

## RESISTANCE DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* AUX ANTIBIOTIQUES EN TUNISIE : ETUDE MULTICENTRIQUE 2004 – 2006

### RESISTANCE OF *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* TO THE ANTIBIOTICS IN TUNISIA: MULTICENTRIC SURVEY 2004 – 2006.

A. Znazen\*, S. Ayadi\*, B. Mnif\*,  
M. Zouari\*, S. Mezghani\*,  
F. Mahjoubi\*, H. Smaoui\*\*,  
I. Boutiba\*\*\*, A. Kechrid\*\*,  
S. Ben Redjeb\*\*\*, A. Hammami\*.

\* Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax.

\*\* Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'enfant, Tunis.

\*\*\* Laboratoire de Microbiologie, CHU Charles Nicolle, Tunis.

#### Correspondance :

Pr Adnane Hammami : Laboratoire  
Microbiologie, CHU Habib Bourguiba,  
Rte El Ain Km 0.5 3029 Sfax, Tunisie.  
Email: adnane.hammani@rns.tn  
Tel : 21674456450  
Fax : 21674247213

#### Résumé :

La surveillance de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques s'impose surtout que la proportion des souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines et même aux autres antibiotiques ne cesse de s'accroître. Nous rapportons dans cette étude la sensibilité aux antibiotiques des souches de pneumocoque isolées dans trois centres hospitaliers en Tunisie de 2004 à 2006 ainsi que le profil évolutif de cette sensibilité depuis l'année 2000. Nous avons inclus 362 souches isolées de 2004 à 2006 dans les différents centres participants. Les souches étudiées provenaient d'enfants dans 56% des cas et d'adultes dans 44% des cas. Elles étaient isolées à partir d'hémocultures, LCR et de liquides de ponction dans 36% des cas ; et de prélèvements respiratoires et diverses suppurations dans 64% des cas. Le taux de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline G (PSDP) était de 48% dont 10% de résistance vraie. Les souches étaient de sensibilité diminuée à l'amoxicilline et au céfotaxime dans 28% et 19% des cas respectivement. L'étude du profil évolutif de 2000 à 2006 a montré une stabilité des taux de résistance pour la pénicilline G, mais une nette augmentation des taux de résistance pour l'amoxicilline et le céfotaxime. Les taux de résistance étaient de 52% à l'érythromycine et de 29.3 % à la tétracycline. L'étude de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques en Tunisie a montré une fréquence élevée et croissante des PSDP. Elle doit nous inciter à multiplier les campagnes de sensibilisation auprès des médecins prescripteurs pour une meilleure utilisation des antibiotiques.

**Mots clés :** *Streptococcus Pneumoniae*, Bêta-lactamines, Antibiotiques, Résistance, Surveillance.

#### Abstract:

*Streptococcus pneumoniae* can cause a wide variety of frequent infections with high rates of morbidity. The monitoring of resistance of *S. pneumoniae* to antibiotics is essential since the proportion of reduced susceptibility antibiotic strains is increasing. In this study, we report the susceptibility to antibiotics of *S. pneumoniae* isolates in three university hospitals in Tunisia from 2004 to 2006 as well as the changing trends since the year 2000. We included 362 strains recovered from children in 56% and from adults in 44% of cases. Strains were collected from blood cultures, CSF, and from fluid punctions in 36% of cases; and of respiratory tract specimens and various pus in 64% of cases. The rate of penicillin G non susceptible pneumococci (PNSP) was 48% including 10% of high resistance level. The strains showed reduced susceptibility to amoxicillin and cefotaxime in 28% and 19% of cases respectively. The trends from 2000 to 2006 showed stable rates of PNSP but a clear increase in resistance rates to amoxicilline and cefotaxime. In addition to the  $\beta$ -lactam resistance, high levels of resistance to other antibiotics were noted. Thus, 52% and 29.3% of strains were resistant to erythromycin and tetracycline respectively. The high rate of PNSP and the multidrug resistance of *S. pneumoniae* in our country underlight the need of rational use of antibiotics.

**Key words:** *Streptococcus Pneumoniae*, Bêta-lactams, Antibiotics, Resistance, Surveillance.

## INTRODUCTION

*Streptococcus pneumoniae* est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, de méningites, d'otites et de sinusites [1]. Ces infections sont à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité considérables, particulièrement chez les sujets immunodéprimés (splénectomisés, alcool tabagiques, VIH +) [2].

Naturellement sensible à de nombreux antibiotiques, le pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances : sulfamides (1943), tétracyclines (1963), érythromycine (1967), pénicilline (1967) et chloramphénicol (1970) [3]. La résistance du pneumocoque aux  $\beta$ -lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP). L'acquisition de ces PLP de faible affinité aux  $\beta$ -lactamines se fait par des échanges de fragments d'ADN entre le pneumocoque et certaines espèces proches, commensales du rhinopharynx. Cette variation génétique appelée transformation bactérienne est fréquemment soumise à une pression de sélection par les antibiotiques [1,4]. Plusieurs études ont montré que les niveaux de la résistance du pneumocoque aux bêta-lactamines sont variables d'un pays à l'autre et peuvent augmenter rapidement. Ainsi, la surveillance de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques est nécessaire afin d'adapter les recommandations thérapeutiques des infections pneumococciques. Depuis l'année 1999, la surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des principales espèces bactériennes d'intérêt médical se fait par quatre centres en Tunisie (CHU Charles Nicolle à Tunis, l'hôpital d'enfant à Tunis, le centre de greffe de moelle osseuse à Tunis et le CHU Habib Bourguiba à Sfax). Ces quatre centres hospitaliers ont mis en place un système de surveillance de l'antibio-résistance en Tunisie appelé « LART » dont les données sont publiées et largement diffusées. Suite aux résultats des cinq premières années (de 1999 à 2003) [5], nous rapportons dans cette étude les données du LART concernant la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques de 2004 à 2006 ainsi que son profil évolutif depuis l'an 2000.

## MATERIEL ET METHODES

### Les souches bactériennes

Nous avons inclus toutes les souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées entre 2004 et 2006 dans trois hôpitaux : l'hôpital d'enfants de Tunis, le CHU Habib Bourguiba de Sfax, et le CHU Charles Nicolle de Tunis. Les souches invasives provenaient d'hémocultures, du liquide céphalo-rachidien, du liquide pleural ou d'autres sites normalement stériles. Les souches non invasives provenaient des pus, des prélèvements respiratoires, auriculaires et autres.

L'identification bactériologique des souches de pneumocoque était basée sur les caractères morphologiques, culturels, biochimiques et essentiellement sur la sensibilité à l'optochine.

### Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques était étudiée pour une seule souche par malade, par la méthode de diffusion des disques en gélose Müeller Hinton enrichie au sang selon les normes du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM)[6].

Les antibiotiques évalués dans cette étude étaient l'oxacilline, le chloramphénicol, la tétracycline, l'érythromycine, la

pristinamycine, la rifampicine et la vancomycine.

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) était réalisée par la méthode du E-test pour la pénicilline G, l'amoxicilline et la céfotaxime. Le E-test était réalisé systématiquement pour les souches invasives, et seulement si le diamètre d'inhibition était inférieur à 26 mm autour du disque d'oxacilline à 5  $\mu$ g pour les souches non invasives.

Les CMI critiques adoptées étaient celles du CA-SFM [6].

Le contrôle de qualité interne a été réalisé en utilisant la souche de référence *S. pneumoniae* ATCC 49619.

Les données ont été traitées par le logiciel Whonet 5.4. Nous avons utilisé le test khi2 et le test exact de Fisher pour la comparaison des différentes proportions. Une valeur de  $p < 0,05$  était considérée comme statistiquement significative.

## RESULTATS

Sur les trois années d'étude, nous avons recensé 362 souches dont 157 de l'hôpital d'enfants de Tunis, 150 du CHU Habib Bourguiba de Sfax, et 55 du CHU Charles Nicolle de Tunis.

Les souches étudiées provenaient d'enfants (< 16 ans) dans 56% des cas et d'adultes (> 16 ans) dans 44% des cas.

Les souches invasives, isolées dans 36% des cas, provenaient essentiellement d'hémocultures (24%). Les souches non invasives dont la majorité étaient isolées de prélèvements respiratoires (40%), étaient retrouvées dans 64% des cas (figure 1).

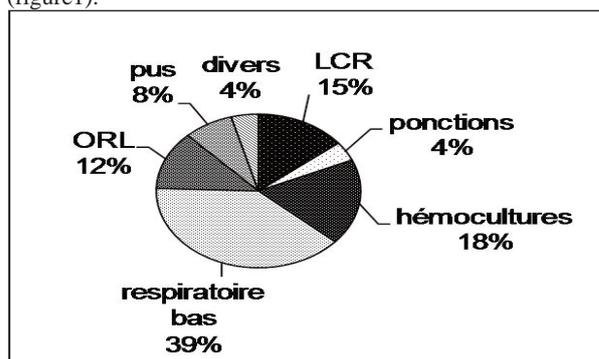


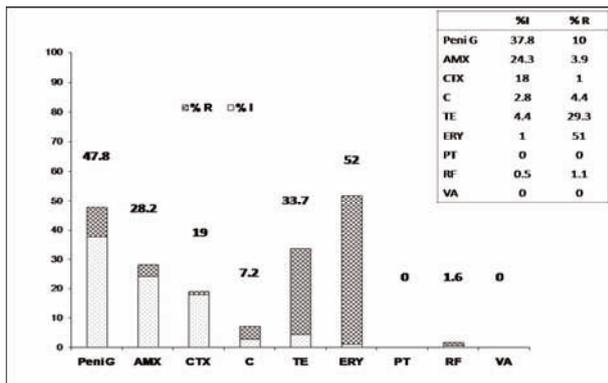
Fig. 1 : Répartition des souches de pneumocoque selon la nature du prélèvement

### Sensibilité aux $\beta$ -lactamines

Les pneumocoques étaient de sensibilité diminuée (I+R) à la pénicilline G (PSDP) dans 48% des cas dont 10% de résistance vraie (CMI > 2  $\mu$ g/ml). Les proportions des souches de sensibilité diminuée à l'amoxicilline et au céfotaxime étaient respectivement de 28% et 19%. Les taux de résistance vraie (CMI > 4  $\mu$ g/ml), étaient de 4% pour l'amoxicilline et de 1% pour le céfotaxime (figure 2).

Ces taux de résistance étaient différents selon l'âge et la nature du prélèvement. En effet, le taux des PSDP était de 52% pour les souches non invasives contre 40% pour les souches invasives ( $p=0,02$ , tableau 1). Les proportions des souches de sensibilité diminuée à l'amoxicilline et au céfotaxime étaient plus élevées parmi les souches non invasives que les souches invasives sans que la différence ne soit statistiquement significative (tableau 1).

Chez l'enfant, le taux de pneumocoque de sensibilité diminuée était de 52% pour la pénicilline, 31% pour l'amoxicilline et 20% pour le céfotaxime. Ces taux étaient moins importants



**Fig. 2 :** Taux de résistance du pneumocoque aux antibiotiques  
 PeniG : pénicilline G, AMX : amoxicilline, CTX : céfotaxime, C : Chloramphénicol, TE : tétracycline, ERY : érythromycine, PT : pristinamycine, RF : rifampicine, VA : vancomycine.

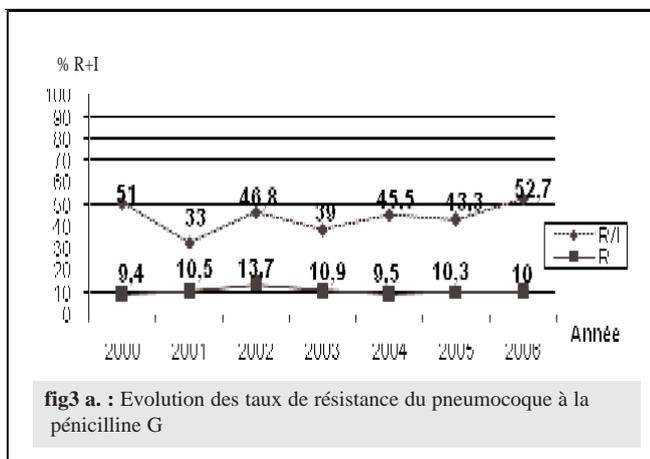
**Tableau 1 :** Proportion des souches de sensibilité diminuées aux différents antibiotiques en fonction du site d'isolement (2004-2006).

**Table 1:** Antimicrobial resistance among different types of pneumococcal strains.

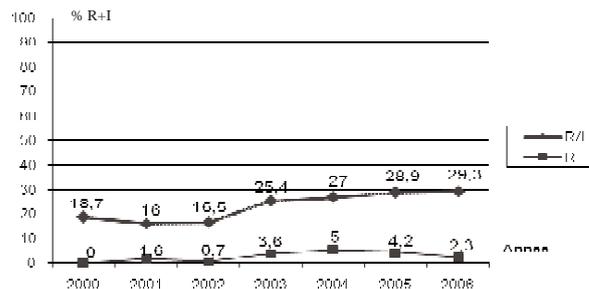
	Souches invasives n= 130(%)	Souches non invasives n= 232 (%)	p
<b>Pénicilline G</b>	52(40)	121(52)	0.02
<b>Amoxicilline</b>	28(22)	72(31)	0.07
<b>Céfotaxime</b>	19(14)	50(21)	0.08
<b>Erythromycine</b>	49(37)	139(60)	<0.001
<b>Tétracycline</b>	31(23)	91(39)	0.002
<b>Chloramphénicol</b>	8(6)	18(8)	0.47

chez l'adulte puisqu'ils étaient de 42%, 23% et 17% respectivement.

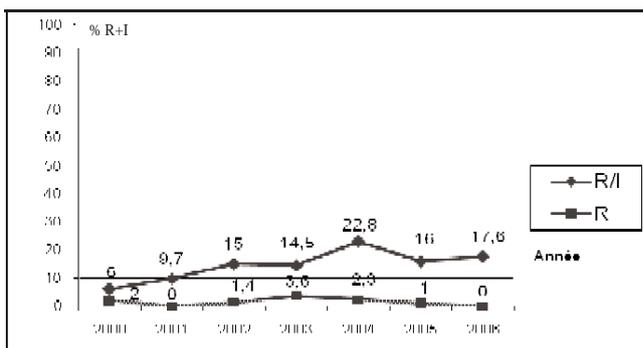
L'évolution de la sensibilité du pneumocoque à la pénicilline G, à l'amoxicilline et au céfotaxime de 2000 à 2006 est représentée dans la figure 3.



**fig3 a. :** Evolution des taux de résistance du pneumocoque à la pénicilline G



**fig3 b. :** Evolution des taux de résistance du pneumocoque à l'amoxicilline



**fig3 c. :** Evolution des taux de résistance du pneumocoque au céfotaxime

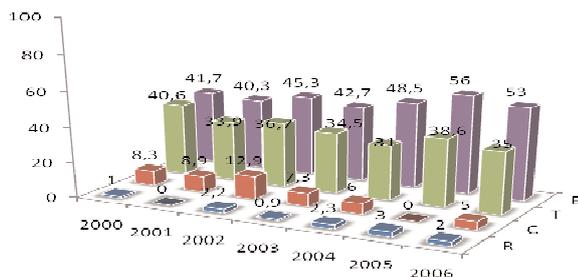
### Sensibilité aux autres antibiotiques

La résistance (I+R) a été observée dans 52% des cas pour l'érythromycine, 34% pour la tétracycline, 7% pour le chloramphénicol et 2% pour la rifampicine. Toutes les souches étaient sensibles à la pristinamycine et à la vancomycine. Ces taux de résistance étaient plus élevés parmi les souches non invasives (tableau 1). La proportion des souches résistantes était, également, influencée par le niveau de sensibilité à la pénicilline. Ainsi, parmi les PSDP, les taux de résistance étaient de 76% pour l'érythromycine, 45% pour la tétracycline, 12% pour le chloramphénicol alors que pour les souches sensibles, ils étaient respectivement de 30%, 23% et 3% avec une différence statistiquement significative (tableau 2).

**Tableau 2 :** Proportion des souches de sensibilité diminuées aux différents antibiotiques en fonction de leur sensibilité aux bêta-lactamines (2004-2006).

**Table 2 :** Antibiotic resistance among pneumococcal strains susceptible and none susceptible to penicillin.

	PSDP n= 174(%)	PSP n= 188 (%)	p
<b>Erythromycine</b>	131(76)	57(30)	<0.001
<b>Tétracycline</b>	78(45)	44(23)	<0.001
<b>Chloramphénicol</b>	20(12)	6(3)	0.001



**fig. 4 :** Evolution des taux de résistance du pneumocoque aux antibiotiques autres que les Beta-lactamines.

C : Chloramphénicol, T : tétracycline, R : érythromycine, R : rifampicine.

## DISCUSSION

L'émergence des souches de pneumocoques multi-résistantes est préoccupante depuis plusieurs années. Depuis l'isolement de la première souche résistante en Australie en 1967 [3], la résistance du pneumocoque n'a cessé de croître. Dans notre étude, le taux de PSDP était de 48%. En effet, la Tunisie se situe parmi les pays avec des niveaux élevés de résistance à la pénicilline. Dans une étude menée en 1996 et 1997 et ayant comparé les données de neuf pays africains, la Tunisie était le deuxième pays ayant des taux de résistance élevés du pneumocoque à la pénicilline G après le Sénégal [7]. Des pourcentages élevés ont été rapportés dans certains pays européens au début des années 2000, comme en France en 2001 (55,4%), en Espagne en 2000 (50%), aux Etats Unis en 2000 (34%) et dans les pays du Moyen Orient tel qu'au Liban en 2004 (50%) [8, 9, 10]. Cependant, le taux de PSDP était bas dans les pays Nordiques ; il n'est que de 11% en Grande Bretagne, de 2% au Danemark et n'excède pas les 1% en Norvège en 2000 [8].

Pour l'amoxicilline et le céfotaxime, une nette tendance à l'augmentation des taux de résistance était notée. Ces niveaux de résistance sont comparables à ceux retrouvés en France où le pourcentage des souches de sensibilité diminuée en 2001 était de 29,4% pour l'amoxicilline et 19,3% pour le céfotaxime [2]. Toutefois, les taux de résistance vraie restent faibles et ces antibiotiques gardent encore leur place en thérapeutique.

Le taux des PSDP dans notre pays est stable depuis l'année 2000. Dans certains pays, une nette diminution des taux des PSDP a été observée ces dernières années. En effet, selon les données des observatoires régionaux du pneumocoque en France, il y a une baisse significative des PSDP puisque le taux de PSDP était de 55,4 % en 2001, alors qu'il n'a pas dépassé 50% en 2003 pour passer à 37,9% en 2007 [11, 12]. Une étude menée en Espagne pendant cette même période a observé aussi une diminution du taux des PSDP qui est passé de 39,5 à 33% pour l'ensemble des isolats, et de 60,4 à 41,2% pour les souches isolées en milieu pédiatrique [13]. Cette diminution des taux de résistance a également concerné les souches invasives puisque le dernier rapport de l'EARSS a confirmé une nette régression du taux des PSDP isolés dans les hémocultures et le LCR en France, en Espagne et en Belgique [12]. Certes, la mise sur le marché d'un vaccin à visée infantile et une politique de meilleure utilisation des antibiotiques semblent influencer l'évolution de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques. En effet, Albrich et al [8], en rassemblant des données de différents pays (Europe, Amérique

du Nord et Australie), a pu démontrer une relation forte entre la consommation d'antibiotiques et l'apparition des PSDP. Pour l'amoxicilline et le céfotaxime, une nette tendance à l'augmentation des taux de résistance a été observée dans notre étude. Dans les pays où une diminution des PSDP a été notée, les taux de résistance à ces deux antibiotiques restent stables et ces résistances restent essentiellement de bas niveau [11]. Toutefois des résistances de haut niveau à ces deux antibiotiques ont été rapportées aux Etats-Unis parmi des souches très hautement résistantes à la pénicilline G [14].

Les taux de PSDP et de résistance à l'amoxicilline et au céfotaxime étaient plus élevés pour les souches non invasives que pour les souches invasives. Ces données corroborent celles de la littérature où les souches isolées des hémocultures et des LCR sont toujours nettement plus sensibles que celles isolées de prélèvements périphériques. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré également que le taux des PSDP était plus élevé chez les enfants (52%) que chez les adultes (42%). Ces données rejoignent celles de la littérature puisqu'en France, les taux de PSDP en 2003 étaient de 62,4 % chez l'enfant et de 43,3 % chez l'adulte [11].

Outre la résistance aux  $\beta$ -lactamines, nos souches ont présenté des taux de résistance assez élevés pour les autres familles d'antibiotiques. Ainsi, le taux de résistance à l'érythromycine était de 52%. Ce taux était plus élevé parmi les PSDP (78%). Ce taux est en nette augmentation puisqu'il n'était que de 28% en 1999 [15]. Ces résistances sont dues essentiellement au phénotype MLSB constitutif codé par le gène *erm(B)* [16]. Des taux de résistance élevés étaient rapportés dans certains pays européens au début des années 2000, tel qu'en France en 2001 (52%). Cependant, dans ces pays une régression de ces taux de résistance était observée en parallèle à celle du taux des PSDP [10, 11]. En effet, une relation entre les taux de résistance et le niveau de consommation de l'antibiotique a été également bien démontrée pour les macrolides [17].

## CONCLUSION

La résistance du pneumocoque aux antibiotiques est en nette augmentation dans notre pays. Une attention particulière à ce germe devrait être accordée. Des campagnes de meilleure utilisation des antibiotiques auprès des médecins prescripteurs devraient être organisées avec des recommandations thérapeutiques plus standardisées. En effet, les taux de résistances sont en train d'augmenter alors que nous ne disposons pas de nouvelles molécules. D'autre part, l'introduction du vaccin à visée infantile permettrait de réduire les infections à pneumocoque. Le sérotypage de ces souches est alors indispensable afin de pouvoir s'assurer de la couverture vaccinale.

## Références

1. Appelbaum P. C. Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for Drug Selection. *Clin Infect Dis* 2002 ; 34 :1613-20.
2. Vergnaud M, Bourdon S, Brun M, Cattier B, Chanal C, Chardon H et al. Observatoires régionaux du pneumocoque : analyse de la résistance aux antibiotiques et des sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* en 2001. *BEH* 2003 ; 37:173-6.
3. Hansman D, Bullen HM. A resistant pneumococcus. *Lancet* 1967 ; 2: 264-5.
4. Doit C, Bingen E. Mécanismes de la résistance aux bêta-lactamines chez le pneumocoque. *Arch Pédiatr* 1996 ; 3 : 99-100.

5. Boutiba I, Ghozzi R, Jouaïhia W, Mahjoubi F, Thabet L, Smaoui H, Ben Hassen A, Hammami A, Kechrid A, Ben Redjeb S. Résistance bactérienne aux antibiotiques en Tunisie : données de 1999 à 2003. *Rev Tun Infectiol* 2007 ; 1 : 5-11.
6. Les Recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM). <http://www.sfm.asso.fr/publi/general.php>.
7. Ben Bechir M, Ben Redjeb S, Boye CS, Dosso M, Belabbes H, Kammoun A et al. Two-year surveillance of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* in four African Cities. *Antimicrob agents Chemother* 2001; 45: 627-29.
8. Albrich W C, Monnet DL et Harbarth S. Antibiotic Selection Pressure and Resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*. *Emerg Infect Dis* 2004 ; 10 : 514-7.
9. Mignard S, Donnio PY, Vaucel J, Abalain ML, Anguill M, Aubry JP et al. Evolution de la résistance aux antibiotiques et des sérogroupes de *Streptococcus pneumoniae* en Bretagne entre 1997 et 2003. *Pathol Biol* 2005 ; 53 : 457-62.
10. Sarkis KD, Hajj A, Adaimé A. Évolution de la sensibilité aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* de 1997 à 2004, à l'Hôtel-Dieu de France, centre hospitalier universitaire au Liban. *Pathol Biol* 2006 ; 54 : 591-5.
11. Maugein J, Croizé J, Ros A, Bourdon S, Brun M, Cattier B et al. Observatoires régionaux du pneumocoque : surveillance des sérotypes et de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées en France, 2003. *BEH* 2006 ; 1: 6-8.
12. EARSS Annual Report 2007. [http://www.rivm.nl/earss/Images/EARSS%202007\\_FINAL\\_tcm61-55933.pdf](http://www.rivm.nl/earss/Images/EARSS%202007_FINAL_tcm61-55933.pdf)
13. Oteo J, Lazaro E, de Abajo FJ, Baquero F, Campos J. Trends in antimicrobial resistance in 1968 invasive *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Spanish hospitals (2001-2003): decreasing penicillin resistance in children's isolates. *J Clin Microbiol* 2004 ; 42 : 5571-7.
14. Schrag SJ, McGee L, Whitney CG, Beall B, Craig AS, Choate ME, et al. Emergence of *Streptococcus pneumoniae* with very-high-level resistance to penicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 ; 48 : 3016-23.
15. Mahjoubi- Rhimi F, Kechrid A, Boutiba I, Mezghani S, Kamoun A et al. antibiotic sensitivity of *Streptococcus pneumoniae* in Tunisia: results of a multicenter study (1998-1999). *Tunis Med* 2003 ; 81 : 167- 71.
16. Rachdi M, Boutiba-Ben Boubaker I, Moalla S, Smaoui H, Hammami A, Kechrid A, Ben Redjeb S. Phenotypic and genotypic characterization of macrolide resistant *Streptococcus pneumoniae* in Tunisia. *Pathol Biol* 2008 ; 56 : 125-9.
17. Baquero F. Evolving resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae*: a link with long-acting macrolide consumption *J Chemother* 1999 ; 11: 35-43.