

# S O M M A I R E

	<i>Page</i>
INTRODUCTION.....	1
 <b>1. PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
1.1. <i>Haemophilus influenzae</i> .....	4
1.1.1. Introduction.....	4
1.1.2. Classification.....	4
1.1.3. Caractères bactériologiques.....	4
1.1.4. Epidémiologie.....	8
1.1.5. Pouvoir pathogène naturel.....	9
1.1.6. Diagnostic bactériologique.....	10
1.1.7. Eléments de thérapeutique.....	11
1.2. <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	13
1.2.1. Introduction.....	13
1.2.2. Classification.....	13
1.2.3. Caractères bactériologiques.....	13
1.2.4. Epidémiologie.....	18
1.2.5. Pouvoir pathogène naturel.....	19
1.2.6. Diagnostic bactériologique.....	19
1.2.7. Eléments de thérapeutique.....	21
1.3. <i>Neisseria meningitidis</i> .....	23
1.3.1. Introduction.....	23
1.3.2. Classification.....	23
1.3.3. Caractères bactériologiques.....	23
1.3.4. Epidémiologie.....	26
1.3.5. Pouvoir pathogène naturel.....	27
1.3.6. Diagnostic bactériologique.....	27
1.3.7. Eléments de thérapeutique.....	29
1.4. <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	30
1.4.1. Introduction.....	30
1.4.2. Classification.....	30
1.4.3. Caractères bactériologiques.....	30
1.4.4. Epidémiologie.....	33
1.4.5. Pouvoir pathogène naturel.....	33

1.4.6.	Diagnostic bactériologique.....	34
1.4.7.	Eléments de thérapeutique.....	36
1.5.	Autres bactéries.....	37

## 2. *DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE*

1.	Cadre de l'étude .....	38
1.1.	Hôpital pédiatrique national.....	38
1.2.	Période de l'étude.....	39
2.	Patients.....	40
2.1.	Population d'étude.....	40
2.2.	Critères d'inclusion.....	40
2.3.	Critères d'exclusion.....	40
3.	Matériels.....	41
3.1.	Matériels de prélèvement.....	41
3.2.	Matériels de laboratoire.....	41
3.3.	Fiches d'enquête.....	43
4.	Méthodes.....	44
4.1.	Prélèvements.....	44
4.2.	Technologie au laboratoire.....	45
4.2.1.	Traitement des échantillons.....	45
4.2.2.	L'isolement des germes.....	45
4.2.3.	L'identification des germes.....	46
4.2.4.	Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques...	48
5.	Résultats.....	52
5.1.	Population d'étude.....	
5.1.1.	Nombre.....	52
5.1.2.	Age et sexe.....	52
5.1.3.	Diagnostic à l'entrée.....	53
5.1.4.	Notion d'hospitalisation/Malades externes.....	53
5.1.5.	Antibiothérapie préalable.....	54
5.1.6.	Statut vaccinal.....	54
5.1.7.	Saison de recrutement.....	55
5.1.8.	Répartition géographique.....	56

5.1.9.	Répartition de ces différents germes suivant les autres produits pathologiques.....	56
5.2.	Bactéries isolées.....	57
5.2.1.	Données globales.....	57
5.2.2.	Profil de sensibilité aux antibiotiques.....	60
5.2.3.	Sérotypes et biotypes des germes isolés.....	64
5.2.4.	Répartition des germes selon l'âge et le sexe.....	65
5.2.5.	Distribution saisonnière.....	67
6.	Discussion.....	68
3.	6.1. Données générales.....	68
6.2.	Bactéries isolées.....	69
6.2.1.	<i>S. pneumoniae</i> .....	69
6.2.2.	<i>H. influenzae</i> .....	71
6.2.3.	<i>Neisseria meningitidis</i> .....	72

(1) CONCLUSION.....	75
---------------------	----

BIBLIOGRAPHIE.....	77
--------------------	----

# ***LISTE DES ABREVIATIONS***

---

AAF	:	Aéro – Anaérobie - Facultatif
AgK	:	Antigène capsulaire
API NH	:	Appareillage Pour Identification :

## **b) Neisseria-Haemophilus**

BCC	:	Bouillon Cœur - Cerveau
BPS	:	Bactérie pathogène spécifique
C3G	:	Céphalosporines de 3 <sup>e</sup> génération
CHNEAR	:	Centre Hospitalier National d'Enfants Albert Royer
CMI	:	Concentration minimale inhibitrice
CO <sub>2</sub>	:	Dioxyde de carbone
Hib	:	<i>Haemophilus influenzae</i> b
LPS	:	Lipo-polysaccharide
LCR	:	Liquide céphalo-rachidien
MBP	:	Méningite Bactérienne Pédiatrique
MGO	:	Méningocoque ( <i>Neisseria meningitidis</i> )
MHSC	:	Mueller - Hinton - Sang cuit
NAD	:	Nicotinamide
ODC	:	Ornithine - Décarboxylase
ORL	:	Oto – Rhino - Laryngologie
PLP	:	Protéine liant la Pénicilline
PNO	:	Pneumocoque ( <i>Streptococcus pneumoniae</i> )
PSDP	:	Pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline
PRP	:	Polyribose – Ribitol – Phosphate
SGB	:	Streptocoque du groupe B
VCN	:	Vancomycine – Colistine - Nystatine

*«Par délibération, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations, qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation».*

## LISTE DES TABLEAUX

	Page
<i>Tableau I</i> : Antibiotiques testés sur les 3 principaux germes	49
<i>Tableau II</i> : Diagnostic à l'entrée et tranches d'âge des patients recrutés au CHNEAR.....	52
<i>Tableau III</i> : Répartition des malades porteurs des germes selon le district médical d'origine.....	56
<i>Tableau IV</i> : Répartition des souches bactériennes isolées chez les patients au CHNEAR.....	58
<i>Tableau V</i> : Fréquence de portage des différents germes isolés chez des enfants au CHNEAR.....	59
<i>Tableau VI</i> : Profil de sensibilité aux antibiotiques des 3 principaux germes responsables de MBP isolés chez des enfants au CHNEAR.....	60
<i>Tableau VII</i> : CMI des antibiotiques usuels de <i>S. pneumoniae</i> .....	62
<i>Tableau VIII</i> : Biotypes des souches d' <i>Haemophilus</i> isolés chez des patients au CHNEAR.....	65
<i>Tableau IX</i> : Répartition des germes isolés selon l'âge lors de L'étude sur le portage au CHNEAR.....	66

## LISTE DES FIGURES

		Page
<i>Figure 1</i>	: Distribution des pathologies des patients inclus au CHNEAR selon le mois.....	55
<i>Figure 2</i>	: Répartition des différentes souches isolées chez des patients au CHNEAR.....	58
<i>Figure 3</i>	: Sensibilité de <i>S. pneumoniae</i> aux antibiotiques...	61
<i>Figure 4</i>	: Sensibilité d' <i>Hib</i> et du <i>N. meningitidis</i> aux antibiotiques.....	63
<i>Figure 5</i>	: Répartition des souches isolées du rhinopharynx selon l'âge chez des enfants au CHNEAR.....	66
<i>Figure 6</i>	: Profil de la répartition saisonnière des souches isolées du rhinopharynx chez des enfants au CHNEAR.....	67

## RESUME



## Portage rhinopharyngé des différents germes responsables de méningites bactériennes pédiatriques

Thèse de Pharmacie : 2003-N°28

Ayéfua Esi Toffa

E-mail : rtoffa2002@yahoo.fr

Le rhinopharynx constitue une niche écologique naturelle pour les bactéries responsables de méningite bactérienne pédiatrique (MBP). Parmi ces bactéries, *H. influenzae*, *S. pneumoniae* et *N. meningitidis* sont les plus fréquents et les plus recherchés lors d'enquêtes réalisées sur le portage.

L'existence de vaccins efficaces contre ces trois microorganismes est un atout majeur dans la prévention des MBP. Cependant, leur utilisation dans un pays doit reposer sur des informations sûres et précises concernant les sérotypes des souches de *Hib*, *S. pneumoniae* et *N. meningitidis* en circulation.

Afin de recueillir ces informations, préalables à l'introduction de ces vaccins dans le programme élargi de vaccination (PEV) au Sénégal, nous avons réalisé des prélèvements rhinopharyngés pour apprécier le portage de ces principales bactéries, agents étiologiques de MBP. Ce travail a été mené au Centre Hospitalier National d'Enfants Albert Royer (CHNEAR) de Dakar.

D'octobre 2002 à Mai 2003, 168 enfants ont été inclus dans cette étude. Il s'agissait de 100 garçons et 68 filles âgés de 0 à 15 ans, consultant pour des motifs divers.

Chez x enfants, 51 souches bactériennes potentiellement agents étiologiques de MBP ont été isolées; on dénombre :

- *S. pneumoniae* : 38 souches
- *Haemophilus influenzae* : 11 souches
- *N. meningitidis* : 2

Le sérotypage des isolats a montré que 7 des 11 *H. influenzae* appartient au sérotype capsulaire b; les autres sont représentés par *H. influenzae* non b.

Le sérotypage de *S. pneumoniae* et de *N. meningitidis* n'a pu être fait sur place ici à Dakar. Un seul sérogroupe de *N. meningitidis* a été trouvé en portage : il s'agit du W<sub>135</sub>.

L'ampicilline a inhibé tous les pneumocoques testés. La pénicilline G a été très active également sur le pneumocoque et le méningocoque dans notre étude.

Ces résultats préliminaires plaident en faveur de l'introduction d'antigènes vaccinaux contre *S. pneumoniae* et *Hib* dans les activités du PEV au Sénégal.

**Mots clés : Rhinopharynx – Portage asymptomatique – Sérotypes – Antibiotypes**

## **IV . INTRODUCTION**

Certaines bactéries responsables d'infections graves chez l'enfant se singularisent par leur portage parfois fréquent au niveau du rhinopharynx. A partir de ce site, elles peuvent engendrer des infections de proximité diverses, porte d'entrée de pathologies sévères comme les méningites.

Parmi elles, trois représentent les étiologies principales des méningites bactériennes pédiatriques(MBP) à travers le monde. Il s'agit de :

- *Haemophilus influenzae b*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Neisseria meningitidis*.

En milieu pédiatrique dakarois, d'autres germes viennent allonger cette liste en période néo-natale; ce sont :

- *Streptococcus agalactiae*
- *Enterobacteriaceae* : *Escherichia coli* *Klebsiella pneumoniae*...

Tous les ans, on estime à un million le nombre de cas de méningites survenant dans le monde, dont 200000 sont fatals. Le taux de létalité est fonction de l'âge et de la bactérie ; classiquement, il varie de 3% à 19% dans les pays développés et de 37% à 60% dans les pays en développement [60].

En effet, en l'absence de traitement spécifique, les méningites purulentes ont une évolution fatale inéluctable. L'antibiothérapie en a modifié le pronostic. Cependant le taux de mortalité, qui est fonction aussi, du terrain , n'a pas baissé au cours des dernières années malgré l'apparition de nouvelles molécules anti-infectieuses.

Devant les difficultés de mise en route d'une antibiothérapie précoce et adaptée dans le traitement de la méningite, des efforts ont été consentis dans les pays développés pour la mise au point d'une prophylaxie vaccinale. Cette prévention vaccinale repose sur les données épidémiologiques concernant les principales bactéries responsables des MBP à savoir: espèce, sérotype, biotype et antibiotype.

Cependant, ces données des pays du Nord ne sont pas extrapolables systématiquement à d'autres régions du monde, notamment l'Afrique. Alors, chaque environnement géographique considéré devra effectuer ses propres études épidémiologiques sur les agents des MBP. Cela permettrait une adaptation de la composition des vaccins proposés et utilisés actuellement dans la prévention des MBP.

Notre travail qui s'inscrit dans ce cadre a pour :

- objectif général, la recherche des trois agents principaux responsables des MBP(*Hib*, *S. pneumoniae* et *N. meningitidis*)
- objectifs spécifiques, la détermination précise des sérogroupe, sérotype, antibiotype de ces bactéries afin de juger de l'efficacité de la couverture vaccinale des différents vaccins proposés au Sénégal.

Nous présenterons nos travaux en deux parties :

- une première partie consacrée aux rappels bibliographiques sur les étiologies des MBP.
- Une seconde partie dans laquelle notre travail expérimental est présenté et discuté.

**PREMIERE PARTIE**

**RAPPELS**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

## **1.1. *Haemophilus influenzae***

### **1.1.1. Introduction**

C'est un coccobacille polymorphe, à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif. Il exige pour sa croissance des facteurs contenus dans le sang : l'hémine (facteur X) et le nicotinamide (facteur V). C'est une bactérie qui « aime le sang ». On l'appelle encore bacille de Pfeifer.

C'est la première étiologie des méningites bactériennes dans le monde surtout dans les pays où le vaccin anti-*Haemophilus influenzae b* n'est pas spécifique.

### **1.1.2 Classification [17,32,35]**

Il appartient à :

- famille : *Pasteurellaceae*
- genre : *Haemophilus*
- espèce : *Haemophilus influenzae*
- sérotypes : a,b,c,d,e,f

### **1.1.3 Caractères bactériologiques [1,3,17,27,35,46]**

#### **- Caractères morphologiques**

*H. influenzae* est un bacille à Gram négatif, court, coccoïde, mesurant 0,5 à 2 µ de long sur 0,3 à 0,4 µ de large.

Immobile, il est disposé en paires, en amas parallèles (bancs de poisson) ou en courtes chaînettes dans les produits pathologiques.

Habituellement, *H. influenzae* est capsulé dans les produits pathologiques ou lors de son isolement à partir de milieux au sang.

C'est une bactérie asporulée.

#### **- Caractères cultureux**

*H. influenzae* ne pousse que sur des milieux enrichis au sang. Les globules rouges apportent les deux facteurs **X** et **V** répondant ainsi aux besoins de la bactérie. Cette double exigence le distingue des autres espèces notamment *H. parainfluenzae* qui ne nécessite que du NAD et *H. ducreyi* le facteur X.

#### **\* Milieux de culture**

Divers milieux sont utilisés :

- gélose au sang cuit
- milieu sélectif: gélose au sang cuit + bacitracine (50 UI / ml). La bacitracine inhibe la croissance de la plupart des bactéries à Gram positif de la flore rhino-pharyngée.

#### **\* Conditions de culture**

*H. influenzae* cultive à un optimum de température de +37°C. Sa croissance est habituellement meilleure en atmosphère ordinaire qu'en anaérobiose et est favorisée par la présence de CO<sub>2</sub> et d'humidité.



## **\* Aspect des colonies**

Sur gélose au sang, les colonies sont petites, arrondies, opaques et blanchâtres, légèrement bombées et irisées, à bords réguliers. On peut noter des colonies muqueuses pour les souches capsulées.

### **- Caractères biochimiques**

*H. influenzae* produit de l'oxydase, de la catalase, de l'ornithine décarboxylase(ODC), fréquemment de l'indole (souche S) mais ne produit pas d'hydrogène sulfureux (SH<sub>2</sub>). L'uréase est souvent positive.

Le pouvoir glucidolytique est très variable : il fermente régulièrement, sans production de gaz le glucose et le xylose ; irrégulièrement le galactose et le maltose. Il n'attaque ni le lactose ni le mannitol.

Il réduit irrégulièrement les nitrates en nitrites.

Le biotypage repose sur la production d'uréase, d'indole et d'ODC.

### **- Caractères antigéniques**

*H. influenzae* possède différents antigènes dont :

- antigène somatique ou AgO. Il est spécifique d'espèce.
- antigène capsulaire (AgK). De nature polysidique (polyribose ribitol phosphate: PRP) cet antigène est spécifique de sérotype. Ainsi six types capsulaires

sérologiquement différents sont décrits pour *H. influenzae* (a, b , c, d, e, f) **dont le type b est responsable de la quasi-totalité des infections graves à *H. influenzae*.**

Trois applications médicales pratiques sont actuellement disponibles pour l'AgK d'*H. influenzae* :

- son utilisation comme vaccin dans la prévention des méningites et épiglottites.
- sa recherche dans les produits pathologiques (LCR, sang, urines) lors des tests de diagnostic rapide (test au latex).
- son rôle dans la taxonomie (sérotypage) des souches d'*H. influenzae*.

#### **- Sensibilité aux antibiotiques [10,35,49]**

*H. influenzae* est un germe très sensible aux antibiotiques. Cependant à partir de 1971 sont apparues des résistances plasmidiques. Celles-ci codent pour des enzymes inactivant l'ampicilline (10 à 15%), le chloramphénicol, les tétracyclines et la kanamycine (faibles fréquences). Les souches sécrétrices de  $\beta$ -lactamases restent sensibles aux céphalosporines de troisième génération (C3G), au triméthoprim-sulfaméthoxazole, aux quinolones et à l'association amoxicilline-acide clavulanique.

#### **- Propriétés physico-chimiques**

La vitalité du germe est faible : il est sensible à l'action de la chaleur, du froid, de la lumière , de la dessiccation et des antiseptiques. Il se conserve bien par la lyophilisation et par la congélation.

#### 1.1.4. Epidémiologie [6,7,26,50,60]

C'est une bactérie strictement humaine et pathogène spécifique (BPS). Elle est retrouvée au niveau des voies respiratoires supérieures et de la muqueuse buccale. Le taux de portage dans la flore nasopharyngée varie de 33 à 67% chez les enfants.

La transmission se fait par voie respiratoire. Elle est facilitée par un taux important de porteurs sains.

C'est une bactérie cosmopolite et endémique, donnant lieu à des poussées épidémiques dans des collectivités d'enfants. Elle entraîne des infections graves, beaucoup plus fréquentes chez les très jeunes enfants âgés de 3 mois à 5 ans. En effet chez l'enfant de moins de 5 ans, environ 25% des souches isolées sont capsulées ; ce pourcentage tombe à moins de 1% chez l'adulte. Lors des infections aiguës des voies respiratoires (angines, pharyngites, épiglottites, pneumonies), la plupart des souches isolées sont capsulées et appartiennent presque toujours au sérotype b. Les souches non capsulées d'*Haemophilus influenzae* sont surtout la cause de poussées de surinfections lors de bronchites aiguës (grippe, rougeole) ou chroniques, ou de mucoviscidose.

L'incidence des infections invasives varie selon les régions. La méningite à *Hib* qui est la forme clinique la plus sévère tend à disparaître dans les pays développés grâce au vaccin conjugué anti-Hib.

#### 1.1.5. Pouvoir pathogène naturel [26,50,60]

*H. influenzae* provoque des infections aiguës atteignant avec prédilection l'enfant. Le fait que ce germe soit un commensal de la flore buccale explique que les infections soient très souvent initialement localisées aux voies aériennes supérieures.

Les formes graves sont le fait d'*H. influenzae b*

- infections graves

- méningite purulente de l'enfant(MP). Comme agent primaire d'infection, il représente la première cause de MP aiguë chez l'enfant (3 mois à 3 ans).
- épiglottite, péricardite
- infections pleuro-pulmonaires, ostéo - articulaires

- autres infections

- sphère oto-rhino-laryngologique (ORL): angine, sinusite, otite...
- génitales
- surinfections des bronchites

#### 1.1.6. Diagnostic bactériologique [17, 35, 49]

##### \* Diagnostic classique

###### ● Prélèvements

*H. influenzae* est recherché dans les produits pathologiques suivants : LCR, sang, pus, sécrétions respiratoires et vaginales.

###### ● Examen microscopique

*H. influenzae* apparaît à l'examen microscopique des prélèvements pathologiques ou dans les cultures jeunes comme des bacilles à Gram négatif, toujours immobiles, souvent coccobacillaires et capsulés.

###### ● Isolement

Il est pratiqué sur des milieux nutritifs complétés avec du sang de mammifère qui apporte l'hémine et le NAD. Cependant le sang frais contient des inhibiteurs du NAD, ce qui explique l'irrégularité des cultures sur les milieux au sang frais. Les meilleurs milieux d'isolement sont donc ceux additionnés de sang cuit ; ils présentent l'avantage de la destruction des inhibiteurs du NAD et du relargage des cytochromes par hémolyse.

Ces milieux peuvent être rendus sélectifs par addition de la bacitracine.

###### ● Identification

Sur gélose au sang cuit les colonies sont lisses, convexes, grisâtres, translucides après une incubation de

24 heures à +37°C. L'identification est basée sur l'étude des caractères morphologiques, culturels, biochimiques et antigéniques.

#### ● **Antibiogramme**

En routine, la méthode des disques ou antibiogramme standard est utilisée. Son interprétation est parfois difficile du fait de l'utilisation des milieux de culture complexes. Il convient donc de vérifier les résultats de l'antibiogramme classique surtout en cas de MP. Cette vérification se fait par l'étude des concentrations minimales inhibitrices (ampicilline, chloramphénicol) et par la recherche d'une bêtalactamase pour déceler l'existence éventuelle d'une résistance plasmidique.

#### \* **Diagnostic rapide**

La recherche d'antigènes solubles capsulaires peut être effectuée directement dans le prélèvement (LCR, sérum, urine).

Le principe repose sur l'agglutination de ces antigènes avec des particules de latex sensibilisées avec les anticorps anticapsulaires.

#### **1.1.7. Eléments de thérapeutique [22, 35]**

##### **- Traitement curatif**

L'antibiotique de choix pour les infections aiguës méningées ou pulmonaires à *H. influenzae* est l'ampicilline ou une céphalosporine de troisième génération (C3G). En cas

de résistance à l'ampicilline, le traitement par le chloramphénicol est actuellement le plus utilisé dans les méningites.

#### **- Prévention**

Elle repose surtout sur la vaccination à l'aide d'un vaccin conjugué constitué par des fragments de capsule (AgK) associés à une protéine (anatoxine tétanique). On ne dispose de vaccin que contre *Hib*.

Le traitement classique (mais non obligatoire) des porteurs sains dans l'entourage d'un enfant ayant fait une MP se fait par l'ampicilline.

## **1.2. *Streptococcus pneumoniae***

### **1.2.1. Introduction [60]**

C'est un diplocoque, à Gram positif, capsulé, aéro-anaérobie facultatif (AAF).

Sur le plan clinique il constitue la deuxième cause de méningite purulente chez l'enfant.

### **1.2.2. Classification [17,32,49]**

*S. pneumoniae* appartient à :

- famille : *Streptococcaceae*
- genre : *Streptococcus*
- espèce : *Streptococcus pneumoniae*
- sérotypes : 90 numérotés de 1 à 90.

### **1.2.3. Caractères bactériologiques [17,31,34,35,41,50]**

#### **- Caractères morphologiques**

A l'examen microscopique, le pneumocoque (PNO) présente un aspect de diplocoque à Gram (+) en « flamme de bougie » ou en très courtes chaînes dans les produits pathologiques où il est capsulé ; il est immobile et asporulé.

La capsule n'existe que chez les germes en phase « S » (smooth) dans les produits pathologiques. Elle est visible après coloration à l'encre de Chine ou au Gram.



### **- Caractères cultureux**

Le PNO est une bactérie fragile et exigeante dont la culture nécessite des milieux nutritifs riches comme par exemple la gélose au sang de cheval ou de mouton à 5%.

La température optimale de croissance est de 35-37°C ; et le pH optimal est de 7,5. L'incubation dans une atmosphère enrichie de 5-10 % de CO<sub>2</sub> favorise la culture.

C'est un germe aérobie-anaérobie facultatif, cependant certaines souches de pneumocoques, bien que supportant l'oxygène, s'adaptent mal aux conditions d'aérobiose lorsqu'elles sont hors de l'hôte.

Les colonies sont fines, transparentes, mesurent 0,5 à 1 mm de diamètre. Elles sont de type S. Cet aspect est caractéristique des formes capsulées. Une hémolyse de type alpha (verdissement) se développe autour des colonies sur gélose au sang frais.

### **- Caractères biochimiques**

Le germe se caractérise par une absence de production de catalase et d'oxydase, ce qui induit une accumulation d'eau oxygénée responsable en partie de son autolyse.

Il est sensible à l'optochine, ce qui le différencie des autres streptocoques et est lysé par les sels biliaires. Il est en outre résistant à la bacitracine.

## **- Caractères antigéniques**

### **• Antigène K**

*S. pneumoniae* possède un antigène capsulaire de nature polysidique. Cet antigène spécifique de type, non toxique, conditionne la virulence, en s'opposant à la phagocytose. Il est constitué par des glucides polymérisés, différents suivant le type, qui forment un gel hydrophile à la surface de la bactérie. Les formes rugueuses (forme R) de *S. pneumoniae* ne possèdent pas de capsule. Plus de 90 sérotypes de *S. pneumoniae* sont reconnus à l'heure actuelle.

En raison du très grand nombre de types sérologiques existants, on utilise des pools de sérums (neuf pools) et un sérum monovalent de type III. Ainsi le sérotypage peut être fait par le phénomène de Quellung ou test de gonflement de la capsule (test de Neufeld).

Par ailleurs l'antigène K a permis la mise au point d'un coffret d'agglutination constitué par des anticorps fixés à la surface des particules de latex (test au latex). Ceci a rendu possible le diagnostic rapide d'infections à pneumocoque.

Une application médicale de la capsule du pneumocoque est son utilisation comme vaccin. Ces vaccins protègent contre les sérotypes invasifs qui provoquent les symptômes les plus graves.

- **Autres antigènes**

- ❖ *La protéine A de surface*

Elle est retrouvée chez tous les pneumocoques et est spécifique d'espèce. Sa structure est similaire à celle de l'antigène somatique des streptocoques (protéine M ). Elle s'oppose également à la phagocytose.

- ❖ *Acides téchoïques, Polyoside C :*

- **Substances élaborées**

- **Pneumolysine**

Il s'agit d'une hémolysine intracellulaire libérée par autolyse et diffusible dans les milieux de culture. Elle est à l'origine de l'hémolyse de type alpha observée avec la majorité des souches de pneumocoques sur gélose au sang. Elle est cytotoxique et détruit les cellules épithéliales. Chez les animaux de laboratoire la pneumolysine provoque de la nécrose, du purpura et des phénomènes de thrombose.

Elle diminue les mouvements des cils bronchiques et l'activité bactéricide des polynucléaires

- **Autolysine**

Elle entraîne la lyse du pneumocoque lui-même et la libération des facteurs de virulence tels que la pneumolysine.

### **- Sensibilité aux antibiotiques [5,31,32,42,49]**

Les pneumocoques étaient encore récemment réputés sensibles à tous les antibiotiques sauf les aminosides (résistance naturelle) et on recommandait la pénicilline, l'ampicilline, ou le cotrimoxazole pour traiter les pneumococcies.

Depuis 1977 toutefois, en diverses régions de l'Europe et du monde, des pneumocoques résistants à la pénicilline ont été isolés. En France de telles souches sont restées rares jusqu'en 1987 mais leur fréquence a augmenté jusqu'à atteindre 40% et plus selon les régions. Cette résistance est due à une acquisition de nouvelles Protéines Liant la Pénicilline (PLP). Elle intéresse la plupart des bêtalactamines. Par ailleurs la résistance du PNO s'étend souvent aux tétracyclines, au cotrimoxazole, aux macrolides et au chloramphénicol.

Actuellement, les bêtalactamines sont efficaces sur les souches sensibles mais elles ne peuvent être utilisées contre les pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) qu'après vérification de la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui doit être inférieure à 1mg/l pour l'amoxicilline, 0,5 pour la C3G. La vancomycine demeure très active sur le PNO.

### **- Propriétés physico-chimiques**

*S. pneumoniae* est un germe très sensible à la chaleur (tué en 10 minutes à 52-55°C), au froid, à l'oxydation et à l'acidité. Il perd rapidement sa virulence au cours des repiquages. Il est résistant à la congélation et à la lyophilisation.

Les souches sont très souvent perdues lors des repiquages à cause de l'autolysine et du froid.

#### **1.2.4. Epidémiologie [5,6,7,8,16,31,37,38,42]**

L'homme est le réservoir naturel du pneumocoque. Cette bactérie commensale colonise la muqueuse du rhinopharynx dès les premiers jours de la vie. Le taux de portage atteint son maximum vers l'âge de 2 à 3 ans, en particulier en saison froide et chez les enfants vivant en collectivité, où près de 50% d'enfants peuvent être colonisés.

Les enfants représentent donc le réservoir principal pour la dissémination du PNO qui se fait par voie aérienne, habituellement par le biais de gouttelettes de Pflügge.

Ce *coccus* à Gram positif est généralement non pathogène ; toutefois, sous certaines conditions, il provoque des pathologies graves, parfois mortelles. Les souches de sérotypes **6,9,14,19,23** sont plus fréquemment retrouvées à l'état de portage . Elles sont le plus souvent observées dans des pathologies dites de voisinage (comme les otites) chez l'enfant ou chez l'adulte immunodéprimé.

Par contre, les souches de sérotype **1,3,4,5,7,8,11,15 et 18 dites « invasives »**, sont retrouvées dans le cas des infections systémiques et pulmonaires. Elles sont plus exceptionnellement retrouvées à l'état de portage.

Au Sénégal les études menées sur les sérotypes de pneumocoques ont donné les résultats suivants :

- lors des méningites les sérotypes souvent isolés sont : **1, 2, 3, 4, 5, 8, 12F.**
- lors d'enquêtes sur les souches colonisant le rhinopharynx, les sérotypes retrouvés sont : **6, 14, 19F et 23F.**

La prévalence des infections sévères est plus élevée chez les enfants de moins de 2 ans, les vieillards et les personnes immunodéficientes(10%) que dans le reste de la population(0,05%).

#### **1.2.5. Pouvoir pathogène naturel [11, 16, 59]**

Le pneumocoque joue chez l'homme un rôle important et il est responsable de syndromes cliniques très variés :

- méningites, septicémies, infections respiratoires graves (pneumonie franche aiguë, broncho-pneumonies, pleurésies, œdème pulmonaire etc...)
- otite moyenne aiguë (OMA), sinusite, angine
- infections osseuses etc...

#### **1.2.6. Diagnostic bactériologique [1,3,17,28,41]**

##### **\* Diagnostic classique**

###### **• Prélèvements**

La recherche du pneumocoque se fait dans les produits pathologiques comme le LCR, le sang, les pus, les prélèvements rhinopharyngés...

- **Examen microscopique**

L'examen direct, en particulier dans les prélèvements monomicrobiens est très évocateur du diagnostic car la morphologie en diplocoques capsulés est très caractéristique.

L'examen après coloration permet de confirmer le Gram positif des diplocoques observés à l'état frais.

- **Isolement**

On utilise des milieux d'enrichissement tels que le bouillon cœur-cerveille, le bouillon de Todd-Hewitt.

L'isolement se fait sur des milieux sélectifs : gélose au sang additionné d'acide nalidixique ou de gentamicine. La base utilisée pour les milieux sélectifs est la gélose Mueller-Hinton ou gélose Columbia, additionnée de 5% de sang frais défibriné de cheval, mouton ou lapin.

- **Identification**

La culture sur gélose au sang donne naissance à des petites colonies entourées d'une zone d'hémolyse alpha.

L'identification des pneumocoques repose sur le fait qu'ils sont des germes aéro-anaérobies, à métabolisme fermentaire et ne possèdent pas de catalase. Ils sont sensibles à l'optochine et sont lysés par les sels biliaires (test de Neufeld). Le diagnostic est certifié par le sérotypage capsulaire chaque fois que possible.

- **Antibiogramme**

C'est l'aboutissement du diagnostic classique. En routine, les antibiotiques sont testés selon la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le choix des antibiotiques comporte obligatoirement la pénicilline G, l'amoxicilline, les C3G et la vancomycine.

- \* **Diagnostic rapide**

- L'identification d'espèce est basée sur la recherche des antigènes capsulaires dans les produits pathologiques pour établir le diagnostic rapide avec des particules de latex sensibilisées par des anticorps anti-capsules du PNO.
- L'identification du type sérologique doit être faite immédiatement après l'isolement du germe pour éviter la dissociation du type S en R. Elle sera réalisée par le test de gonflement de la capsule. On utilise pour cela les neuf pools des principaux sérums, l'antisérum monovalent du type III et différents sérums monovalents.

#### **1.2.7. Eléments de thérapeutique [12,19,40,49,54,57]**

- **Traitement curatif**

Jusqu'à une date récente (moins de 10 ans), le traitement d'une pneumococcie était à base de bêtalactamines et, en cas d'allergie, le traitement substitutif utilisait les macrolides. Depuis l'avènement



des souches de pneumocoques à sensibilité diminuée à la pénicilline, l'attitude thérapeutique a radicalement changé, du moins dans les pays européens et certains pays africains.

En absence d'un test de sensibilité de la souche à l'oxacilline, le traitement de première intention fait appel actuellement aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération.

Les autres molécules classiquement actives sur *S. pneumoniae* (macrolides, lincosamines) gardent encore leur indication dans le traitement des pneumococcies.

En cas d'échec, la vancomycine représente la molécule de dernier recours.

#### **- Prévention vaccinale**

A base d'antigènes capsulaires, les vaccins pneumococciques actuellement disponibles contiennent respectivement 23 et 7 valences. Leur composition repose sur les données épidémiologiques locales des pays fabricants. Le vaccin à 23 valences n'induit pas une immunisation efficace de l'enfant âgé de moins de 2 ans; par contre celui à 7 valences est immunogène à cet âge grâce au couplage de l'antigène à une protéine (vaccin conjugué).

## **1.3. *Neisseria meningitidis***

### **1.3.1 Introduction**

C'est un diplocoque à Gram négatif, capsulé et aérobie stricte.

Il représente la cause d'épidémies meurtrières de méningites cérébro-spinales en Afrique. La vaccination antiméningococcique constitue l'arme prophylactique idéale à opposer à ces épidémies.

*N. meningitidis* est couramment appelé le méningocoque (MGO).

### **1.3.2 Classification [1,17,32,49]**

*N. meningitidis* appartient à:

- famille : *Neisseriaceae*
- genre : *Neisseria*
- espèce : *Neisseria meningitidis*
- sérogroupes: A, B, C, W135, Y, Z, T, 29<sup>E</sup>, H, I, K, L.

### **1.3.3. Caractères bactériologiques [1,3,17,29,32,49,60]**

#### **- Caractères morphologiques**

Ce sont des diplocoques à Gram (-), arrondis sur une face et aplatis sur l'autre donnant l'aspect d'un « grain de café » ou d'un rein. Ils sont capsulés, immobiles, asporulés. On les retrouve isolés ou en petits amas dans les produits, pathologiques où ils sont intra et extraleucocytaires.

### **- Caractères cultureux**

C'est une bactérie exigeante, fragile nécessitant des milieux enrichis : gélose au sang cuit + facteurs de croissance (complexes vitaminiques). Le milieu est rendu sélectif par addition de Vancomycine, Colistine, et de Nystatine (VCN).

Elle est aérobie stricte et sa culture est favorisée par une atmosphère humide, enrichie en CO<sub>2</sub> et une température optimale de +36°C.

Les colonies sont fines, de type « S », parfois « M » (muqueuses) et grisâtres.

### **- Caractères biochimiques**

*N. meningitidis* produit de la catalase, de l'oxydase et de la  $\beta$ -galactosidase.

Il fermente sans production de gaz le glucose et le maltose ; la fermentation du fructose et du mannitol étant négative.

### **- Caractères antigéniques**

On distingue:

- antigènes de capsule (AgK). De nature polysidique, il constitue le support du sérogroupage de *N. meningitidis*. Ainsi sont décrits les sérogroupes : A, B, C, W135, Y, Z, T, 29<sup>E</sup>, H, I, K, L. Par ailleurs ces AgK sont:

- utilisés comme vaccin antiméningococcique
- recherchés dans les produits pathologiques (LCR, sang, urines) lors des tests de diagnostic rapide (latex, électro-immunodiffusion).
- antigènes de la membrane externe. De nature protéique ou lipopolysaccharidique, ils jouent un rôle majeur en taxonomie, notamment dans la détermination des sérotypes et immunotypes des souches de MGO. On dénombre :
  - 5 protéines majeures à la base du typage et du sous typage
  - des lipo-oligo-polysaccharides à la base de l'immunotypage
  - des lipo-polysaccharides (LPS) représentant les endotoxines responsables du choc toxique et de la coagulopathie.
- des Antigènes de pili (fimbriae) permettant l'adhérence du MGO aux cellules de l'organisme.

#### **- Sensibilité aux antibiotiques**

Le méningocoque reste sensible à de nombreux antibiotiques qui, pour être efficaces dans le traitement d'une MP, doivent traverser la barrière méningée.

Les antibiotiques régulièrement actifs sont : le chloramphénicol, la pénicilline, l'ampicilline et les C3G. Par contre les sulfamides sont actuellement inactifs sur la majorité des isolats cliniques au Sénégal.

### **- Propriétés physico-chimiques**

Germe très fragile, aussi bien dans les cultures que dans les produits pathologiques, il est rapidement tué par la chaleur, la lumière, la dessiccation et les antiseptiques. Sensible au froid, il se conserve bien par congélation et par lyophilisation.

#### **1.3.4. Epidémiologie [32,43,49,60]**

Le méningocoque est une bactérie strictement humaine avec un portage fréquent au niveau du rhinopharynx. Ce portage est transitoire et n'excède pas en moyenne plus de deux semaines. Il concerne 5 à 30% des individus, mais le portage peut atteindre presque 100% de la population lors d'une épidémie. Les facteurs favorisant le portage sont la promiscuité et le sous-développement.

La transmission de *Neisseria meningitidis* se fait par l'intermédiaire de gouttelettes de mucus nasopharyngé.

Les sérogroupes A,B,C sont responsables de plus de 90% des cas de méningococcies. La méningite cérébro-spinale est la forme clinique la plus fréquente des infections à *Neisseria meningitidis* et elle diffère des autres méningites bactériennes par son potentiel épidémique. C'est une maladie du jeune âge survenant avant 4 ans et entre 15 et 24 ans. Les plus grandes épidémies surviennent dans une région de l'Afrique subsaharienne qui s'étend de l'Ethiopie à l'Est jusqu'à la Gambie à l'Ouest, désignée par l'expression « ceinture de Lapeysonnie ». Ces épidémies sont dues aux sérogroupes A, C et depuis 2002, au W135 (Burkina-Faso). Au Sénégal, *N. meningitidis* représente la

troisième cause de méningite purulente pédiatrique en dehors des épidémies qui sont surtout observées durant les mois de Décembre à Mars. La région de Kaolack est généralement la plus touchée.

#### **1.3.5. Pouvoir pathogène naturel [32,49,60]**

Les méningocoques débutent par une infection des voies respiratoires supérieures qui peut se compliquer de septicémie avec, éventuellement, méningite.

*N. meningitidis* provoque même en l'absence de septicémie, des pneumonies lobaires, des broncho-pneumonies, des péricardites et des ostéomyélites.

#### **1.3.6. Diagnostic bactériologique [1,3,17,32,49]**

##### **\* Diagnostic classique**

###### **• Prélèvements**

Les méningocoques sont isolés habituellement à partir du LCR, du sang et de la gorge.

###### **• Examen microscopique**

Après coloration par la méthode de Gram, la présence de cocci à Gram (-) réniformes, intra ou extracellulaires est un excellent signe d'infection à MGO.

###### **• Isolement**

La culture est indispensable et doit être systématiquement pratiquée. Elle est réalisée sur des

milieux au sang cuit ou frais contenant des facteurs de croissance. On y additionne des antibiotiques en cas de produits pathologiques polymicrobiens.

L'incubation se fait à +36°C sous CO<sub>2</sub> et en atmosphère humide.

#### ● Identification

Le diagnostic d'espèce repose sur les caractères morphologiques, culturels, biochimiques (fermentation du glucose, du maltose et le test à l'oxydase). Il est confirmé par le sérogroupage et l'immunotypage.

#### ● Antibiogramme

Il est réalisé par la méthode de diffusion des antibiotiques en gélose. Les principaux antibiotiques à tester en vue de traiter une MP sont : les bêtalactamines, le chloramphénicol...

#### \* Diagnostic rapide

- Le test au latex permet de détecter la présence d'antigènes solubles dans le LCR, le sérum etc...
- Par ailleurs on peut procéder au test de gonflement de la capsule : elle doit être pratiquée sur le méningocoque fraîchement isolé. On utilise la technique simple et rapide sur lame : une öse de culture est mélangée avec une goutte de sérum antiméningococcique et on ajoute une öse d'une

solution de bleu de méthylène. On examine entre lame et lamelle et la positivité est marquée par la présence d'une auréole claire autour du germe.

#### **1.3.7. Eléments de thérapeutique :**

##### **\* Traitement curatif**

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande en zone rurale africaine, en cas d'épidémie, d'injecter par voie intramusculaire (IM) une dose unique de chloramphénicol, suspension huileuse. Le méningocoque étant très sensible aux bêtalactamines, ces antibiotiques représentent les molécules de choix du traitement des méningites car traversent assez bien la barrière méningée inflammée.

##### **\* Prévention**

La chimioprophylaxie ne doit être effectuée que dans une collectivité où des cas de méningites sont apparus. On utilise dans ce cas des macrolides (spiramycine).

Il faut proscrire les gouttes nasales de suspension huileuse en guise d'antiseptiques.

La prophylaxie vaccinale repose sur l'injection des vaccins constitués de fractions polysaccharides de capsule purifiées très antigéniques. Les vaccins disponibles actuellement sont dirigés contre *N. meningitidis* A, C, W135 et Y, mais on ne peut les administrer qu'à un enfant de plus de 2 ans. Cependant il existe un vaccin conjugué qui est constitué de fractions polysidiques associées à une protéine (anatoxine tétanique) dirigé contre le séro groupe C. Ce vaccin est efficace chez l'enfant de moins de 2 ans.



## **1.4. *Streptococcus agalactiae***

### **1.4.1. Introduction**

Ce sont des cocci à Gram positifs, groupés en chaînettes longues. Encore appelés streptocoques du groupe B(SGB), ils constituent la première cause de méningite néonatale au CHNEAR de Dakar.

### **1.4.2. Classification [17,32,49]**

*Streptococcus agalactiae* répond à la classification suivante :

- famille : *Streptococcaceae*
- genre : *Streptococcus*
- espèce : *Streptococcus agalactiae*

### **1.4.3. Caractères bactériologiques [17,32,49,56]**

#### **- Caractères morphologiques**

*S. agalactiae* se présente sous forme de:

- cocci Gram positif, sphériques ou ovoïdes
- regroupés en chaînettes de 6 à 8 éléments ou plus
- immobiles, asporulés, capsulés dans les produits pathologiques.

#### **- Caractères cultureux**

Moins fragile que les autres streptocoques et peu exigeant, le SGB cultive sur gélose au sang frais ou cuit.

L'incubation de milieux se fait en atmosphère humide, aérobie et en présence de CO<sub>2</sub>. C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative.

Sur gélose au sang, les colonies sont fines, grisâtres, de type S et entourées d'une hémolyse de type bêta.

#### **- Caractères biochimiques**

Le SGB est dépourvu d'enzymes respiratoires comme la catalase et l'oxydase.

Les protides sont métabolisés par diverses enzymes : phosphatase alcaline, arginine dihydrolase... Le SGB hydrolyse également l'hippurate, caractère important pour son identification.

Le ribose, le lactose et l'amidon sont fermentés avec production d'acide ; mais pas le mannitol, le sorbitol, le raffinose, le glycogène, la L-arabinose et l'inuline.

La réaction de Voges-Proskauer (VP) est positive.

C'est un germe résistant à l'optochine et à la bacitracine et non lysé par les sels biliaires.

#### **- Caractères antigéniques**

Les principaux antigènes sont:

- Le polyside C qui permet le sérogroupage
- L'antigène K (Ag K) qui est à la base du sérotypage et constitue le facteur de virulence de la bactérie. Il permet de définir 7 sérotypes: Ia, Ib, II, III, IV, V et VI

- Autres antigènes:
  - ❖ Protéines de surface
  - ❖ Acides teichoïques

#### - Substances élaborées

- **Facteur CAMP** (initiales du nom des auteurs qui ont décrit le test de mise en évidence en 1944 : Christie, Atkins et Munch et Petersen). C'est une protéine extracellulaire thermolabile appelée: « CAMP factor ». Il lyse les hématies de mouton prétraitées avec de l'hémolysine  $\beta$ -staphylococcique.

- **Neuraminidase** : produite par toutes les souches de *S. agalactiae* , elle est retrouvée en plus grand nombre chez les souches de sérotype III isolées de malades, particulièrement les nourrissons. Son rôle dans la virulence est discutée.

- **Hémolysine** : elle est responsable de l'hémolyse  $\beta$  entourant les colonies.

- **Une toxine** : produite par les souches du sérotype III et apparentée à l'endotoxine des bactéries à Gram négatif.

#### - Sensibilité aux antibiotiques [56]

Les streptocoques B sont sensibles aux bêtalactamines, notamment à la pénicilline G, à l'ampicilline, aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> (à l'exception de la Céfoxitime) et 3<sup>ème</sup> génération. Des cas de souches

résistantes aux cyclines sont fréquemment isolées. Les autres antibiotiques (chloramphénicol, macrolides, cotrimoxazole) sont généralement actifs.

#### **1.4.4. Epidémiologie [30,32,49]**

Les SGB sont des hôtes normaux du tube digestif, des voies respiratoires supérieures et des voies génitales (surtout féminines). Ils sont responsables de mammite chez les bovidés qui constituent le réservoir du germe. Le portage cutané et pharyngé est possible.

La transmission est directe à partir des lésions ou lors des rapports sexuels et indirecte par des produits animaux contaminés (lait cru, viande). La contamination mère-enfant est possible et varie de 20 à 72% selon les auteurs.

Il existe un fond endémique qui donne lieu à des cas sporadiques d'infections à SGB. Au CHU de Dakar le SGB constitue la première cause de la méningite néonatale.

#### **1.4.5. Pouvoir pathogène naturel [30,32,49]**

*S. agalactiae* est responsable chez l'homme adulte d'infection urinaire et d'endométrite, le nouveau-né présente des tableaux cliniques à type de : méningite, septicémie ou mixte.

Chez l'accouchée récente, les SGB provoquent des bactériémies avec endométrite ou suppuration de la plaie en cas de césarienne.

Les sujets immunodéprimés font des infections opportunistes (pneumopathies, arthrites, méningites, cellulites, endocardites).

#### **1.4.6. Diagnostic bactériologique [17,32,35,41,49]**

##### **\* Diagnostic classique**

###### **• Prélèvements**

Le SGB est recherché dans les produits pathologiques suivants : LCR, sang, pus, liquide amniotique, liquide gastrique, sécrétions génitales, urines...

###### **• Examen microscopique**

L'examen à l'état frais permet d'apprécier :

- la présence de cocci en chaînettes évoquant les streptocoques ou les entérocoques,
- la qualité de la flore, mono ou polymicrobienne
- la cytologie quantitative(leucocytes)

L'examen après coloration de Gram confirmera le Gram positif des cocci en chaînettes observés à l'état frais. Il conditionne l'utilisation des milieux sélectifs en cas de flore polymicrobienne.

###### **• Isolement**

On isole la bactérie sur gélose au sang additionné d'acide nalidixique ou de gentamicine.

Les colonies apparaissent après 24 heures d'incubation en atmosphère enrichie de 10% de CO<sub>2</sub>. Elles se présentent sous la forme de colonies rondes, transparentes, d'aspect grisâtre sur gélose au sang.

- **Identification**

Elle repose sur l'étude des caractères bactériologiques dont sont essentiels :

- l'hydrolyse de l'hippurate de sodium

Dans un tube à hémolyse, une suspension bactérienne opalescente dans 0,4 ml d'eau distillée contenant 1% d'hippurate est réalisée et incubée 24 heures à +37°C. Après adjonction de 0,2 ml de réactif à la ninhydrine, une nouvelle incubation de 10 minutes à +37°C est effectuée.

Une réaction positive se caractérise par l'apparition d'une coloration violette dans la partie supérieure du tube.

- la production du « CAMP factor »

On ensemence en stries sur une gélose au sang frais de mouton (5%) la souche de streptocoque à identifier. Ces stries sont réalisées perpendiculairement (mais sans contact) à une strie de *Staphylococcus aureus*.

Le résultat est positif lorsque la zone d'hémolyse à la jonction des deux stries s'élargit.

La confirmation de l'identification repose en définitive sur la mise en évidence de l'antigène B, caractéristique du groupe. Elle se fait à l'aide d'antisérum spécifique.

- **Antibiogramme**

Le choix des antibiotiques à tester dépend de la sensibilité naturelle du germe. Il comporte la pénicilline G, l'amoxicilline, la lincomycine, les tétracyclines, le chloramphénicol, la rifampicine.

- \* **Diagnostic rapide**

La recherche d'antigènes solubles dans les produits pathologiques tel que le LCR se fait à l'aide de particules de latex sensibilisées par l'antisérum spécifique de *S. agalactiae*.

#### **1.4.7. Eléments de thérapeutique [32,49]**

- **Traitement curatif**

Les molécules recommandées pour le traitement des infections SGB sont les bêtalactamines associées à la gentamicine éventuellement.

- **Prévention**

On préconise une antibioprophylaxie par pénicilline ou ampicilline au cours de l'accouchement en cas de rupture prématurée des membranes ou quand on a la notion d'un portage maternel.

Un vaccin polyvalent utilisant les polysides capsulaires est à l'étude.

#### **1.5. Autres bactéries responsables de MBP au CHNEAR**

- *Escherichia coli*: c'est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*

- *Staphylococcus aureus*: coccus à Gram positif appartenant à la famille des *Micrococcaceae*.



## **DEUXIEME PARTIE**

### **ETUDE EXPERIMENTALE**

# **1. CADRE DE L'ETUDE**

Nos recherches ont été menées au Centre Hospitalier National d'Enfants Albert Royer (CNHEAR), situé au Centre Hospitalier de Fann à Dakar, SENEGAL.

## **1.1. Cet hôpital pédiatrique national comporte :**

- 4 pavillons d'hospitalisation :
  - pavillon K qui est le service des soins intensifs
  - pavillon N réservé pour les nouveau-nés(0 à 3 mois)
  - pavillon M, pour les enfants de 3 mois à 3 ans
  - pavillon O, pour les enfants de 3 ans à 15 ans
- un service d'accueil ou Clinique Externe(CE) : qui est le centre du tri et des consultations pédiatriques et de spécialités : Stomatologie, Ophtalmologie.
- services annexes : ils sont ouverts aux adultes et comprennent :
  - le Laboratoire d'analyses médicales (Biologie et Bactériologie)
  - la Radiologie
- services administratifs

## **1.2. Période de l'étude :**

Elle s'est déroulée sur six mois c'est-à-dire du 28 Octobre au 31 Mai 2003.



## **2. PATIENTS**

### **2.1. Population d'étude**

Elle est constituée par les enfants âgés de 0 à 15 ans consultants externes ou hospitalisés dans les différents pavillons d'hospitalisation au CHNEAR.

### **2.2. Critères d'inclusion**

Nous avons recruté 10 enfants par semaine, sans distinction d'âge, de sexe ou de motif de consultation ou d'hospitalisation (Cependant ce procédé n'a pas été toujours respecté tout au long de la durée d'étude).

Parmi eux, 5 étaient recrutés le lundi et les 5 autres le mercredi pour des raisons d'ordre pratique. Le choix de ces enfants se fait après consentement éclairé des parents et était aléatoire.

### **2.3. Critères d'exclusion**

Ce sont :

- le refus du malade ou des parents
- la détresse vitale.

### **3. MATERIELS**

#### **3.1. Matériels de prélèvement**

Nous avons utilisé :

- des tampons de coton hydrophile stérile pour nettoyer les narines
- des sondes stériles de type alimentation pédiatrique et des seringues stériles
- des tubes stériles
- de l'eau distillée stérile

#### **3.2. Matériels de laboratoire**

- **Pour l'isolement des germes**

Les milieux de culture suivants ont étéensemencés :

- Bouillon cœur cervelle (BCC)
- Gélose Mueller-Hinton(MH) additionnée de :
  - . sang de cheval (frais ou cuit)
  - . antibiotiques : Gentamicine ou Bacitracine ou un mélange de Vancomycine-Colistine-Nystatine (VCN)

Les géloses au sang cuit étaient enrichies de mélange vitaminique.

- **Pour l'identification des germes**

Nous avons utilisé :

- des disques d'oxacilline, d'optochine, de facteurs de croissance (X, V et X+V)
- des galeries API NH (API : Appareillage Pour Identification

NH :*Neisseria-Haemophilus*)

- des sérums agglutinant anti-pneumocoque, *hæmophilus b*, meningocoque et streptocoque B

- **Pour l'antibiogramme**

- \* Antibiogramme standard

- gélose MH additionnée de sang cuit(MHSC)
- disques d'antibiotique variables selon les germes :

.oxacilline 5ug	OX <sub>5</sub>	. gentamicine	GM
.tétracycline	TE	. érythromycine	E
.ampicilline	AMP	. pénicilline	P
.chloramphénicol	C		

- \* Antibiogramme par la méthode de dilution en gélose

- pénicilline (G ) 1 million UI
- amoxicilline 1g
- ceftriaxone 500mg

Ces antibiotiques étaient sous forme lyophilisée.

Les milieux et réactifs proviennent du Laboratoire de « bio Mérieux ».

Les souches bactériennes isolées et identifiées ont été conservées en cryotubes(NUNC) dans du BCC additionné de 10% de glycérol.

### **3.3. Fiche d'enquête**

Une fiche d'enquête a été remplie pour chaque malade (voir annexe). Elle comportait des données administratives et cliniques.

## 4. METHODES

Chaque lundi et Mercredi, nous nous rendions à la clinique externe et/ou dans les pavillons d'hospitalisation pour recruter les enfants à inclure dans l'étude.

### 4.1. Prélèvements

- La longueur de la sonde utilisée pour atteindre le cavum correspond approximativement à la distance qui va du lobe inférieur de l'oreille au milieu du menton. Pour chaque malade, nous avons découpé la sonde en fonction de cette donnée.

- La sonde ainsi préparée est ensuite montée sur une seringue stérile contenant 1 ml d'eau physiologique stérile.

- Après avoir nettoyé les narines avec un tampon de coton hydrophile stérile, nous avons introduit la sonde dans le nasopharynx du malade. L'eau physiologique est ensuite injectée puis réaspirée et transférée dans un tube stérile.

L'acheminement des sécrétions ainsi recueillies est immédiat au Laboratoire, sans délai d'attente ou de conservation.



## **4.2. Technologie au Laboratoire**

### **4.2.1. Traitement des échantillons**

- L'aspect macroscopique des sécrétions est noté : purulent, muqueux...

- Un BCC est immédiatementensemencé et incubé à +37°C pendant 60 minutes : c'est l'étape du pré-enrichissement.

### **4.2.2. L'isolement des germes**

Il a été fait sur les différents milieux gélosés, selon la technique des quadrants.

Une goutte du BCC pré-enrichi est déposée puis étalée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.

L'incubation de ces géloses se fait à +37°C pendant 24H, en atmosphère humidifiée, aérobie, enrichie de 10% de gaz carbonique.

Ainsi, pour chaque échantillon, nous avonsensemencé :

- MHSC + Gentamicine : pour l'isolement des pneumocoques
- MHSC + VCN + facteurs de croissance : pour l'isolement des méningocoques
- MHSC + Bacitracine + facteurs de croissance : pour l'isolement de Hib

#### 4.2.3. L'identification des germes

Elle a été faite selon les règles classiques en usage dans un Laboratoire de Bactériologie.

- d'abord l'aspect des colonies a été noté :

- . fines, lisses, transparentes ou muqueuses en gouttes de rosée(PNO)

- . fines, lisses, rondes, bombées ou encore muqueuses, volumineuses avec tendance à s'étaler (Hib)

- . petites, arrondies, lisses (MGO)

- ensuite un examen microscopique du frottis confectionné à partir d'une colonie et coloré selon la technique de Gram, était pratiqué afin de préciser la morphologie, le mode de groupement et le Gram du germe suspecté.

- enfin, une galerie d'identification était ensemencée suivant le germe suspecté, ainsi, nous avons réalisé :

##### - le test de sensibilité à l'optochine (PNO)

Technique : une boîte de gélose au sang est inoculée avec le germe isolé selon la technique de réalisation de l'antibiogramme. On dépose ensuite un disque imprégné de 5 mg d'optochine.

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

Résultats : Pour les pneumocoques, on observe une zone d'inhibition supérieure à 15 mm. Les autres streptocoques ne sont pas inhibés.

- la mise en évidence de l'exigence en facteurs X+V (*Hib*).

La souche à identifier est repiquée sur une gélose MH simple. Les disques de facteurs X, V, X+V sont ensuite déposés. La lecture est faite après une incubation de 24 heures à +37°C.

Lecture :

. Culture autour du disque de facteurs X+V uniquement : la souche isolée est *Hib*

. Culture autour du disque de facteur X et X+V : *H. parainfluenzae*

- l'API NH (*N. meningitidis* , *H. influenzae*)

Nous avons eu recours à cette méthode d'identification lorsque les résultats obtenus par la mise en évidence de l'exigence en facteurs X et/OU V n'était pas nette.

Ainsi une suspension en eau physiologique de la souche à 4 Mac Farland de la souche a été réalisée. Les mini-galeries API NH ont été alors ensemencées avec cette suspension bactérienne.

Après une incubation de 2 heures les réactions se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture et l'identification se font à l'aide du tableau fourni par le fabricant.

Au bout de 48-72 heures la bactérie obtenue en souche pure est identifiée par ses caractères morphologiques et biochimiques, subit une série d'agglutination afin de préciser son séro groupe et/ou son sérotype.

#### **- Technique d'agglutination**

Une colonie du germe isolé en culture pure est mise en suspension dans une goutte de sérum anti-pneumocoque, anti-SGB ou anti-*Hib*. Le sérum est constitué par des particules de latex sensibilisées avec les antisérums spécifiques.

La réaction négative se traduit par une suspension homogène et celle positive par une agglutination en moins de 2 minutes.

L'identification complète de toutes les souches a été faite ici à Dakar au CHNEAR. Cependant, pour le sérotypage, les isolats de *S. pneumoniae* ont été adressés au Centre National de Référence des Pneumocoques en France.

#### **4.2.4. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques :**

##### **- l'antibiogramme standard**

- Il utilise la méthode de diffusion de l'antibiotique en milieu gélosé. Les antibiotiques testés varient selon les germes(**tableau I**)

**Tableau I : Antibiotiques testés sur les 3 principaux germes**

<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae b</i>	<i>N. meningitidis</i>
Oxacilline	Amoxicilline	Penicilline G
Amoxicilline	Chloramphénicol	Ceftriaxone
Ceftriaxone	Ceftriaxone	Chloramphénicol
Vancomycine	Gentamicine	Erythromycine
	Tétracycline	Gentamicine
		Amoxicilline

- Préparation des milieux pour l'antibiogramme

Une gélose MH enrichie ou non au sang cuit est coulée en boîte de pétri de manière à obtenir une épaisseur de 4 mm.

- Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures, on prépare une suspension de 1 à 2 colonies dans 10 ml d'eau physiologique stérile. On compare l'opacité obtenue à celle du tube 0,5 de la gamme de Mac Farland (concentration de  $10^6$  bactéries/ml ou  $10^6$  UFC/ml) et on ajuste si besoin est. L'inoculum ainsi réalisé est dilué au  $1/10^e$ .

- L'ensemencement se fait avec un écouvillon. Les boîtes sont séchées pendant 10-15 minutes à température ambiante. Les disques d'AB, selon le germe isolé, sont appliqués à l'aide d'une pince.

- Les boîtes préalablement gardées pendant 30 minutes sur la paillasse (c'est la prédiffusion) sont mises en incubation pendant 18 à 24 heures à +37°C.

- La lecture est faite par la mesure des diamètres d'inhibition à l'aide d'une règle à coulisse. Ces diamètres sont ensuite interprétés en sensible(S), intermédiaire(I) ou résistant(R) selon les abaques fournis par le fabricant.

#### **- l'antibiogramme par la méthode de dilution**

Il a été réalisé sur les souches de pneumocoques qui, testées vis-à-vis d'un disque d'OX<sub>5</sub> par la méthode de diffusion, présentaient un diamètre d'inhibition inférieur à 26 mm : ce sont les pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP).

- Une solution mère des antibiotiques à tester (pénicilline, amoxicilline, ceftriaxone) est préparée puis diluée de façon à obtenir des concentrations finales (0,06mg/l et 1mg/l pour la P G; 0,05mg/l et 2mg/l pour l'AMX et la CRO) dans le milieu de culture qui est du MHSC [25].

#### **Préparation des solutions filles (SF)**

- Solution mère(SM) de la pénicilline G : 1 Million UI/5ml soit 0,6 g/5 ml (0,12 g/ml):

Pour obtenir des concentrations finales de 0,06 mg/l, nous avons pris respectivement 50 µl et 0,8 ml de la SM additionnée à la gélose en quantité suffisante pour (QSP) 100 ml de volume final.

- Solution mère de l'amoxicilline: 1 g/5 ml soit 0,2 g/ml

Les solutions finales de concentrations 0,05 mg/l et 2 mg/l ont été obtenues en ajoutant respectivement 250 µl et 1 ml de SM à une quantité suffisante de gélose pour obtenir 100 ml de volume final.

- Solution mère de la ceftriaxone: 250 mg/2 ml soit 125 mg/ml

Les SF ont été obtenues en ajoutant respectivement 400 µl et 1,2 ml de la SM à de la gélose en QSP 100 ml de volume final.

- L'inoculum est préparé comme dans la méthode de l'antibiogramme standard. Il est ensuiteensemencé puis les boîtes sont incubées à +37°C sous atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>.

- La lecture est effectuée après 18-24 heures d'incubation. On note la plus petite concentration d'antibiotique pour laquelle on n'a pas de culture visible à l'œil nu (CMI).

Les germes isolés sont ensuite conservés dans des cryotubes à -20°C.

## 5. RESULTATS

### 5.1. Population d'étude

#### 5.1.1. Nombre

Sur une période de 8 mois (Novembre 2002-Juin 2003) nous avons recruté 168 enfants pour la recherche au niveau du rhinopharynx des 3 principaux agents bactériens responsables de méningite bactérienne pédiatrique (MBP). Ces micro-organismes sont : *Haemophilus influenzae b*, *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria meningitidis*.

#### 5.1.2. Age et sexe

Ces 69 filles et 99 garçons âgés de 3 jours à 15 ans avaient, dans la majorité des cas (82,73%) au plus 5 ans (Tableau II).

Tableau II : Diagnostic à l'entrée et tranches d'âge des patients recrutés au CHNEAR

Age (mois)	Sexe		Diagnostic à l'entrée					ABpie	
	M	F	BPN	RHP	MPC	Rougeole	Autres	Oui	Non
0-3	9	9	1	1	0	0	17	11	7
3-6	10	4	2	0	0	0	9	7	7
6-12	17	7	5	5	4	4	10	13	11
12-24	33	19	18	7	10	6	19	28	24
24-36	10	9	2	0	0	1	15	6	13
36-60	8	4	4	2	0	0	12	1	11
>60	13	16	0	0	0	0	29	0	29

Légende : M = masculin F = féminin  
BPN = broncho-pneumopathie  
RHN = rhinopharyngite  
MPC = malnutrition protéino-calorique  
ABpie = antibiothérapie



### 5.1.3. Diagnostic à l'entrée

Les tableaux cliniques que présentaient les enfants consultant au Centre Hospitalier National d'enfants Albert Royer (CHNEAR) étaient variés ; ceux les plus souvent évoqués sont les infections respiratoires telles que les broncho-pneumopathies et les rhinopharyngites, la malnutrition protéino-calorique, la rougeole (**Tableau I**).

Nous avons également noté deux cas de méningite purulente.

Par ailleurs, 46 enfants vivant dans l'entourage immédiat d'un cas de méningite purulente à *N. meningitidis* ont fait l'objet d'une enquête à la recherche de portage de ce germe.

### 5.1.4. Notion d'hospitalisation / Malades externes

Le statut des enfants en fonction de l'hospitalisation est le suivant :

- soixante-dix-sept enfants avaient un état clinique grave ayant nécessité leur hospitalisation dans l'une des 4 unités du CHNEAR. Parmi eux :

- 3 ont été prélevés à l'entrée
- 49 pendant la première semaine d'hospitalisation
- 13 pendant la deuxième semaine

- 4 pendant la troisième et quatrième semaine et 8 après un mois.

- quatre-vingt-onze ont été suivis à titre externe par les pédiatres.

#### 5.1.5. Antibiothérapie préalable

Soixante-six patients (39,28%) avaient pris des antibiotiques durant les 7 jours ayant précédé leur inclusion dans l'étude [Tableau I]. La nature des molécules prises a pu être précisée pour 63 d'entre eux ; il s'agit de :

- |                |                                     |
|----------------|-------------------------------------|
| - Oxacilline   | - Spiramicine                       |
| - Ampicilline  | - Ceftriaxone                       |
| - Gentamicine  | - Cefatrizine                       |
| - Cefotaxime   | - Cotrimoxazole                     |
| - Cefadroxil   | - Amoxicilline + Acide clavulanique |
| - Amoxicilline |                                     |

#### 5.1.6. Statut vaccinal

Le statut vaccinal vis à vis de l'*H. influenzae b*, *S. pneumoniae* et de *N. meningitidis* a pu être précisé pour tous. Seuls deux garçons âgés respectivement de 20 mois et 3 ans, et deux filles âgées de 3 et 5 ans ont été vaccinés contre le méningocoque A et C.

### 5.1.7. Saison de recrutement

Le premier pic obtenu correspond aux mois frais de l'année (novembre et décembre) d'où la prédominance des infections respiratoires observées pendant cette période (**Figure 1**).

La courbe des pathologies baisse de décembre à février, puis amorce une réascension en avril, due essentiellement à la rougeole. Aussi, la **figure 1** montre une prééminence de la rougeole compliquée comme cause d'hospitalisation des enfants de notre série.

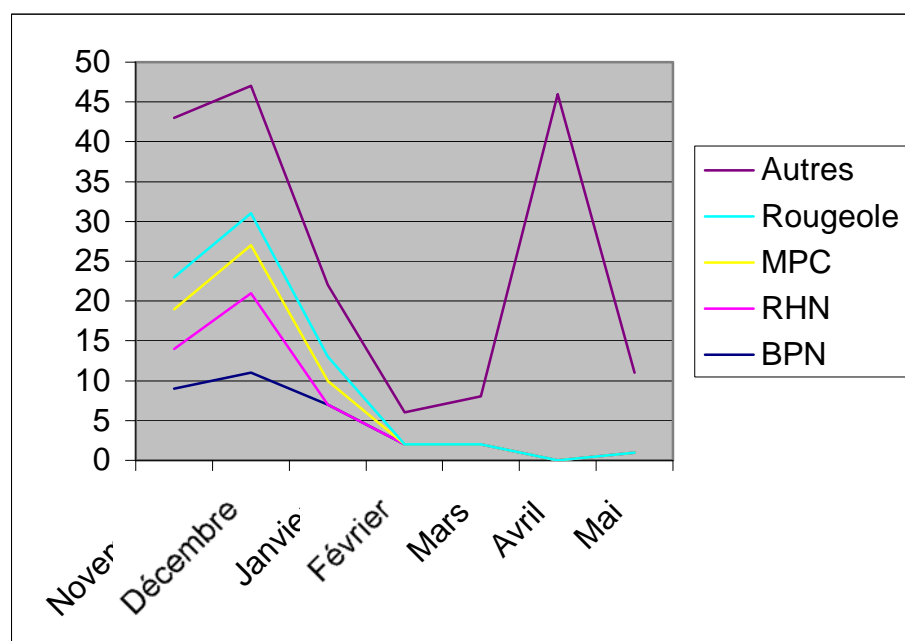


Figure 1 : Distribution des pathologies des patients inclus au CHNEAR selon le mois

#### 5.1.8. Répartition géographique

Les 46 malades chez qui nous avons isolé les différents germes venaient de Dakar, en majorité de Pikine, et des proches banlieues (**Tableau III**).

**Tableau III : Répartition des malades porteurs des germes selon le district médical d'origine**

Régions	Districts médicaux	Nombre de cas
<b>Dakar</b>	Dakar Nord	9
	Dakar Sud	1
	Dakar Centre	9
	Dakar Ouest	2
	Pikine	17
	Mbao	2
	Guédiawaye	2
<b>Diourbel</b>	Diourbel	1
<b>Thiès</b>	Mbour	2
<b>Matam</b>	Matam	1

#### 5.1.8. Répartition de ces différents germes suivant les autres produits pathologiques

En dehors des prélèvements rhinopharyngés et pendant la période d'étude, ces germes ont été aussi retrouvés dans les hémocultures, le LCR, et les prélèvements de pus et de liquides divers.

- En ce qui concerne les pneumocoques :
  - une souche a été isolée dans les hémocultures
  - trente dans le LCR

- Trois dans les prélèvements de pus et du liquide pleural

- *H. influenzae* a été retrouvé :

- vingt-trois fois dans le LCR mais il était absent dans les hémocultures et pus.

- Le méningocoque quant à lui, a été isolé trois fois (A, B, W<sub>135</sub>) dans le LCR mais les hémocultures et les pus en étaient exempts.

- Le streptocoque du groupe B a été retrouvé deux fois dans le LCR et une fois dans un prélèvement de liquide gastrique et ceci chez des nouveau-nés.

## 5.2. Bactéries isolées

### 5.2.1. Données globales

A partir des sécrétions naso-pharyngées de 46 enfants sur les 168, nous avons isolé et identifié 51 bactéries, agents étiologiques potentiels de MBP ou pouvant poser un diagnostic différentiel bactériologique d'agent de MBP (**Tableau IV**).

Tableau IV : Répartition des souches bactériennes isolées chez des patients au CHNEAR

Germes isolées	Nombre	Pourcentage
<i>S. pneumoniae</i>	38	74,50%
<i>H. influenzae b</i>	7	14%
<i>H. influenzae non b</i>	2	4%
<i>H. parainfluenzae</i>	2	4%
<i>N. meningitidis W<sub>135</sub></i>	2	4%

*S. pneumoniae* représente près des  $\frac{3}{4}$  des germes alors que *H. influenzae b* colonise moins du  $\frac{1}{4}$  (Figure 2).

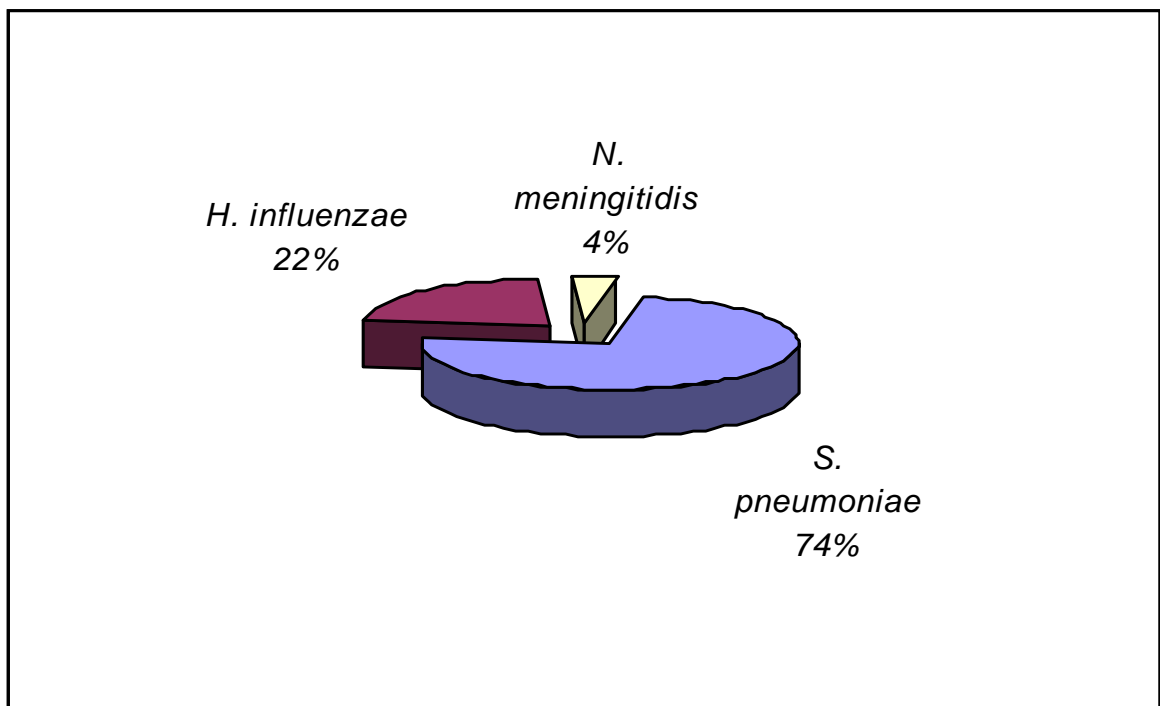


Figure 2 : Répartition des différentes souches isolées chez des patients au CHNEAR

Les deux souches de *N. meningitidis* W<sub>135</sub> proviennent du rhinopharynx d'enfants vivants en contact étroit avec un garçon de 11 ans hospitalisé au CHNEAR pour une MBP à *N. meningitidis* W<sub>135</sub>. La recherche du méningocoque a été négative au sein du reste de la population.

Parmi les 46 enfants hébergeant une bactérie, agent pathogène potentiel de MBP, certains sont colonisés par une seule de ces bactéries (90,19%), d'autres par deux (9,80%) (**Tableau V**).

**Tableau V : Fréquence de portage des différents germes isolés chez des enfants au CHNEAR**

Flore mono-microbienne	Nombre	Flore mixte	Nombre
<i>S. pneumoniae</i>	33	PNO + Hib	4
<i>H. influenzae b</i>	3	PNO + MGO	1
<i>H. influenzae</i>	2	-	-
<i>H. parainfluenzae</i>	2	-	-
<i>N. meningitidis</i> W <sub>135</sub>	1	-	-
<b>Total</b>	41		5

**Légende : PNO : pneumocoque Hib : *Haemophilus influenzae b*  
MGO : méningocoque**

D'autres souches bactériennes ont été isolées. Elles appartiennent aux genres suivants : *Streptococcus* (D,F,G), *Staphylococcus* et bacilles divers. Ce ne sont pas des agents potentiels de MBP.

Pour 59 sujets de la population d'étude (35,11%) la recherche de *S. pneumoniae*, *H. influenzae b* et *N. meningitidis* s'est avérée infructueuse et aucun autre germe n'a été isolé.

L'anamnèse a permis de noter une notion d'antibiothérapie chez 19 d'entre eux dans la semaine ayant précédé le prélèvement rhinopharyngé ; par contre 67,79% n'avaient reçu aucun traitement anti-infectieux.

### 5.2.2. Profil de sensibilité aux antibiotiques

- L'antibiogramme standard a été réalisé respectivement sur dix-huit souches de *S. pneumoniae*, quatre d'*H. influenzae b* et deux de *N. meningitidis* (**Tableau VI**).

**Tableau VI : Profil de sensibilité aux antibiotiques des 3 principaux germes responsables de MBP isolés chez des enfants au CHNEAR**

Antibiotiques	Germes					
	PNO		<i>Hib</i>		MGO	
	n	s	n	s	n	s
Oxacilline	18	15	-		-	
Pénicilline G	18	15	-		-	
Ampicilline	-		-		-	
Amoxicilline	18	15	4	4	2	2
Ceftriaxone	18	15	-		-	
Vancomycine	15	14	-		-	
Gentamicine	-		4	4	2	2
Chloramphénicol	-		4	1	2	1
Tétracycline	-		4	4	2	2
Cotrimoxazole	15	12	4	3	2	2

- La sensibilité de *S. pneumoniae* vis-à-vis de la pénicilline a été testée par l'oxacilline. Sur les 38 isolats obtenus à partir de 46 malades, l'activité de l'oxacilline a été étudiée pour 18. Les résultats sont les suivants : (**figure 3**)



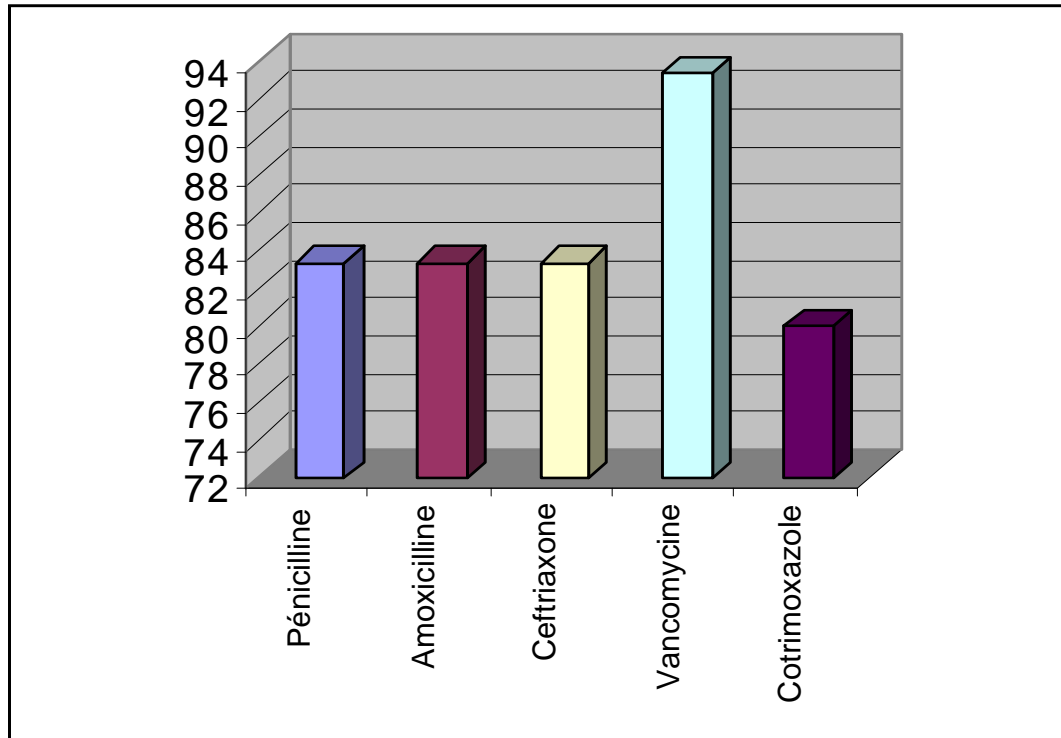


Figure 3 : Sensibilité de *S. pneumoniae* aux antibiotiques

- quinze souches de *S. pneumoniae* sont sensibles à la Pénicilline G
- trois ont présenté une sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP). Elles ont fait l'objet d'un antibiogramme par la méthode de dilution de l'antibiotique en milieu gélosé. Les conclusions sont :

- un isolat de PSDP a une sensibilité intermédiaire aux Bêtalactamines, malheureusement elle n'a pas été testée vis à vis de la vancomycine
- les deux autres PSDP sont sensibles à la Pénicilline G, à l'Amoxicilline et à la Ceftriaxone.

Les CMI observées pour l'ensemble des PNO sont reportées dans le **tableau VII**. Elles concernent les Bêtalactamines et le chloramphénicol, molécules d'usage courant dans le traitement des MBP.

**Tableau VII : CMI des antibiotiques usuels de *S. pneumoniae***

Souches de pneumocoques	Concentration minimale inhibitrice(CMI) mg/l				
	Péni G	AMX	CRO	VA	C
<b>Sensibles à la Péni G</b>	< 0,06 n=15	< 0,05 n=15	< 0,05 n=15	< 4 n=15	< 8 n=15
<b>PSDP</b>					
<b>N°1</b>	0,06-1	0,05-2	0,05-2	/	/
<b>N°2</b>	0,06	0,05	0,05	/	/
<b>N°3</b>	0,06	0,05	0,05	/	/

**Légende :** PSDP = Pneumocoque à sensibilité diminuée pour la pénicilline

Péni G = pénicilline G

AMX = amoxicilline

CRO = ceftriaxone

VA = vancomycine

C = chloramphénicol

L'activité des autres familles d'antibiotiques sur le PNO va croissante du cotrimoxazole à la vancomycine.

- Nous n'avons pu tester que quatre des sept souches d'*H. influenzae* b vis-à-vis des antibiotiques (**Figure 4**). La Ceftriaxone, le chloramphénicol et la Gentamicine inhibent les quatre souches, l'ampicilline trois, alors que les Cyclines ne sont actives que sur un isolat. La seule souche résistante à l'ampicilline sécréterait une pénicillinase.

- Les deux souches de *N. meningitidis*  $W_{135}$  se sont avérées sensibles aux antibiotiques (**figure 4**), notamment les Bêtalactamines, les Aminosides, le chloramphénicol et les Macrolides.

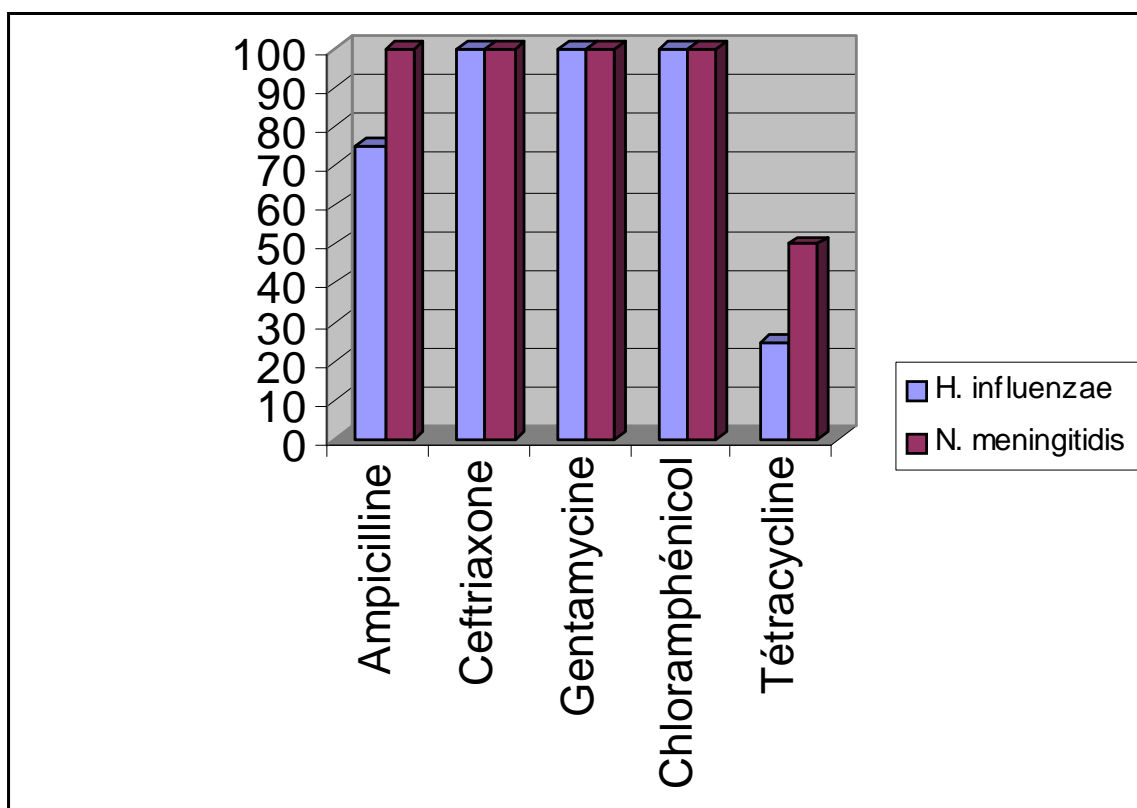


Figure 4 : Sensibilité d'*Hib* et du *N. meningitidis* aux antibiotiques

- Dix enfants sur les quarante-deux colonisés par les germes que nous avons recherché avaient, dans la semaine ayant précédé leur inclusion, reçu des antibiotiques. La nature de l'antibactérien a pu être précisée pour neuf d'entre eux : Oxacilline (1), Gentamicine (1), Spiramycine (2), Cefadroxil (1), Cotrimoxazole (1), Ampicilline (2), Amoxicilline (1), Amoxicilline + Acide clavulanique (1). L'oxacilline et la gentamicine ayant été prescrites à la fois pour un malade.

La bactérie isolée du rhinopharynx s'est avérée être sensible à l'antibiotique que le sujet recevait dans trois cas : PNO (Amoxicilline, Ampicilline, Amoxicilline + acide clavulanique). Pour un des enfants, la souche bactérienne était résistante à la molécule reçue (en l'occurrence le cotrimoxazole). Les cinq autres souches n'ont pas pu malheureusement faire l'objet d'un antibiogramme.

les souches de *H.influenzae b* et de *N. meningitidis* proviennent de malades n'ayant pas préalablement reçu d'antibiotiques.

### **5.2.3. Sérotypes et biotypes des germes isolés**

- Le typage capsulaire était un élément clé de l'identification des souches de *H. influenzae*. Il a permis sur les 9 isolats d'identifier :

- sept souches d'*H. influenzae* de sérotype b : *Hib*
- deux souches d'*H. influenzae* non b

Deux autres isolats du genre *Haemophilus* ont été identifiés, grâce à la galerie NH, comme appartenant à l'espèce *H. parainfluenzae*. Elles ont fait l'objet de biotypage, de même que les 2 souches d'*H. influenzae* non b. Les résultats sont rapportés dans le **Tableau VIII**.

**Tableau VIII : Biotypes des souches d'*Haemophilus* isolés chez des patients au CHNEAR**

Biotypes	Souches		
	<i>H. parainfluenzae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae b</i>
Type II	0	1	Non typé
Type III	2	1	Non typé

- Les souches de *S. pneumoniae* et de *N. meningitidis* sont conservées à -20°C, dans l'attente d'un envoi vers un laboratoire spécialisé qui réalisera alors leur typage sérologique voire immunologique. Localement, les antisérums dont nous disposons ne nous ont pas permis le sérotypage du pneumocoque (date de péremption atteinte).

Les sérogroupes de *S. pneumoniae* et *N. meningitidis* W<sub>135</sub> ont été obtenus grâce au kit bio-Mérieux et Pastorex.

#### 5.2.4. Répartition des germes selon l'âge et le sexe

Les prélèvements effectués dans l'unité de Néonatalogie n'ont pas permis d'isoler l'une des 3 principales bactéries recherchées. C'est chez le jeune enfant (entre 12 mois et 24 mois) que la colonisation est maximale pour *S. pneumoniae* et *H. influenzae b* ; le méningocoque n'ayant été retrouvé qu'au-delà de cinq ans (**Tableau IX**).

Tableau IX: Répartition des germes isolés selon l'âge lors de l'étude sur le portage au CHNEAR

Age (mois)	Différentes souches		
	<i>S.pneumoniae</i>	<i>H.influenzae b</i>	<i>N.meningitidis</i> W <sub>135</sub>
0-3	2	1	0
3-6	2	0	0
6-12	6	2	0
12-24	14	3	0
24-36	7	1	0
36-60	5	0	1
> 60	2	0	1

Deux enfants appartenant à la tranche d'âge de 12-24 mois hébergeaient une souche d'*H. influenzae* non b alors que *H. parainfluenzae* est retrouvé entre 6-12 mois d'une part et 12-24 mois d'autre part (**Figure 5**). Du point de vue statistique ce résultat n'est pas significatif.

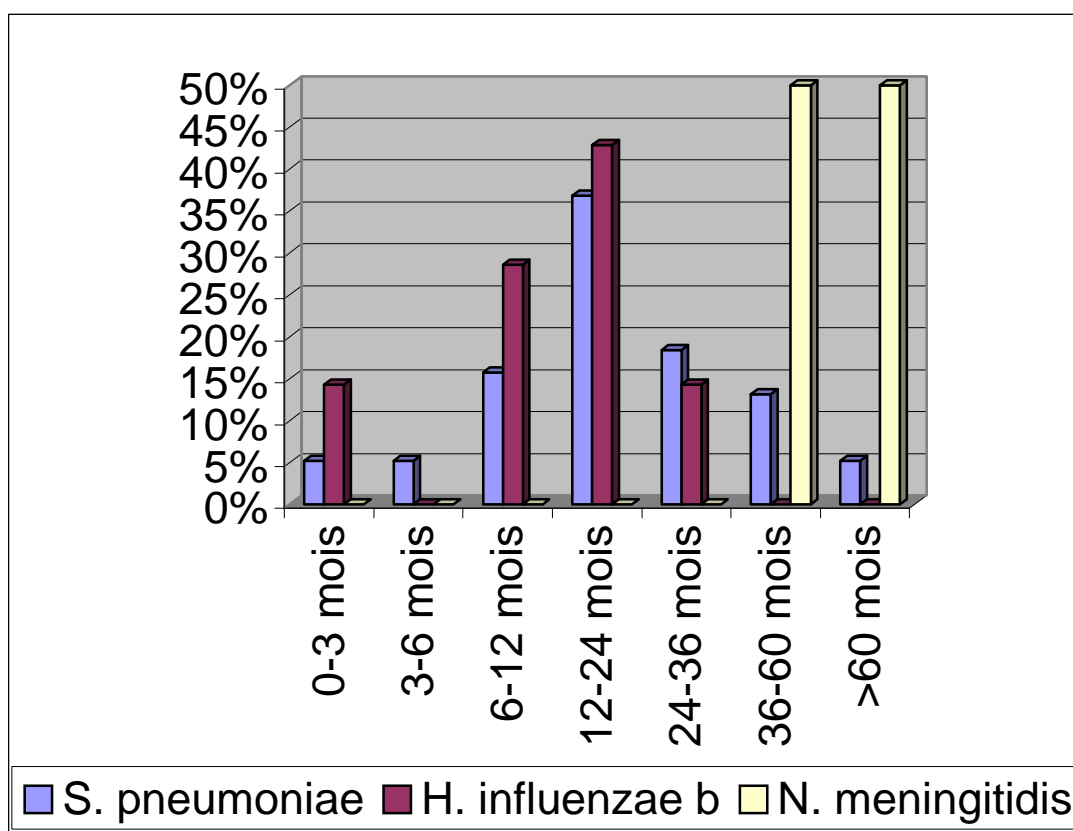


Figure 5 : Répartition des souches isolées du rhinopharynx selon l'âge chez des enfants au CHNAER

### 5.2.5. Distribution saisonnière

Près de 32% des pneumocoques ont été isolés durant le mois de Novembre ; quant à *H. influenzae b*, quatre des sept souches l'ont été détectés en Décembre. C'est en Avril que *N. meningitidis* a été retrouvé (**Figure 6**).

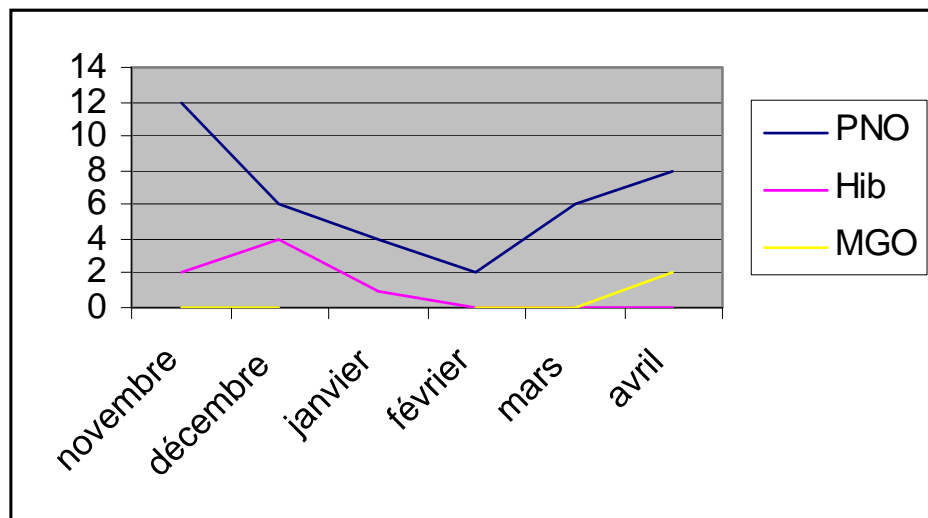


Figure 6 : Profil de la répartition saisonnière des souches isolées du rhinopharynx chez des enfants au CHNEAR

## 6. DISCUSSION

### 6.1. Données générales

Le portage rhino-pharyngé de *S. pneumoniae*, *H. influenzae b*, *N. meningitidis* joue un rôle important dans la propagation de ces germes en particulier dans les collectivités. En effet, la transmission intermédiaire est favorisée par les gouttelettes de pfluge émises lors de la parole ou des éternuements.

Localement le portage de ces germes peut engendrer des infections respiratoires à type de pharyngite ou de rhino-pharyngite. Celles-ci sont la porte d'entrée d'affections plus graves loco-régionales (ORL) ou générales telles que les pneumopathies, septicémies, méningites etc...

Ces trois bactéries représentent à Dakar et dans le monde [60] les principales étiologies des MBP. Il était nécessaire de mener ce travail au CHNEAR afin de préciser les paramètres épidémiologiques (âge, sexe, antibiotype, sérotype, sérotype) liés aux souches de PNO, *Hib* et MGO rhinoportées en milieu pédiatrique dakarois ; cela permettra de préciser les corrélations entre les différents sérotypes de ces germes présents dans les produits pathologiques et en portage.

Les résultats de nos recherches confirment le portage rhinopharyngé de ces germes chez l'enfant à Dakar. La majorité de ces germes isolés sont les pneumocoques, suivis par *H. influenzae*. Nous avons noté seulement deux cas de portage de méningocoque.



L'absence de *Streptococcus agalactiae* dans notre série pourrait provenir du faible taux de nouveau-nés inclus. En effet, l'état clinique grave, voire très grave de la plupart des nouveau-nés hospitalisés a été un frein à l'acte de lavage rhinopharyngé choisi comme méthode de prélèvement.

L'ordre de fréquence de ces isolats est variable selon les études [58]. Environ 49% des enfants porteurs de ces germes souffraient d'infections respiratoires qui sont d'ailleurs les motifs de consultation les plus fréquents pendant les mois de Novembre et Décembre à Dakar.

Près de la moitié avait reçu une antibiothérapie préalable ce qui n'a pas empêché l'isolement de PNO, d'*Hib*.

## **6.2. Bactéries isolées**

### **6.2.1. *S. pneumoniae***

Deuxième agent étiologique des MBP dans le Monde [60] après *H. influenzae b*, le PNO représente la bactérie la plus fréquente en portage chez nos patients.

C'est un germe potentiellement pathogène qui colonise la muqueuse du rhinopharynx dès les premiers jours de la vie. Cette colonisation est maximale vers l'âge de 2 à 3 ans. Les données de notre enquête corroborent ces résultats de la littérature. En effet, environ 39% de nos isolats de PNO proviennent d'enfants âgés de 1 à 2 ans, ce taux baissant à partir de 3 ans jusqu'à atteindre 5% chez l'enfant de plus de 60 mois.

La saison fraîche couvre le mois de novembre à mars à Dakar. Pendant celle-ci, les regroupements humains sont favorisés ; en effet à cause de la rigueur du climat les personnes restent plus longtemps dans une atmosphère confinée créant ainsi une promiscuité. Ceci facilite la transmission de micro-organismes colonisant le rhinopharynx. Ainsi, c'est en novembre que se situe le pic de portage de *S. pneumoniae* dans notre population d'étude et ce, chez les enfants de 1 et 2 ans.

Les conditions de vie ont un impact certain sur l'épidémiologie microbienne. En effet la majorité de nos patients porteurs de PNO vit dans la proche et lointaine banlieue de Dakar, là où les conditions de vie sont précaires et marquées par une forte promiscuité.

L'émergence et la diffusion rapide dans le monde de souches de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) a récemment remis en cause la place de cet antibiotique dans le traitement des pneumococcies [17,18]. De pareilles souches sont rares au Sénégal, y compris dans notre série. En effet, les isolats de PNO provenant d'infections invasives (septicémies, méningites, pneumopathies) au CHU de Dakar mais aussi de rhinopharyngite purulente sont exceptionnellement résistants à la pénicilline [31,58]. En définitive les pénicillines A et G gardent toutes leurs indications dans l'arsenal thérapeutique anti-pneumococcique au Sénégal.

Le sérotypage de nos isolats reste à faire. Des études antérieures faites au CHU de Dakar et ailleurs ont montré que certains sérotypes (6, 19, 23) sont fréquents dans la sphère ORL chez l'enfant. Ils représentent 88% des pneumocoques isolés lors de ces études [58].

Les enfants porteurs de ces souches de PNO souffraient essentiellement d'infections respiratoires.

#### **6.2.2. *H. influenzae***

Le portage de *H. influenzae* concerne 22% de notre population d'étude.

Comme observé pour *S. pneumoniae*, c'est chez l'enfant âgé de 1 à 2 ans que l'*Haemophilus* a été surtout retrouvé. Les âges extrêmes de portage sont 3 mois et 27 mois.

Selon la période, le pic d'isolement est décalé par rapport à celui du pneumocoque. Il se situe en décembre ; une diminution est notée de là jusqu'en février.

L'origine géographique de la plupart des patients porteurs de ces germes est identique à celle des porteurs de *S. pneumoniae*.

Régulièrement active sur les souches d'*H. influenzae* testés au Sénégal [58] l'amoxicilline demeure la molécule de première intention dans le traitement des infections graves dues à ce germe. Ce choix est motivé par leur accessibilité grâce à l'initiative de Bamako tandis que des céphalosporines de troisième génération (C3G) certes plus actives, sont hors de portée de nos populations. La recherche de la production de pénicillinase n'étant pas faite en routine, nous l'estimons à 25% sur la base des souches résistantes à l'amoxicilline mais sensibles à l'AMC. En dehors des Bêtalactamines, le chloramphénicol est une alternative valable pour le traitement des MBP à *Hib* au Sénégal.

Le sérotype b représente 14% des souches d'*Haemophilus influenzae*. Il est le premier agent étiologique des MBP au CHU de Dakar. Il n'a pas fait l'objet de biotypage dans notre série. Dans la littérature, *Hib*, sérotype invasif par excellence, appartient généralement au biotype I [35]. Son portage est rare, ce que corrobore nos données.

Les sérotypes non b d'*H influenzae* ont fait l'objet d'un biotypage dont les résultats montrent leur appartenance aux biotypes II et III. C'est à l'occasion de ce biotypage que les isolats d'*H. parainfluenzae* ont été identifiés.

Sur les sept enfants chez qui nous avons isolé *Hib*, cinq souffraient d'affections respiratoires (rhino-bronchite, broncho-pneumopathie).

#### **6.2.3. *Neisseria meningitidis***

Le méningocoque, bactérie épidémiologique par excellence sévit dans la ceinture de Lapeysonie en Afrique subsaharienne [60].

Son portage, rare en dehors des périodes d'épidémies, est relativement présent en saison sèche et fraîche particulièrement chez le grand enfant.

A la faveur de la découverte d'une souche de *Neisseria meningitidis* W<sub>135</sub> chez un adolescent de 11 ans hospitalisé en Avril pour MBP durant notre enquête, nous avons systématiquement recherché dans l'entourage de cet enfant, les personnes contacts ayant pu être contaminées et ou

étant à l'origine de la contamination. Ainsi, chez deux de ces compagnons âgés respectivement de 3 ans 6 mois et 13 ans nous avons isolé du rhinopharynx le méningocoque W<sub>135</sub>.

Ces enfants ne souffraient d'aucune pathologie. Leurs souches de même que celle isolée du LCR, se sont avérées être sensibles aux antibiotiques usuels à Dakar (Bêtalactamines, chloramphénicol, et aminosides.

Habituellement, ce sont les sérologies A et C de *N. meningitidis* qui sévissent dans notre sous-région. Quelques cas de MBP dus au sérogroupe B ont été rapportés au CHU de Dakar [20].

Le méningocoque W<sub>135</sub>, absent de la ceinture de Lapeysonie a fait apparition en 2002 au Burkina-Faso lors d'une épidémie meurtrière [60]. A Dakar, en 2001, une femme âgée de 40 ans est décédée des suites de méningite purulente à MGO W<sub>135</sub> au retour du pèlerinage à la Mecque [Communication personnelle]. Les trois souches de *N. meningitidis* W<sub>135</sub> rapportées dans notre série représentent les premiers isolats autochtones au Sénégal. L'enquête épidémiologique a fait ressortir qu'un oncle de l'enfant travaille aux chemins de fer et, par conséquent voyage souvent entre le Sénégal et le Mali. Serait-il la source de contamination ? Il faut préciser que la recherche MGO W<sub>135</sub> dans son rhinopharynx a été négative.

La présence de ces germes dans le LCR, les hémocultures et les prélèvements de pus justifie l'importance qui leur est accordée en portage.

Le pneumocoque retrouvé dans l'hémoculture était également responsable d'une méningite chez le même malade.

Il aurait été intéressant de rechercher le portage de ces germes au niveau du rhinopharynx de ces malades ; ensuite déterminer éventuellement les sérotypes et les comparer avec ceux des souches invasives retrouvées dans les produits pathologiques.

# CONCLUSION

Les principaux germes responsables de Méningite Bactérienne Pédiatrique sont des bactéries commensales des voies respiratoires supérieures. Elles sont souvent à l'origine d'infections oto-rhino-laryngologiques, surtout chez l'enfant mais aussi de pneumopathies communautaires.

L'étude épidémiologique de ces germes repose donc sur :

- leur recherche dans les sécrétions rhino-pharyngées
- la détermination de leur sensibilité vis à vis des antibiotiques couramment prescrits
- le sérotypage des isolats retrouvés en portage.

En somme notre enquête représente un outil d'analyse et de surveillance épidémiologique du portage des espèces bactériennes souvent impliquées dans les infections du jeune enfant surtout et de leur résistance aux antibiotiques.

Chez les 168 malades inclus, nous avons isolé 51 germes répartis comme suit :

- Trente-huit souches de *Streptococcus pneumoniae*
- Sept isolats d' *Haemophilus influenzae b*
- Deux *Haemophilus influenzae* non b
- Deux *Haemophilus parainfluenzae*
- Deux souches de *Neisseria meningitidis W<sub>135</sub>*

L'antibiotypage a montré dans l'ensemble une bonne sensibilité des souches de pneumocoque vis-à-vis de la pénicilline. Cette molécule peut donc toujours faire



l'objet de prescription au Sénégal dans le cadre du traitement des pneumocoques d'autant plus que c'est l'un des médicaments les moins coûteux, accessibles aux populations grâce à l'Initiative de Bamako. L'ampicilline s'est révélée très active sur les isolats de *Haemophilus influenzae b* et de *Neisseria meningitidis* W<sub>135</sub>

Le sérotypage qui constitue un élément important et complémentaire des résultats déjà obtenus sera réalisé ultérieurement sur les 38 souches de PNO collectées et conservées au cours de cette étude. La détermination de ces sérotypes permettra de savoir si le vaccin anti-pneumococcique, préparé en Europe et dont la composition a surtout tenu compte des sérotypes couramment isolés dans ce continent, constitue effectivement une couverture vaccinale appropriée ici au Sénégal.

# **BIBLIOGRAPHIE**

1. **ALBERT B., WILLIAM J.H., KENNETH L.H.,  
HENRY D.I., SHADOMY H.J.-**  
Manual of clinical Microbiology  
5<sup>th</sup> Edition, ASM 1991 : 243-244
2. **AUJART Y., BOURILLON A.-**  
Les infections néonatales. In : Bégué B., Astuc P.  
Pathologie infectieuse de l'enfant.  
Paris : Flammarion éd., 1988 : 267-294
3. **AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F., MOUTEIL H.-**  
Bactériologie clinique  
2<sup>e</sup> édition, Paris, Ellipse, 1992.
4. **BATHILY C.T.-**  
Etude de la sensibilité aux antibiotiques de différentes  
souches de pneumocoques isolées à Dakar.  
*Thèse Pharm.* 1995 ; Dakar : n° 30
5. **BEDOS J.P., CHEVET S., CHASTANG C., GESLIN P.,  
REGNIER B.-**  
Epidémiological features of and risk factors for  
infection by *Streptococcus pneumoniae* strains with  
diminished susceptibilty to penicillin : finding of a  
french survey.  
*Clin Infect Dis*, 1996 ; 22 : 63-72

**6. BERCHE P., GEHANNO P., OLIVIER C., NGUYEN L.,  
BOUCOT I.-**

Epidémiologie de la flore nasopharyngée au cours des otites moyennes aiguës de l'enfant.

*Med Mal Infect.* 1996 ; 26 Spécial : 5-19

**7. BERCHE P., NGUYEN L., FERRONI A.-**

Epidémiologie des bactéries rencontrées au cours des Otites moyennes aiguës de l'enfant.

*Med Mal Infect* 1997 ; 27 Spécial : 388-96

**8. BERCHE P., GEHANNE P., DUVAL F., LENOVI G.-**

Epidémiologie bactérienne des otites moyennes aiguës de l'enfant en France en 1993.

*Lettre Infectol.* 1994 ; 18 : 11-23

**9. BEUVERY E.C.-**

Immunisation against bacterial meningitidis.

*J. infect.*, 1981 ; 3 Suppl : 71-79

**10. BINGEN E., LAMBERT-ZECHOVSKY N., PROUX M.C.,  
BINGEN-BIDOIS M.**

Détermination des biotypes du genre *Haemophilus* et étude de la sensibilité à l'ampicilline en pratique hospitalière.

*Ann. Biol. Clin.*, 1982 ; 40 : 597-602

**11. BOULIVOIS G.J.-**

Pneumococcal proteins and the pathogenesis of disease caused by *Streptococcus pneumoniae*.

*J. Gen. Microbiol.* 1992 ; 138 : 249-59

**12. BOURILLON A., BINGEN E.-**

Stratégie thérapeutique des méningites à pneumocoques  
résistant à la pénicilline en pédiatrie.

*Med Mal Infect* 2002 ; 32 Suppl 1 : 55-60

**13. BOUVET A., DELMAS PH., FRENEY J.-**

*Streptococcaceae* : *Streptococcus*, *Enterococcus*,  
*Lactococcus*.

*In* : Frenney J., Renaud F., Hansen W., Ballet C.

Manuel de Bactériologie Clinique.

2<sup>e</sup> Ed. Paris : Elsevier ; 1994 : 705-740

**14. BOVRE K.-**

Family *Neisseriaceae*.

*In* : Krieg N.R., Holt J.G.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.

Vol. 1 Williams & Wilkins Baltimore, 1984 : 228-290

**15. BURR M.L., GRAYS.J., HOWELS C.-**

A survey of nasal *Streptococcus pneumoniae* in children.

*J. Hyg. Camb.* 1982 ; 88 : 425-31

**16. BURSAUX S., GENDREL D.-**

Infections bactériennes à pneumocoques.

Medecine thérapeutique/ pédiatrie.

Vol. 5 Hors n°2, Mai 2002 : 7-13

**17. CARBONELLE B., DENIS F., MARMONIER A.,  
PINON G., VARGUES R.-**

Bactériologie médicale Techniques usuelles.

2<sup>e</sup> Ed. Paris : SIMEP, 1987 : 67-72

**18. CHABBERT Y.A.-**

Antibiogramme : Sensibilité et résistance aux antibiotiques.

La Tourelle, Paris, 1963

**19. CHARDON H., VARON E., BENSAID E., BELLON O.,  
LAGIER E., GUTTMAN L.-**

Epidémiologie de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques.

*Med Mal Infect* 2002 ; 32 Suppl 1 : 21-31

**20. CISSE M.F., BA M., FALL M., SAMB M.-**

Emergence au Sénégal de souches de méningocoque B.

*Méd. Mal. Infect.*, 1994 ; 24 : 1266-7

**21. CISSE M.F., SOW H.D., OUANGRE A.R., GAYE A., SOW  
A.I., FALL M.-**

Méningites bactériennes en zone tropicale.

*Med Trop* 49, 1989 ; 265-269.

**22. CLEMENS J.D., NACIFY A., RAO M.R.-**

Long term evaluation of vaccine protection : methodological issues for phase 3 trials and phase 4 studies.

*In* : Levine MR. Et al., eds. New generation vaccines.

2<sup>nd</sup> ed. New York : Marcel Decker, 1997 : 47-67.

**23. COHEN R., DE LA ROCQUE F., BOUCHERA M. et coll.-**

Flore rhinopharyngée et résistance du pneumocoque.

*In* : Carbon C., Chastang C., Decazes J.M. :

« Infections à pneumocoques de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines. Recherche clinique et décision thérapeutique ».

*Springer-verlag*, Paris ; 1993 : 73-9

**24. COHEN R., VARON E., OLIVIER C. et coll.**

Virulence, transmission, portage et histoire naturelle du pneumocoque.

*In* Chastang C., Decazes J.M. : « Infections à pneumocoques de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines ».

*Springer-Verlag*, Paris ; 1-14

**25. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de microbiologie.**

**Communiqué 1994.**

*Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 1995 ; 10 : 17-21

**26. DABERNAT H.-**

Les infections des voies aériennes respiratoires à *Haemophilus influenzae*.

*Obj. Méd.*, 1996 ; 150 : 31-33

**27. DABERNAT H., SANSON-LEPORS M-J.-**

*Haemophilus* *In* : Le Minor L., Veron M.

Bactériologie médicale.

2<sup>e</sup> Ed.; Paris : Med. Sciences; Flammarion 1990 ;

521-544

**28. DENIS F.**

Actualités bactériologiques et épidémiologiques du pneumocoque.

*Le Pharm. Biol.*, 1983 ; 17 (145) : 35

**29. Diagnostic bactériologique des espèces des genres *Neisseriae* et *Branhamella*.**

*Ann. Biol. Clin.*, 1977 ; 35 : 73-87

**30. EDWARDS M.S.**

Group B *Streptococcal* infections

*Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1990 ; 9 : 778-781

**31. FALL N.A.-**

Les pneumococcies en milieu pédiatrique dakarois :  
Epidémiologie et Sensibilité aux antibiotiques.

*Thèse Méd.* 1995 ; Dakar : n°33

**32. FERRON A.-**

Bactériologie médicale.

Edition C. et R.

13<sup>e</sup> Ed. 1989 ; 203-206

**33. FERRONI A., BERCHE P.-**

*Streptococcus pneumoniae* : Resistance aux antibiotiques.

*In* Médecine thérapeutique.

Vol 6, n°6, Juin-Juillet 2000 : 434-41, Revue : Infection  
et Poumon.

**34. FOX M.T.-**

*Neisseria*

Indiana University School of Medicine - 1999



- 35. FRENEY J., RENAUD A., HANSEN W., BOLLET C.-**  
Manuel de Bactériologie clinique.  
2<sup>e</sup> Ed. ; Elsevier, Paris - 1994
- 36. GARCIA-LEONI M., CERCENADO E., RODENO P., BERNADO DE QUIROS J.CL., MARTINEZ-hernandez D., BOUZA E.-**  
Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin : a prospective microbiological and clinical study.
- 37. GESLIN P., FREMAUX A., SISSIA G.-**  
Epidémiologie de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux Bêta-lactamines en France et dans le monde.  
*In* : Infections à pneumocoques de sensibilité diminuée aux Bêta-lactamines.  
*Med Mal infect* ; Paris : Springer-Verlag ; 1993, p55-71
- 38. GESLIN P., FREMAUX A., SISSIA G.-**  
Infections à pneumocoques : aspects épidémiologiques en 1992.  
*Med Mal Infect* 1992 ; 22, Hrs Série : 66-71.
- 39. GESLIN P.-**  
Bêta-lactamines et pneumocoques multirésistants isolés en France (1984-1994).  
*Méd. Hyg.* 1995 ; 53 : 2111-8

**40. GIEBINK G.S.-**

The prevention of pneumococcal disease in Children.

*N Engl J. Méd*, Vol. 345, n°16, Oct 2001 :

p 1177-1183

**41. GRANGEOT-KEROS L., LEBRUN L.-**

Structure antigénique des Streptocoques : Applications au diagnostic direct et au diagnostic indirect des streptococcies.

*Méd Mal Infect*, 1980 ; 10 : 633-639

**42. GRAY B.M., CONVERSE G.M., DILTON H.C.-**

Epidémiologic studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants : acquisition, carriage and infection during the first 24<sup>th</sup> month of life.

*Infect. Dis.*, 1980 ; 142 : 923-33

**43. GUIBOURDENCHE M., RIOU J.Y.-**

Les méningocoques à travers le monde : marqueurs phénotypiques et moléculaires.

*Méd Mal Infect*, 1996 ; 26 : 389-92

**44. HARDIE J.M.-**

Genres *Streptococcus* Rosenbach 1884.

*In* : Sneabh P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.

Baltimore : Williams and Wilkins Co., 1986 ; 2 :

1043-1071

**45. JUPEAU-VESSIERES A., SCAVIZZI M.-**

Sensibilité des bactéries aux antibiotiques : Méthodes d'étude en Biologie clinique.

Editions techniques.

*Encycl. Méd. CHIR.* (Paris-France) Maladies infectieuses, 8005 A30, 9-1990, 11p.

**46. KILLIAN M.-**

*Haemophilus*. In Lennette H., Ballows A., Hausler W.J., Shadony H.J. « Manual of clinical microbiology », 4th ed.

*American Society for Microbiology*. Washington, DC, 1985 ; 387-393.

**47. KLUGMAN K.P., KOORNHOF H.I., WASAS A. et coll-**

Carriage of penicillin resistant pneumococci.

*Arch Dis Child*, 1986 ; 64 : 377-81

**48. LAURICHESSE H., GRIMAUD O., WAIGHT P. et al.-**

Pneumococcal bacteraemia and meningitidis in England and Wales, 1993-1995.

*Comm. Dis. Pub Health*, 1998 ; 1 : 22-27

**49. LE MINOR L., VERON M.-**

Bactériologie médicale

*Méd Sciences Flammarion*, Paris 5<sup>e</sup> éd. 1989

**50. LEVAYER S., BERCHE P.-**

*Haemophilus influenzae* : Un pathogène respiratoire majeur.

*Feuillets de Biologie*, 1996 ; 37 (210) : 13-16

**51. MAINARDI J.L.-**

Sensibilité et mécanismes de résistance aux antibiotiques des streptocoques, pneumocoques et entérocoques.

*Feuillets de Biologie*, 1997 ; 37 (215) : 29-31

**52. MUSER DM.-**

Infections caused by *Streptococcus pneumoniae* : Clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment.

*Clin Infects*, 1992 ; 14 : 801-7

**53. QUATRIEME CONFERENCE DE CONSENSUS EN  
THERAPEUTIQUE ANTI-INFECTIEUSE DE LANGUE  
FRANÇAISE.-**

Les infections respiratoires.

Lille, 18 Octobre 1991.

*Med Mal Infect*, 1992 ; 22 - *Special*

**54. REINERT P., HAU-RAINSARD I., OUETCKINE P.-**

Les vaccins antipneumococciques conjugués : un espoir pour la France ? Médecine thérapeutique.

Vol. 6, n°4 Avril 2000 : 270-3, Vaccinations.

**55. RIEUX V.-**

Les facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae*.

*Méd Mal Infect*, 2002 ; 32 Suppl. 1 : 1-12

**56. ROUSSET A., LEVY A., MINCK R.-**

Le Streptocoque du groupe B : Sérotypes et sensibilité aux antibiotiques.

*Ann. Microbiol.* (Institut Pasteur), 1977 ; 128B : 339-348

**57. SHINEFIELD HR.-**

Efficacy and safety of a heptavalent conjugate pneumococcal vaccine.

Proceedings of a session held at the Biotech Medical Management Associations Fall.

1999 General session. Phoenix (Arizona) ; September 22-25

**58. THIAW C.-**

Bactériologie des Rhinopharyngites purulentes de l'enfant au Sénégal.

Thèse Méd. 1995 ; Dakar : n°73

**59. WATINE J., CHARET J.CH., RAIMBAULT CH.,  
DUBOURDIEU B.-**

Sensibilité aux Bêta-lactamines des souches d'*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* et *Branhamella catarrhalis* isolés lors d'infections broncho-pulmonaires dans un Hôpital général.

**60. WHO/CDS/CSR/EDC/ 199.7**

Techniques de Laboratoire pour le diagnostic des méningites à *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*

## SERMENT DE GALIEN

---

*Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes Condisciples.*

*D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*

*D'exercer, dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.*

*De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

*En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.*

VU  
LE PRESIDENT DU JURY

VU  
LE DOYEN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER  
LE RECTEUR DE L'UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR