

## ETUDE DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES ET DES GENES DE RESISTANCE AUX MACROLIDES DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* ISOLE EN MILIEU PEDIATRIQUE TUNISIEN

### STUDY OF THE SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS AND GENES FOR MACROLIDE RESISTANCE TO *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* ISOLATED IN A PEDIATRIC TUNISIAN SETTING

H. Smaoui, A. Sagner, A. Kechrid

Laboratoire de Microbiologie. Hôpital d'Enfants, Tunis. Tunisie

#### Correspondance :

Pr. Amel KECHRID  
Laboratoire de Microbiologie.  
Hôpital d'Enfant. Bab Saadoun.  
1006 Tunis  
E-mail : amel.kechrid@gmail.com

Article reçu le 8/10/2010, accepté le 19/11/2010.

#### Résumé :

*Streptococcus pneumoniae* est responsable d'infections sévères invasives et non invasives. L'émergence de souches résistantes pose des problèmes thérapeutiques.

Le but de cette étude était de préciser : les caractéristiques épidémiologiques des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'enfant, leur sensibilité aux antibiotiques et les gènes de résistance aux macrolides.

L'étude a porté sur 422 souches non répétitives de *S. pneumoniae* isolées de 2000 à 2008. Les souches invasives (43,3%) provenaient essentiellement de LCR (50,2%) et d'hémocultures (34,4%), la majorité des souches non invasives (56,6%) de prélèvements pulmonaires (76,5%). Le pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline G (PSDP) représentait 53,3% des souches (n=225) et 12,8% avaient une résistance de haut niveau. 29,6% avaient une sensibilité diminuée à l'amoxicilline et 15,1% au céfotaxime. 60,6% des souches étaient résistantes à l'érythromycine et 59,6% à la lincomycine. L'étude par PCR des gènes de résistance a montré que parmi les 66 souches testées, 62 hébergeaient le gène *ermB*, 3 le gène *mefA* et une souche les 2 gènes. Les PSDP étaient beaucoup plus résistants aux différents antibiotiques testés que les pneumocoques sensibles à la pénicilline, ceci complique la prise en charge thérapeutique de ces infections et justifie leur prévention par l'utilisation d'un vaccin anti-pneumococcique efficace.

**Mots clés :** Enfants, Macrolides, PSDP, *S. pneumoniae*.

#### Abstract:

*Streptococcus pneumoniae* is often incriminated in invasive and non invasive severe infections. Therapeutic choice becomes difficult these last years because of the spread of resistant strains worldwide, particularly pneumococci non susceptible to penicillin (PNSP). The aim of our study was to determine the epidemiological characteristics of *S. pneumoniae* strains isolated in children, the antimicrobial susceptibility and the genes involved in macrolide resistance.

We studied 422 none duplicated *S. pneumoniae* strains isolated from 2000 to 2008 in our laboratory. Invasive strains were essentially isolated from cerebrospinal fluid (50.2%) and blood culture (34.4%), whereas the majority of non invasive ones were isolated from pulmonary samples (76.5%). Two hundred and twentyfive isolates (53.3%) were with reduced susceptibility to penicillin, 12.8% of them had a high level of resistance. For the other beta-lactams, 29.6% and 15.1% of strains were with reduced susceptibility to amoxicillin and cefotaxim respectively. Erythromycin and lincomycin resistance concerned 66.6% and 59.6% respectively. Among the 66 strains studied by PCR, 62 harbored *ermB* gene, 3 harbored *mefA* gene and one strain harbored both of them.

PNSP strains were much more resistant to the different tested antibiotics than strains susceptible to penicillin. This fact complicates therapeutic choices and justifies the need of resorting to effective anti-pneumococcal vaccine to prevent pneumococci infections.

**Key words :** Children, Macrolides, PNSP, *S. pneumoniae*.

## INTRODUCTION

*Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) est une bactérie commensale des voies aériennes supérieures essentiellement le nasopharynx. La virulence accrue de *S. pneumoniae* est liée essentiellement à la présence d'une capsule dont la variabilité antigénique permet de distinguer plus de 90 sérotypes différents (1). *S. pneumoniae* est responsable d'infections non invasives et invasives mettant en jeu le pronostic vital. Le portage de *S. pneumoniae* varie selon l'âge. Il est plus élevé chez les enfants d'âge préscolaire, et plus bas chez les adolescents et les adultes [2]]. Le portage est généralement limité à un seul sérotype et persiste plusieurs semaines ou mois. Chez l'enfant, les sérogroupes/sérotypes les plus fréquemment isolés du rhinopharynx sont les 6, 14, 19 et 23. Ces mêmes sérotypes/sérogroupes sont les plus incriminés en pathologie [3].

Jusqu'en 1967, la pénicilline G était l'antibiotique de choix pour le traitement des infections pneumococciques. Devant l'augmentation importante ces dernières années du taux de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP), les macrolides ont été largement utilisés dans le traitement des infections communautaires du tractus respiratoire.

Cette attitude thérapeutique a été rapidement suivie par l'émergence partout dans le monde de souches résistantes à ces molécules et aux molécules apparentées (lincosamides et streptogramines) [4].

Notre travail a porté sur les souches de *S. pneumoniae* isolées à l'Hôpital d'Enfants de Tunis durant une période de 9 ans (2000-2008). Le but de cette étude était de préciser les caractéristiques épidémiologiques des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'enfant, d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques et de mettre en évidence les gènes responsables de la résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

**-Souches bactériennes :** Notre étude a porté sur 422 souches non répétitives de *S. pneumoniae* isolées sur une période de 9 ans (2000-2008) chez des enfants hospitalisés et consultants à l'Hôpital d'Enfants de Tunis. Ces souches ont été isolées de différents sites anatomiques : sites normalement stériles (sang, liquide céphalo-rachidien (LCR) et autres liquides de ponctions), et sites avec microflore (crachats, prélèvements trachéaux (PT), pus ORL et pus divers : oculaire, plaie, brûlés). L'identification des souches de *S. pneumoniae* a été basée sur les caractères morphologiques, culturels et biochimiques (sensibilité à l'optochine).

**- Etude de la sensibilité aux antibiotiques :** L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée par la technique de diffusion en milieu gélosé selon les normes du Comité de L'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (5). Les antibiotiques testées étaient : pénicilline G (10UI), oxacilline (5µg), amoxicilline (25 µg), céfotaxime (30µg), streptomycine (500 µg), kanamycine (1000 µg), gentamicine (500 µg), érythromycine (15 UI), lincomycine (15 µg), pristinamycine (15 µg), tétracycline (30 UI), chloramphénicol (30 µg), triméthoprime+sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg), vancomycine (30 µg), teicoplanine (30 µg) et fosfomycine (50 µg). La détection d'un pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) a été effectuée à l'aide d'un disque d'oxacilline à 5µg selon les normes du CA-SFM [5].

La détermination des CMI a été faite pour toutes les souches de *S. pneumoniae* dont le diamètre de l'oxacilline 5µg était < 26 mm. La méthode utilisée était celle des E-Test (AB BIODISK). Les antibiotiques testés étaient : pénicilline G, amoxicilline et céfotaxime. Les CMI50 et CMI90 des antibiotiques testés et qui correspondent aux CMI inhibant respectivement 50% et 90% de la population bactérienne ont été calculées.

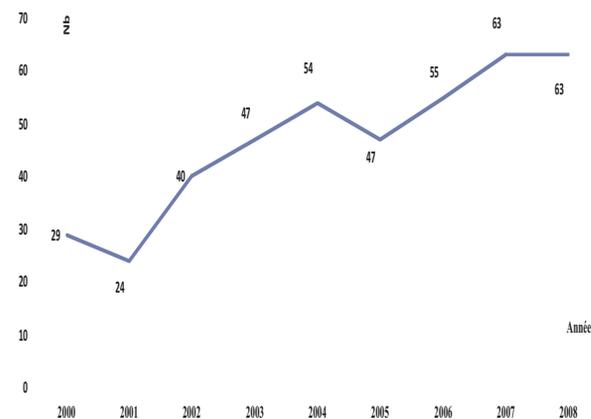
Le contrôle interne de qualité a été fait par l'utilisation des souches de référence *Pseudomonas aeruginosae* ATCC27553, et *S. pneumoniae* ATCC49619.

### -Etude des gènes de résistance aux macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS) :

L'étude a concerné 66 souches non répétitives de *S. pneumoniae* résistantes à l'érythromycine et qui ont été isolées entre janvier 2007 et décembre 2008. Trois PCR simples ont été effectuées en utilisant à chaque fois une paire d'amorces pour amplifier l'un des gènes suivants: gène *ermA* (d'une taille de 210pb), gène *ermB* (d'une taille de 640pb) et gène *mefA* (d'une taille de 350pb) [6]. Une PCR multiplex permettant d'amplifier à la fois les gènes *ermB* et *mefA* a été effectuée pour les souches possédant deux gènes simultanément détectées par PCR simples. Les amorces utilisées dans ces différentes manipulations ainsi que les conditions de PCR sont identiques à un report antérieur [7]. Les témoins positifs utilisés correspondaient à l'ADN des souches : *S. pneumoniae* P6 (*ermB*), *S. pneumoniae* P8 (*mefA*) et *S. pneumoniae* P9 (*ermB* + *mefA*). Les réactions d'amplifications ont été faites dans le thermocycleur 2720 (Applied Biosystems) selon le programme suivant: un cycle de pré-PCR avec une dénaturation initiale à 94°C pendant 5min suivie de 35 cycles comportant chacun trois phases : dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, hybridation à 47°C pendant 45 secondes et élongation à 72°C pendant 1min. Un dernier cycle a comporté une élongation finale à 72°C pendant 10min. La révélation du produit d'amplification a été faite par électrophorèse horizontale dans un gel d'agarose à 2%. L'ADN a été par la suite visualisé sous lumière ultra violette après immersion dans un bain de bromure d'éthidium (Proméga) à 1%.

## RESULTATS

L'étude a porté sur 422 souches de *S. pneumoniae* isolées sur une période de 9 ans. La répartition de ces souches en fonction de l'année a montré une nette évolution de leur nombre en passant de 29 souches en 2000 à 63 souches en 2008 (Figure 1).



**Figure 1 :** Répartition des souches de *S. pneumoniae* en fonction de l'année  
**Figure 1 :** Distribution of strains of *S. pneumoniae* according to the year

La répartition des souches en fonction du sexe a montré une nette prévalence chez le sexe masculin avec un sex ratio de 1,52. La répartition des souches en fonction du mois a montré que l'isolement de *S. pneumoniae* est plus fréquent pendant la période hivernale (36,5%).

Les souches ont été réparties en deux catégories : invasives et non invasives en se basant sur leur site de prélèvement (Tableau I). Les souches invasives (43,3% de la collection) ont été isolées essentiellement de LCR (50,2%) suivi d'hémocultures (34,4%) et d'autres liquides de ponctions (15,3%). Les souches non invasives (56,6%) ont été isolées essentiellement à partir de prélèvements pulmonaires (76,5%), de pus (5,8%) et de prélèvement périphérique de nouveaux nés (5,8%).

**Tableau I :** Répartition des souches selon la nature du prélèvement  
**Table I :** Distribution of strains according to the nature of sample

Type de prélèvement	Nombre de souches	Pourcentage
<b>Souches invasives</b>		<b>43,4%</b>
Liquide céphalo-rachidien	92	21,8%
Hémocultures	63	14,9%
Liquides de ponctions	28	6,6%
<b>Souches non invasives</b>		<b>56,6%</b>
Pulmonaire	183	43,3%
Prélèvements de pus et d'abcès (plaie chirurgicale, plaie, pus superficiel, abcès)	14	3,3%
Prélèvement périphérique des nouveaux nés	14	3,3%
ORL	13	3%
Divers (intra-abdominales, oeil, matériel, divers)	15	3,5%
Total	422	100%

L'étude de la sensibilité aux bêta-lactamines a montré que 225 souches (53,3%) étaient de sensibilité diminuée à la pénicilline G. La résistance de haut niveau a concerné 54 souches (12,8%). Concernant l'amoxicilline, 125 souches (29,6%) étaient de sensibilité diminuée dont 16 souches (3,7%) avaient un haut niveau de résistance. La résistance au céfotaxime a concerné 64 souches (15,1%) ; 11 (2,6%) avaient un haut niveau de résistance et 53 (12,5%) un bas niveau. Les CMI50 et les CMI90 de ces différents antibiotiques sont représentées dans le tableau II).

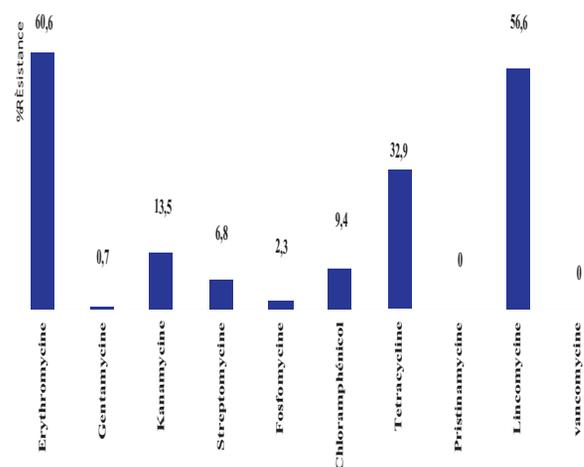
**Tableau II :** CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> des bêta-lactamines

**Table II :** MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of beta-lactam

	Intervalle des CMI (µg/ml)	CMI <sub>50</sub> (µg/ml)	CMI <sub>90</sub> (µg/ml)
<b>Pénicilline G</b>	0,064 - 20	0,75	2
<b>Amoxicilline</b>	0,016 - 24	0,75	2
<b>Céfotaxime</b>	0,023 - 32	0,5	4

Concernant les autres familles d'antibiotiques, la résistance haut niveau à la gentamicine a concerné 3 souches (0,7%), à la streptomycine 29 souches (6,6%) et à la kanamycine 57 souches (13,5%). La résistance à la tétracycline était de 32,9% (n=139), celle au chloramphénicol de 9,4% (n=40) et celle à la fosfomycine de 2,3%. Pour les MLS, 60,6% des souches étaient résistantes à

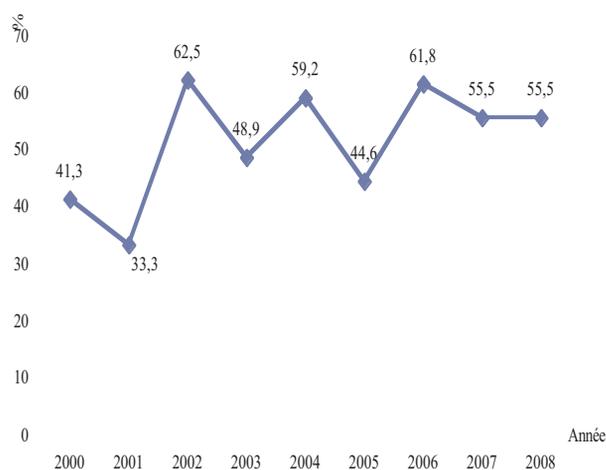
l'érythromycine et 59,6% à la lincomycine. Toutes les souches étaient sensibles à la pristinamycine (Figure 2).



**Figure 2 :** Résistance aux antibiotiques (autres que les bêta-lactamines) de *S. pneumoniae*

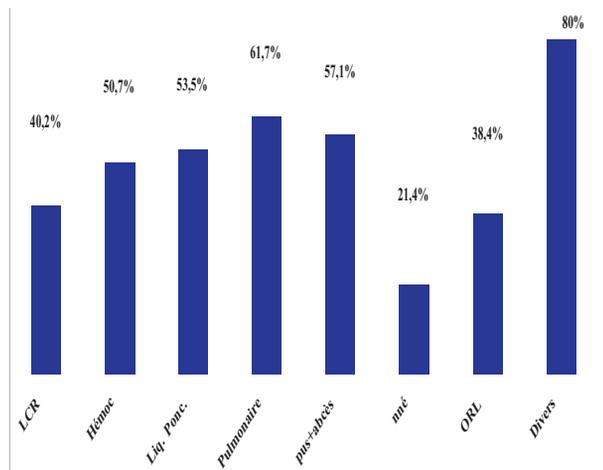
**Figure 2 :** Resistance to antibiotics (other than beta-lactams) of *S. pneumoniae*

La répartition des souches de PSDP en fonction du temps a montré que les taux de résistances les plus élevés ont été notés en 2002, 2004 et 2006 avec un maximum de 62,5% en 2002. Ces flambées se sont stabilisées entre 2007 et 2008 à un taux de 55,5% (Figure 3).



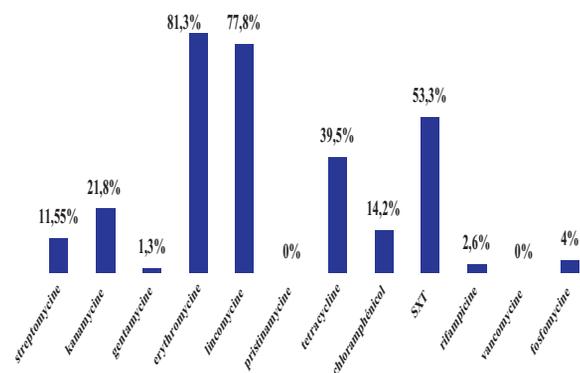
**Figure 3 :** Evolution du nombre des PSDP en fonction de l'année  
**Figure 3 :** Changes in the number of PSDP based on the year

La répartition des PSDP en fonction du site de prélèvement a montré que le plus faible taux provenait de prélèvements périphériques chez les nouveaux nés. Cependant, le taux le plus élevé a été noté pour les souches provenant de prélèvements pulmonaires. Pour les souches invasives, en moyenne 50% de ces souches était des PSDP (Figure 4).

Sensibilité aux antibiotiques de *S. pneumoniae*

**Figure 4 :** Fréquence des PSDP en fonction du prélèvement  
**Figure 4 :** PSDP frequency depending on specimen

L'étude des résistances associées aux antibiotiques a montré que 81,3% des PSDP sont résistants à l'érythromycine et 77,8% à la lincomycine. Les résistances associées à la gentamicine et à la rifampicine restent faibles (1,3 et 2,6% respectivement). Aucune résistances à la vancomycine ni à la pristinaamycine n'a été notée (Figure 5).



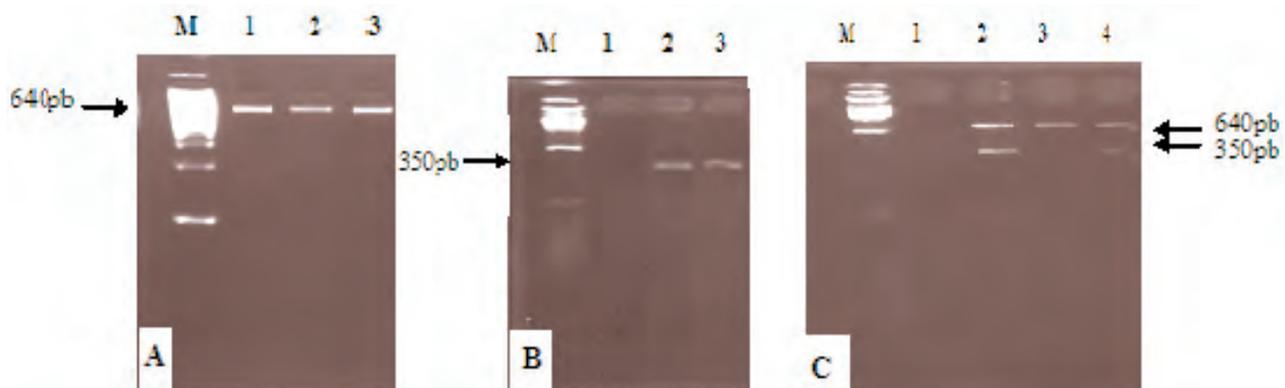
**Figure 5 :** Résistance associée des PSDP aux autres antibiotiques  
**Figure 5 :** Associated resistance to antibiotics of PSDP

L'amplification par PCR du gène *ermB* était positive pour 63 des 66 souches de *S. pneumoniae* résistantes à l'érythromycine et a montré une bande de 640pb correspondant à la taille du gène *ermB* du témoin positif (P6). L'amplification par PCR simple du gène *mefA* était positive pour 4 souches de la collection donnant une bande de 350pb correspondant à la taille du témoin positif (P8). L'amplification par PCR multiplex ciblant simultanément les gènes *ermB* et *mefA* était positive pour une seule souche de *S. pneumoniae* (Figure 6). Cependant, l'amplification du gène *ermA* était négative pour la totalité des souches étudiées.

## DISCUSSION

Depuis sa caractérisation en 1881, *S. pneumoniae* représente l'un des principaux pathogènes responsables d'infections communautaires invasives et non invasives surtout aux âges extrêmes de la vie [8]. Cette bactérie est une cause majeure de morbidité et de mortalité partout dans le monde, responsable de différents types de manifestations cliniques dont la plus grave est la méningite. Selon notre étude, les souches non invasives, essentiellement d'origine pulmonaire prédominant. Plus que la moitié des souches invasives provient de LCR. Le pneumocoque fait partie de la triade bactérienne classique des agents étiologiques des méningites bactérienne (*S. pneumoniae*, *H. influenzae* et *N. meningitidis*), il engendre la méningite la plus grave qui se caractérise par une mortalité élevée et des séquelles neurologiques lourdes [9]. En effet, les infections à pneumocoque sont responsables de 1 à 2 millions de morts par an parmi la population d'enfants âgés de moins de 5 ans [10]. Après la généralisation du vaccin conjugué anti *Haemophilus influenzae b*, *S. pneumoniae* est devenu la première cause de méningites bactériennes de l'enfant dans de nombreux pays du monde [11, 12]. Les infections à *S. pneumoniae* se caractérisent par des variations saisonnières avec une recrudescence hivernale [8], cette prédominance hivernale est également notée dans notre étude.

Depuis la description en 1967 de la première souche en Australie, le nombre de PSDP ne cesse d'augmenter. Les différentes études tunisiennes sur *S. pneumoniae* rapportent des taux élevés de PSDP, ce qui classe la Tunisie parmi les pays de haute prévalence [13, 14, 15]. Ce taux élevé pourrait s'expliquer par la fréquence de l'auto-médication [16].



**Figure 6 :** Amplification par PCR des gènes de résistance aux macrolides  
**Figure 6 :** PCR amplification of genes for resistance to macrolides

A : gène *ermB* (1 : témoin + P6, 2-3 : souches testés); B : gène *mefA* (1 : Témoin négatif, 2 : Témoin positif P8, 3 : souche testée); C : *ermB* et *mefA* (1 : témoin négatif, 2 : témoin positif P9 (*mefA* – *ermB*), 3 : souche *ermB*(+) *mefA*(-), 4 : souche *ermB*(+) *mefA*(+)) M : marque de poids moléculaire 100pb

L'isolement de PSDP est un problème majeur dans la population générale mais il concerne essentiellement la population pédiatrique du fait de la fréquence du portage et des infections pneumococciques chez l'enfant [15, 16]. Dans notre étude qui a concerné une population pédiatrique, l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques montre que 53,3% des souches sont résistantes à la pénicilline G dont 12,8% sont de haut niveau de résistance. En comparant l'évolution des PSDP au fil des années, on note que leur fréquence est en perpétuelle augmentation, en effet, on passe de 41,3% en 2000 à 55,5% en 2008. La fréquence des PSDP est beaucoup plus importante parmi les souches non invasives que celles invasives. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature [14, 15, 17]. Pour les autres bêta-lactamines testées, 29,6% des souches sont résistantes à l'amoxicilline et 15,6% au céfotaxime. Ces valeurs restent élevées. En effet, en France, dans une étude faite en 2005, seulement 17% des souches sont résistantes à l'amoxicilline et 6% au céfotaxime [16]. En Espagne, 9,7% des souches de pneumocoque sont résistantes au céfotaxime [18]. En Afrique de l'Est, aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de ces deux antibiotiques [19]. Pour le reste des antibiotiques, la résistance de haut niveau à la streptomycine et à la kanamycine est respectivement de 6,6% et 13,5%. Pour la gentamicine 0,7% des souches sont résistantes. Les résistances à la tétracycline, à la fosfomycine et au chloramphénicol sont respectivement, 32,9%, 2,3% et 9,4%. Ces résultats sont proches de ceux de la littérature [20, 21].

Les PSDP ont une tendance globale d'être beaucoup plus résistants aux antibiotiques que les pneumocoques sensibles à la pénicilline [20, 21]. Ces taux élevés de résistances associées ont été rapportés dans la littérature. Cependant, le taux le plus élevé de résistance des PSDP est celui aux macrolides [4]. Si les bêta-lactamines sont les antibiotiques de choix dans le traitement des infections *S. pneumoniae*, les macrolides constituent une alternative dans le traitement des infections respiratoires et ORL et en cas d'allergies aux bêta-lactamines. Cependant, la résistance du pneumocoque à ces molécules est en augmentation, elle est signalée dans de nombreux pays [4]. Dans notre étude, 60,6% des souches sont résistantes à l'érythromycine et 56,6% à la lincomycine. La résistance à l'érythromycine est de 41,8% en France [22] et 34,7% en Espagne [23]. Au Mexique, 50% des souches invasives sont résistantes à l'érythromycine [24]. Dans notre étude, 81,3% des PSDP sont résistants à l'érythromycine et 77,8% à la lincomycine. Ceci est en accord avec les résultats rapportés dans la littérature [25]. Deux mécanismes sont à l'origine de cette résistance. Le premier est la modification de la cible ribosomale par une méthylation de l'ARN ribosomale 23S, dans ce cas la production de la méthylase est sous le contrôle des gènes *erm* (soit *ermB*, soit *ermA*) et le phénotype de résistance est noté MLSB (résistance croisée aux macrolides, lincosamides et streptogramines). Le deuxième est l'efflux actif de l'antibiotique qui est contrôlé par les gènes *mefA* et le phénotype ainsi obtenu est noté M (résistance isolée aux macrolides). Dans notre étude, la production d'une méthylase s'avère le mécanisme de résistance le plus répondu. En effet, 62 souches parmi les 66 étudiées possèdent le gène *ermB* seul et sont de phénotype MLSB, aucune souche n'a le gène *ermA*. Quatre souches possèdent le gène *mefA* seul dans 3 cas et sont de phénotype M et une souche possède les deux gènes *ermB* et *mefA* simultanément ; cette souche est de phénotype MLSB. La prédominance du gène *ermB* parmi les souches résistantes à l'érythromycine a été également mentionnée dans une autre étude tunisienne [26]. Ces résultats sont concordants avec ceux

rapportés dans d'autres pays. En effet, la résistance aux macrolides est essentiellement médiée par le gène *ermB* dans plusieurs pays du monde tels que l'Espagne [27], et la France [4]. Par contre, dans d'autres pays tel que le Canada [28] et les USA [29] c'est plutôt le gène *mefA* qui est majoritaire.

## CONCLUSION

Notre étude confirme le taux très élevé des PSDP parmi les isolats de *S. pneumoniae* en milieu pédiatrique en Tunisie. Les PSDP sont souvent multirésistants aux différents antibiotiques et particulièrement aux macrolides. Ce phénomène est en progression continue dans nos hôpitaux ce qui pose de plus en plus des problèmes thérapeutiques. La meilleure arme pour lutter contre ce fléau est de prévenir les infections à pneumocoque et ce par une vaccination systématique de tous les enfants et particulièrement les groupes à risque.

## Remerciements

Nous remercions Pr Rolland Leclercq (Caen, France) pour avoir fourni les souches de référence utilisées dans les réactions de PCR.

## Références

- 1- Martens P, Worm SW, Lundgren B, Konradsen HB, Benfield T. Serotype-specific mortality from invasive *Streptococcus pneumoniae* disease revisited. BMC Infect Dis 2004 ; 30 : 4-21.
- 2- Regev-Yochay G, Raz M, Dagan R, et al. Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* by Adults and Children in Community and Family Settings. Clin Infect Dis 2004 ; 38 : 632-9.
- 3- Marchisio P, Esposito S, Schito G C, et al. Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Healthy Children: Implications for the Use of Heptavalent Pneumococcal Conjugate Vaccine. Emerg Infect Dis 2002 ; 8 (5): 479-84.
- 4- Reinert R.R, Reinert S, vander Linden M, Cil M.Y, Al-Lahham A, Appelbaum P. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in eight European countries from 2001 to 2003. Antimicrob. Agents Chemother. 2005; 49: 2903-13.
- 5- Soussy C. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2008.
- 6- Angot P, Vergnaud M, Auzou M, Leclercq R. Macrolide resistance phenotypes and genotypes in French clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Observatoire de Normandie du pneumocoque. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000 ; 19 : 755-8.
- 7- Ksia S, Smaoui H, Hariga D, Kechrid A. Biotypes et sensibilité aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pyogenes* isolées chez des enfants à Tunis. Bull Soc Pathol Exot, 2010 ; 103 : 69-74.
- 8- Brisou P, Chamouilli JM, Gaillard T, Muzellec Y. Infections à pneumocoque. Encycl Médico-Chir 2004 ; 4-260-B-10
- 9- Thabet F, Tilouche S, Tabarki B et al. Mortalité par méningites à pneumocoque chez l'enfant. Facteurs pronostiques à propos d'une série de 73 observations. Arch Ped 2007 ; 14 : 334-7.
- 10- Mulholland K. Strategies for the control of pneumococcal diseases. Vaccine 1999 ; 30 Suppl 1: S79-84.
- 11- Nigrovic LE, Kuppermann N, Malley R. Bacterial Meningitis Study Group of the Pediatric Emergency Medicine Collaborative Research Committee of the American Academy of Pediatrics. Children with bacterial meningitis presenting to the emergency department during the pneumococcal conjugate vaccine era. Acad Emerg Med 2008 ; 15 : 522-8.
- 12- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pediatric bacterial meningitis surveillance- African region, 2002-2008. Morb Mortal Wkly Rep 2009 ; 58 : 493-7.

## Sensibilité aux antibiotiques de *S. pneumoniae*

- 13- Mahjoubi Rhimi F, Kechrid A, Boutiba I et al. Sensibilité aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* en Tunisie: Résultats d'une étude multicentrique (1998-1999). *Tunisie Med* 2003; 81: 167-171.
- 14- Smaoui H, Amri J, Hajji N, Kechrid A. Sensibilité aux antibiotiques et distribution des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'enfant à Tunis. *Arch Ped* 2009 ; 16 : 220-6.
- 15- Znazen A, Ayadi S, Mnif B et al. Résistance de *S. pneumoniae* aux antibiotiques en Tunisie : étude multicentrique 2004 – 2006. *Rev Tun Infect* 2010 ; 4 : 10-4.
- 16- Chardon. H, Varon. E, Bensaid. T, Bellon. O, Lagier. E, Gutmann. L. Epidémiologie de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques. *Med Mal Infect.* 2002 ; 32 : 21-31.
- 17- Del Mar Garcia-Suarez M., Villaverde R., Caldevilla A.F., Mendez F.J. and Vazquez F. Serotype distribution and antimicrobial resistance of invasive and non invasive pneumococcal isolates in Asturias Spain. *J Infect Dis* 2006 ; 59: 299-305.
- 18- Vila-Corcoles A, Bejarano-Romero F, Salsench E et al. Drug-resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates among Spanish middle aged and older adults with community-acquired pneumonia. *BMC Infect Dis* 2009 ; 25 : 9-36.
- 19 - Mudhune S, Wamae M; Network Surveillance for Pneumococcal Disease in the East African Region. Report on invasive disease and meningitis due to *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* from the Network for Surveillance of Pneumococcal Disease in the East African Region. *Clin Infect Dis* 2009 ; 48 : 147-52.
- 20 - Neralla S, Meyer KC. Drug treatment of pneumococcal pneumonia in the elderly. *Drugs Aging* 2004 ; 21 : 851-64.
- 21 - Riedel S, Beekmann SE., Heilmann KP et al. Antimicrobial use in Europe and antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007 ; 26 : 485-90.
- 22 - Kempf M, Baraduc R, Bonnabau H et al. Epidemiology and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae* in France in 2007 : Data from the Pneumococcus Surveillance Network. *Microb Drug Resist* 2010 (in press).
- 23 - Calatayud L, Ardanuy C, Cercenado E et al. Serotypes, Clones and Mechanisms of Resistance of Erythromycin Resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates collected in Spain. *Antimicrob Agents and Chemother.* 2007 ; 51 : 3240-6.
- 24 - Villaseñor-Sierra A, Lomas-Bautista M, Aguilar-Benavides S, Martínez-Aguilar G. Serotypes and susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from children in Mexico. *Salud Publica Mex* 2008 ; 50 : 330-3.
- 25 - Dias R, Louro D. the Antimicrobial Resistance Surveillance Program in Portugal, Canic M. Antimicrobial susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in Portugal over an 11-year period. *Antimicrob Agent Chemother* 2006 ; 50 : 2098–2105.
- 26- Rachdi M, Boutiba-Ben Boubaker I, Moalla S et al. Phenotypic and genotypic characterization of macrolid resistant *S. pneumoniae* in Tunisia. *Path biol* 2008 ; 56 : 125-9.
- 27 - De la Pedrosa EG, Baquero F, Loza E et al. High clonal diversity in erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* invasive isolates in Madrid, Spain (2000-07). *J Antimicrob Chemother* 2009 ; 64 : 1165-9.
- 28 - Zhanel GG, Wang X, Nichol K et al. Molecular characterisation of Canadian paediatric multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* from 1998-2004. *Int J Antimicrob Agents* 2006 ; 28 : 465-71.
- 29 - Jenkins SG, Farrell DJ. Increase in pneumococcus macrolide resistance, United States. *Emerg Infect Dis.* 2009 ;15(8):1260-4.