à travers les muqueuses



## Interaction entre *S.pneumoniae* et cellules épithéliale

# PHYSIOPATHOLOGIE

Colonisation *S. pneumoniae* muqueuse respiratoire :

Adhésion spécifique cellules épithéliales



Au niveau foyer infectieux



Réaction inflammatoire

Afflux cellulaire + relargage médiateurs chimiques et substances chimiotactiques d'origine cellulaire et humorale, en particulier, le système du complément qui joue un rôle important dans l'immunité naturelle et acquise de l'hôte contre les infections pneumococciques

Pneumocoque : X<sup>o</sup> extracellulaire

Pouvoir pathogène: Capsule +++ → propriétés anti-phagocytaire

Autres facteurs de virulence: Adhésines et substances élaborées



Adhésion et diffusion *S. pneumoniae*



# POUVOIR PATHOGENE

A partir du foyer infectieux d'origine, le pneumocoque peut se propager

## Infections des voies respiratoires:

Otitis +++

PFLA +++

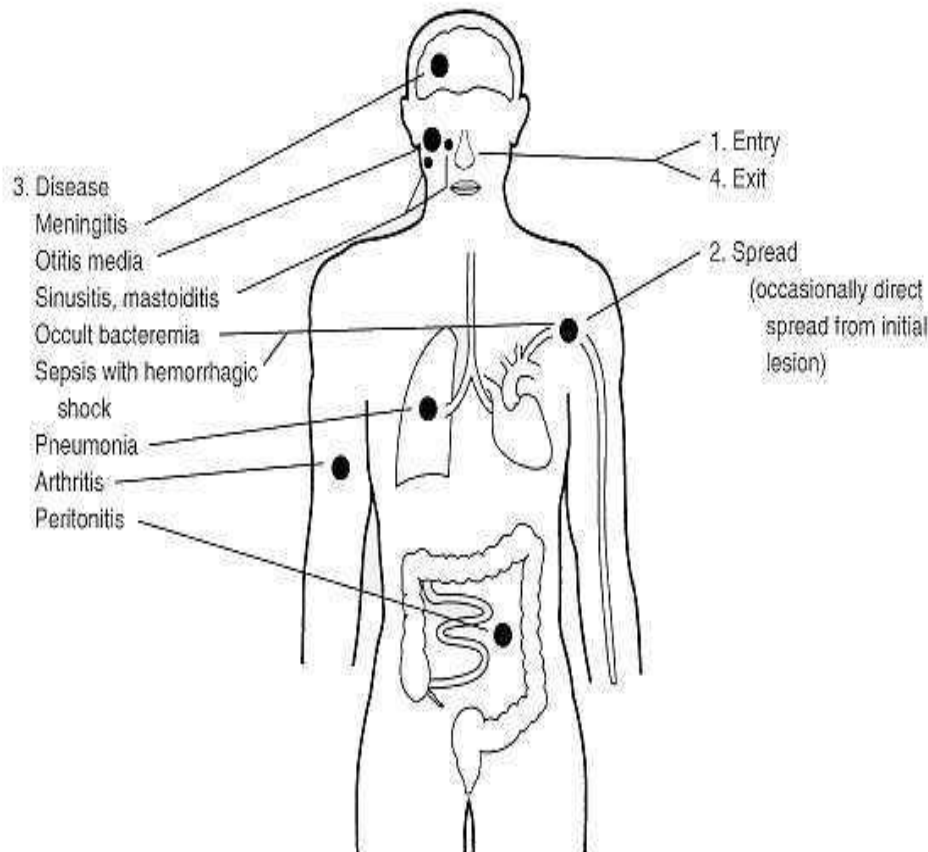
Angines

Pharyngites

Laryngites

Sinusites

Mastôidites



## Infections métastatiques:

### Par contiguïté:

Méningite

Pleurésie

Empyème

Péricardite

### Par voie hématogène:

Méningite purulente ++

Arthrites

Endocardite aiguë

Péritonite ...

# EPIDEMIOLOGIE

- La niche écologique naturelle: nasopharynx de l'homme
- La transmission: inter-humaine (aérosols de sécrétions nasopharyngiennes)



- **La colonisation** débute dès les premiers mois de la vie, atteint son **maximum vers 2-3 ans**
- Le taux de portage varie selon l'âge : il est plus élevé chez les enfants d'âge pré-scolaire que scolaire, et plus bas chez les adolescents et les adultes
- 50-60% des individus vivant dans la promiscuité ont été retrouvés porteurs

# EPIDEMIOLOGIE

- Dans tous les pays, le sexe masculin, à tout âge est plus touché par les infections pneumococciques
- L'incidence des infections varie avec la saison ➡ la fréquence est plus élevée en hiver et au printemps
- Plusieurs sérotypes peuvent être présents simultanément
- Il existe une assez bonne corrélation entre les souches isolées d'infections et les sérotypes invasifs ayant colonisé certains individus
- Le sérotypage permet de suivre l'évolution des différents sérogroupes en fonction:
  - type de prélèvement
  - sensibilité aux antibiotiques
- ➡ permet ainsi d'envisager une éventuelle modification de la composition vaccinale

# DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

## 1- Prélèvements à effectuer dans les principales infections pneumococciques

	MÉNINGITE	SEPTICÉMIE	PNEUMOPATHIE
Examen direct	LCR après centrifugation prolongée	-	Crachat Liquide pleural
Cultures sur gélose au sang en atmosphère de CO <sub>2</sub> ou de préférence en anaérobiose	LCR et Sang	Sang	Crachat, aspirations bronchiques, ponctions transtrachéales, Sang, Liquide pleural
Recherche d'antigènes (Slidex-Pneumo-Kit)	LCR Sérum Urines	Hémocultures Sérum Urines	Crachat <b>Sérum</b> Urines Liquide pleural

Test NOW *Streptococcus pneumoniae* Binax par immunochromatographie:

**détection Ag solubles urines:** rapide, sensible et spécifique

→ Validé pour diagnostic pneumonie et méningite

## 2- Attitude pratique d'identification:

- Colonies suspectes sur GS ( $\alpha$  hémolytique)
- Gram: diplocoque à Gram positif
- Absence de catalase
- sensibilité à l'optochine(diamètre > 14mm)  
NB 5% sont optochine R
- test de solubilité par la bile
- hémolyse en bordure de la zone d'inhibition provoquée par un disque de vanco déposé sur GS en anaérobiose

# SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

- Sensible naturellement à de nombreux antibiotiques
- rapidement: nombreuses résistances /familles d'ATB
- Résistances dans le monde
  - 1943 Sulfamides
  - 1963 Tétracyclines (Australie, UK)
  - 1967 Macrolides & lincosamides (Afrique du Sud)
  - 1967  $\beta$ -lactamines (Afrique du Sud, Espagne)
  - 1970 Chloramphénicol
  - 1977 1<sup>ère</sup> souche multirésistante (Johannesburg)  
( $\beta$ -lactamines, érythro, clinda, tétra, chloram, SXT)

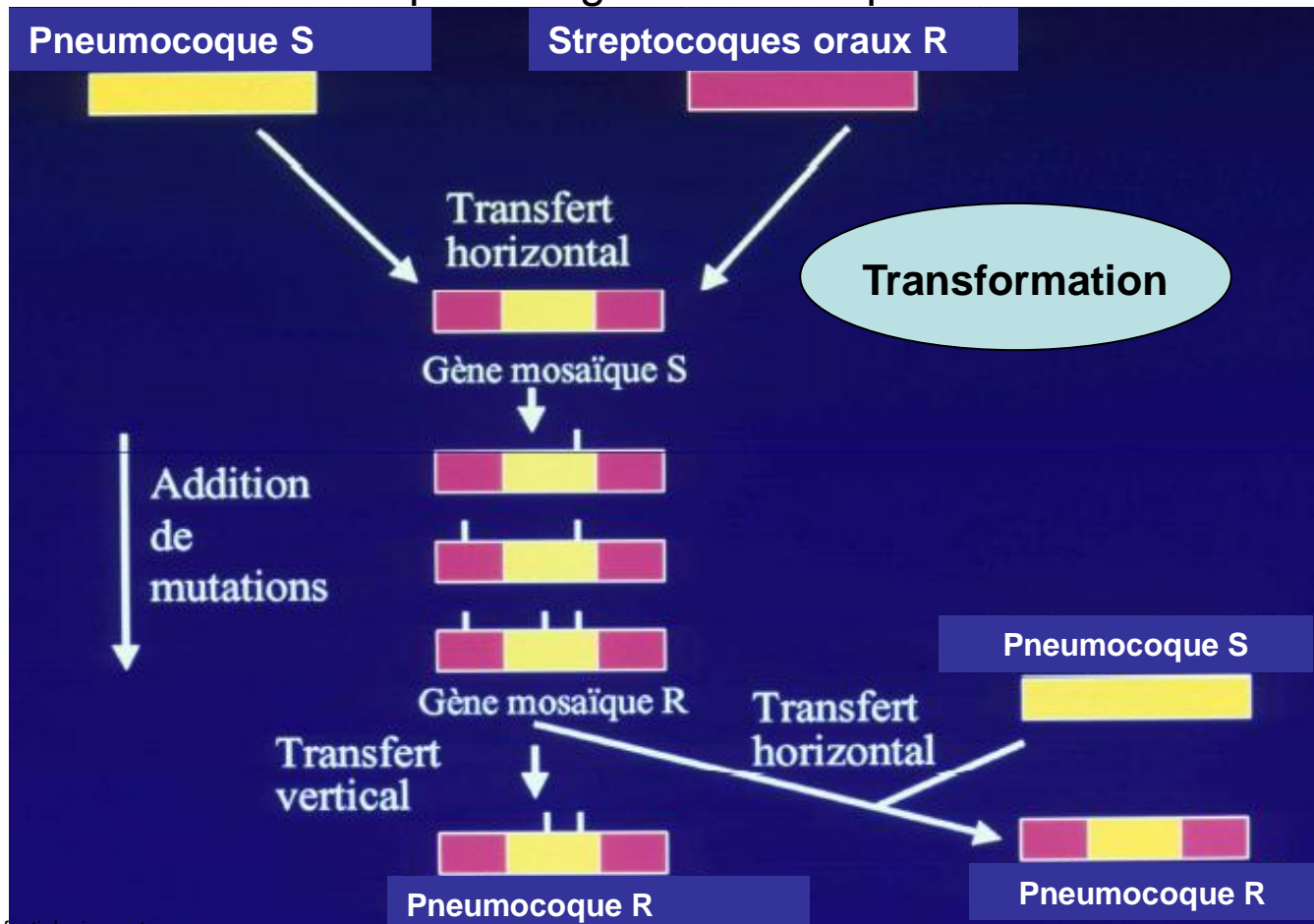
# • Résistance aux $\beta$ -lactamines

Support chromosomique acquise par un phénomène de transformation

Mécanisme: Modifications des Protéines de Liaison à la Pénicilline G (6 PLP)

PLP 1a, PLP 2a, PLP 2b, PLP 2x, +++

⇒ codées par des gènes mosaïques



# **$\beta$ -lactamines: notion de sensibilité diminuée**

- Technique de diffusion: Absence de corrélation entre les diamètres de diffusion et les CMI, en particulier Pénicilline G
- De plus, les PLP sont différentes en fonction des molécules
- Il n'est pas possible d'extrapoler une diminution de la sensibilité à la Pénicilline G à celles des autres  $\beta$ -lactamines qui peuvent conserver leur activité à des niveaux variables
- Attitude pratique est donc en premier lieu de
  - détecter une diminution de la sensibilité à la Pénicilline G (PSDP)
  - confirmer cette résistance
  - déterminer les CMI aux autres  $\beta$ -lactamines



Détection: Disque OXA

Oxa (5 $\mu$ g) < 26mm (CA-SFM)

Oxa (1 $\mu$ g) < 20 mm (CLSI)

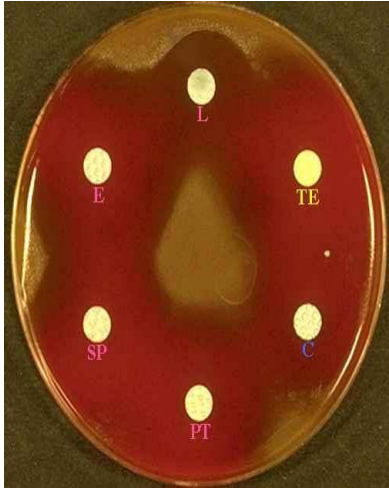
→ détermination des CMI: PénicG, Amox, CTX, IMP

	<b>S</b>	<b>I BNR</b>	<b>R HNR</b>
<b>Pénicilline G</b>	$\leq 0,06$	0,125-1	$> 1$
<b>Autres <math>\beta</math>-lactamines</b>	$\leq 0,5$	1 - 2	$> 2$

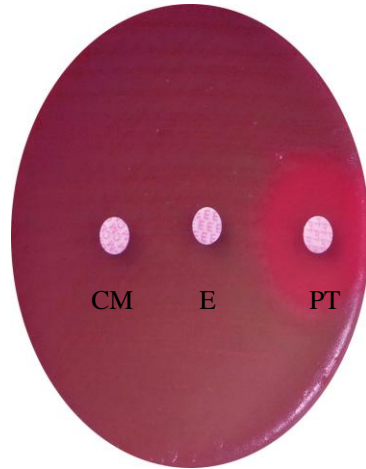
Si méningite: I = R

# Macrolides-Lincosamides-Streptogramines-Kétolides

- **Phénotype MLSB constitutif** (*erm B*, *erm A*): rare
    - acquisition d'une méthylase d'origine plasmidique ou transposable (*ermB*)
    - Résistance à haut niveau : Erythromycine et macrolides apparentés, lincomycine, streptogramine B, kétolides (télithromycine)
  - **Phénotype MLSB inductible:** plus fréquent++++
    - Inducteurs chez *S. pneumoniae*:
      - M14 (érythro), M15 (Azithro) et M16 (spira)
      - lincosamides
      - streptogramines B
    - Résistance à haut niveau : Erythromycine et macrolides apparentés, lincomycine, streptogramine B,
    - synergie Streptogramine A et B est préservée (reste rapidement bactéricide+++)
- Kétolides non inducteurs de méthylase ⇒ Activité sur souches MLSBi**
- **Phénotype M: Mécanisme par efflux** (*mefE*) (CMI 4-16mg/L)  
**M 14C et 15C**



**Phénotype sauvage**

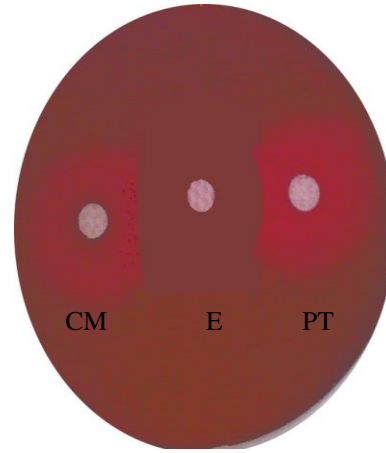


**Phénotype MLS<sub>B</sub>C**



**Résistance**

Érythro  
Clinda  
Sg B  
kétolide



**Phénotype MLS<sub>B</sub>i**



**Résistance**

Érythro  
Clinda  
Sg B



**Phénotype M**



**Résistance**

M 14C et 15C

# Fluoroquinolones

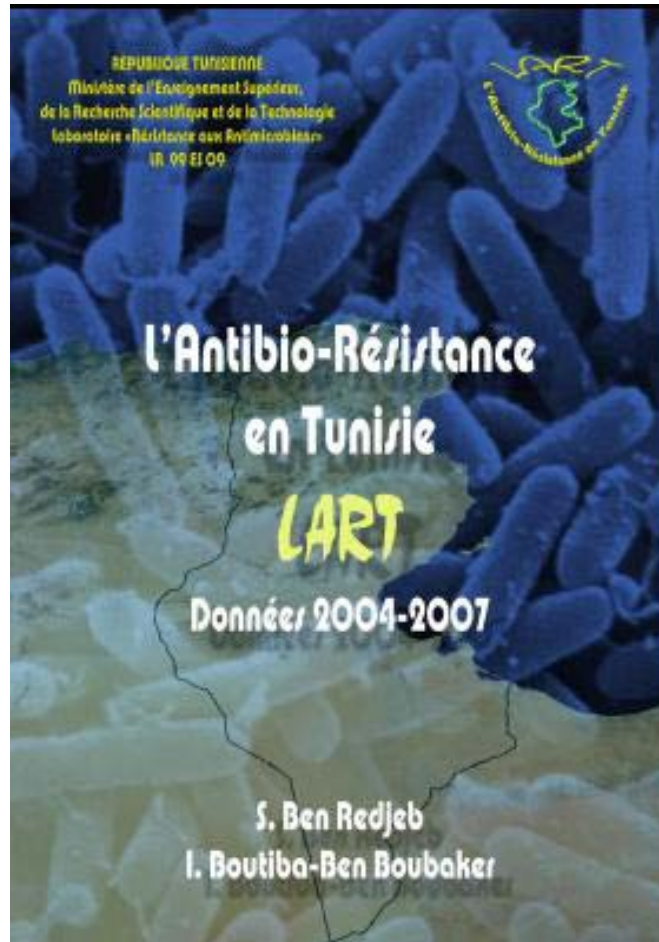
- Résistance par mutation de cible: QRDR  
(quinolone résistance determining region)
  - topoisomérase IV (*parC* et *ParE*)
  - topoisomérase II (*gyrA* et *gyrB*)
- Résistance par efflux actif: expliquant en partie la mauvaise activité des FQ

Antibiotique	CMI90
Gémifloxacine(320mg)	0,016
Moxifloxacine (400mg)	0,12
Gatifloxacine (400mg)	0,25
Lévofloxacine (500mg)	1

- Détection de la sensibilité diminuée aux FQ par la Norfloxacin  
⇒ Si diamètre < 10 mm ou si intermédiaire
- **Réponse:** présence d'un pneumocoque de sensibilité anormale aux fluoroquinolones  
⇒ Risque accru de sélection de mutants résistants in vivo si traitement par lévofloxacin ou moxifloxacin

# Etat actuel de la sensibilité aux antibiotiques

données des études multicentriques



# Données 2008

## 147 souches de pneumocoque

### $\beta$ - lactamines

	I	R	I+R
<b>Peni G</b>	40,1%	12,9%	53,1%
<b>AMX</b>	20,4%	6,8%	27%
<b>CTX</b>	9,5%	0%	9,5%

# Aminosides-chloramphénicol-tétracyclines

	I	R	I+R
<b>S (HN)</b>	0%	5,5%	5,5%
<b>G (HN)</b>	0%	0%	0%
<b>C</b>	4,1%	3,4%	7,5%
<b>TE</b>	6,8%	34%	40,8%



# Macrolides-lincosamides-streptogramines

	I	R	I+R
<b>ERYTHRO</b>	0,7%	63,9%	64,6%
<b>LINCO/CLINDA</b>	2,7%	53,7%	56,5%
<b>PT</b>	0%	0%	0%

# Rifampicine, vancomycine, lévofloxacine

	I	R	I+R
<b>RIFA</b>	0%	1%	1%
<b>VANCO</b>	0%	0%	0%
<b>LEVOFLO</b>	0%	0%	0%

## Fréquence de résistance des souches de *S. pneumoniae*

	2004 (134)			2005 (100)			2006 (131)			2007 (172)			2008 (147)		
	R	I	R+I	R	I	R+I	R	I	R+I	R	I	R+I	R	I	R+I
<b>Peni G</b>	9,5	36	<u>45,5</u>	10,3	34	44,3	10	42,7	52,7	20,9	35,5	<u>56,4</u>	12,9	40,1	<u>53,1</u>
<b>Amx</b>	5,2	21,6	<u>26,8</u>	4,3	24,7	29	2,3	26,7	29	2,3	29,7	<u>32</u>	6,8	20,4	<u>27</u>
<b>Ctx</b>	2,3	20,5	<u>22,8</u>	1	15,5	16,5	0	17,5	17,5	1,2	15,7	16,9	0	9,5	<u>9,5</u>
<b>C</b>	2,3	3,7	6	7,5	5,2	12,7	4,6	0	4,6	8,2	2,3	10,5	3,4	4,1	7,5
<b>Té</b>	26,6	4,4	31	36,6	2	38,6	29	6,1	35,1	34,9	3,6	38,5	34	6,8	40,8
<b>E</b>	44	4,5	<u>48,5</u>	55	1	56	52	0,7	52,7	62,2	0,6	62,8	63,7	0,7	<u>64,6</u>
<b>Pris</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Rif</b>	2,3	0	2,3	1	2	3	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<b>lévo</b>													0	0	0

Pas de résistance aux glycopeptides

Pas de résistance de haut niveau à la gentamicine

**Concentrations critiques (mg/l) : Pénig: I: 0,125-1, R >1 ; Amx et Ctx: I: 1 – 2, R >2**

## Fréquence de résistance des souches de *S. pneumoniae* isolées de LCR

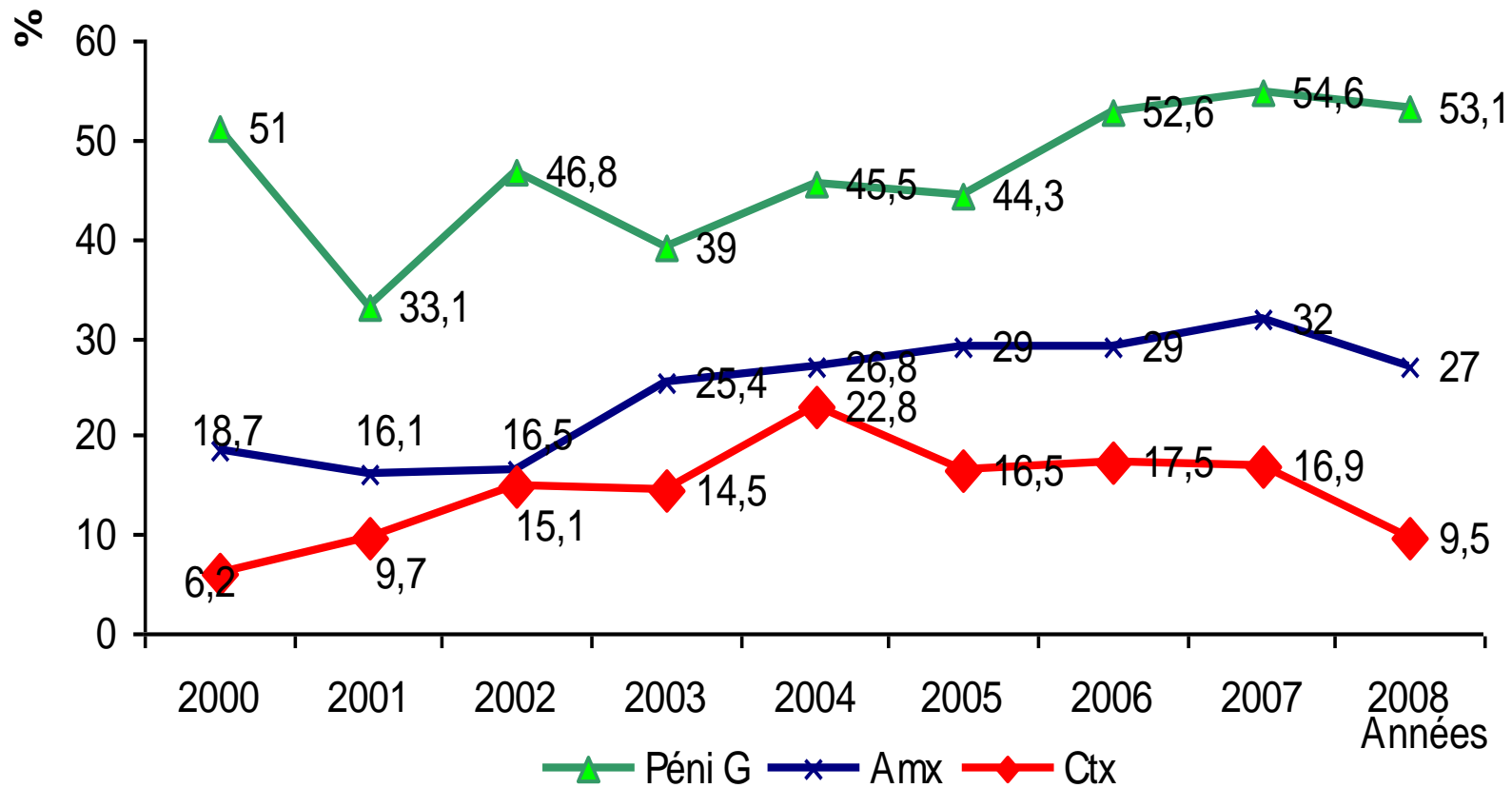
ATB	2004 (21)			2005 (17)			2006 (15)			2007 (28)		
	R	I	R+I	R	I	R+I	R	I	R+I	R	I	R+I
<b>Peni G</b>	0	38	38	0	29,4	29,4	13,3	33,3	46,6	10,7	29	39
<b>Amx</b>	0	19	19	0	11,7	11,7	6,6	20	26,6	0	14	14
<b>Ctx</b>	0	9,5	9,5	0	5,8	5,8	0	26,6	26,6	0	4	4
<b>C</b>	0	0	0	0	0	0	13,3	0	13,3	3,6	0	3,6
<b>Té</b>	0	11	11	82,3	0	82,3	13,3	6,7	20	14,3	0	4
<b>E</b>	33	0	33	35,2	0	35,2	53,3	6,7	60	50	3,6	7,1
<b>Pris</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Rif</b>	0	0	0	0	0	5,8	0	0	0	0	0	0

Pas de résistance aux glycopeptides

Pas de résistance de haut niveau à la gentamicine

## Fréquence de résistance des souches de *S. pneumoniae* isolées de prélèvements ORL

ATB	2004 (20)			2005 (16)			2006 (8)			2007 (18)		
	R	I	R+I	R	I	R+I	R	I	R+I	R	I	R+I
<b>Peni G</b>	10	30	40	0	25	25	12,5	25	37,5	44,4	44	89
<b>Amx</b>	5	15	20	0	6,2	6,2	0	25	25	0	56	56
<b>Ctx</b>	0	15	15	0	0	0	0	12,5	12,5	0	41	35
<b>C</b>	0	5	5	6,2	6,2	12,5	0	0	0	16,7	11,1	27,8
<b>Té</b>	30	0	25	37,5	6,2	43,7	0	12,5	12,5	41,2	0	41,2
<b>E</b>	40	0	40	62,5	0	62,5	50	0	50	83,3	0	83,3
<b>Pris</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Rif</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



**Figure 6.** Evolution de la résistance de *S. pneumoniae* aux  $\beta$ -lactamines

- 200 souches (Sfax, Tunis)
  - PSDP: 51,5% ⇒ enfant et sites non invasives+++
  - sérotypes les plus fréquents: 19F, 6B, 6A, 19A, 14, 23F → étaient les plus R
  - couverture vaccinale:
    - 54,5% heptavalent conjugué
    - 73,5% vaccin 23 valence

# CONCLUSION

- Fréquence des PSDP++
  - Réel problème thérapeutique
- Vaccination +++
  - composition adaptée aux sérotypes les plus fréquents (invasifs et résistants)