

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-
DIOULASSO

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN
SCIENCES ET TECHNIQUES

GENIE BIOLOGIQUE

CENTRE MURAZ

DEPARTEMENT DES SCIENCES
BIOMEDICALES

Tél : (226) 20 97 01 02
E-mail : dg.muraz@fasonet.bf



RAPPORT DE FIN DE CYCLE

Pour obtenir la

LICENCE PROFESSIONNELLE DE GENIE BIOLOGIQUE

Spécialité: ANALYSES BIOLOGIQUES

Présenté par

TRAORE Sedina Ali

Sur le thème :

**Étude comparative de la sensibilité aux antibiotiques des
souches de *Streptococcus pneumoniae* en portage chez des
enfants de moins de 5 ans de Houndé**

Maître de stage : Dr Soumeya OUANGRAOUA

Directeur de rapport : Dr Adama SANOU

DÉDICACE

A :

- ↳ *Mon père TRAORE Brahima et ma mère COULIBALY Orokya*
- ↳ *Mon oncle TRAORE Bakary et son épouse BELEM Mariam*
- ↳ *Mes frères et sœurs*

Pour m'avoir soutenu et accompagné dans ma quête du savoir. Puissiez-vous trouver dans ce présent travail, une entière satisfaction et l'expression de ma profonde gratitude.

REMERCIEMENTS

Nos sincères remerciements vont à l'endroit :

- ➔ *Du Professeur Nicolas MEDA, Directeur Général du Centre MURAZ, pour nous avoir accueilli dans sa structure.*
- ➔ *Du Dr Hama DIALLO, Directeur Scientifique du Centre MURAZ, qui a donné une suite favorable à notre demande de stage.*
- ➔ *De notre maître de stage, Docteur Soumeya OUANGRAOUA, pharmacien-biologiste. Merci pour votre encadrement exceptionnel. Trouvez ici l'expression de notre reconnaissance.*
- ➔ *Du Docteur Adama SANOU, enseignant-chercheur à l'UFR-ST de l'Université Polytechnique de Bobo. Merci pour votre contribution à l'amélioration de ce document et d'avoir accepté d'être mon Directeur de Rapport; pour vos précieux conseils et pour vos encouragements. Trouvez ici l'expression de toute ma gratitude.*

Par ailleurs nous exprimons nos vifs remerciements :

- ➔ *Au Professeur Georges Anicet OUEDRAOGO, Président de l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso.*
- ➔ *Au Professeur Sado TRAORE, Directeur de l'Unité de Recherche en Sciences et Techniques (UFR-ST).*
- ➔ *Au Docteur Lassina OUATTARA, Directeur-Adjoint de l'Unité de Recherche en Sciences et Techniques (UFR-ST).*
- ➔ *Au Docteur Roland MEDA, coordonnateur de la filière Génie-Biologique pour sa disponibilité à nos sollicitations.*
- ➔ *Nous témoignons notre reconnaissance à : Monsieur Barthélémy SEMDE, Monsieur Eli KABRE, Monsieur Kobo GNADA, Monsieur Moumini NOUCTARA et Monsieur Arthur DJIBOUGOU, technologistes biomédicaux au laboratoire de bactériologie du Centre MURAZ pour le travail accompli, votre disponibilité et surtout votre modestie à nous accompagner pour mener à bien ce travail.*

Enfin, nous tenons à remercier les membres du jury qui jugeront la qualité du document et feront des remarques pour l'amélioration de sa qualité, merci à vous.

SOMMAIRE

DÉDICACE.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
SOMMAIRE.....	iv
LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES.....	vi
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....	vii
RÉSUMÉ.....	viii
INTRODUCTION.....	1
PREMIÈRE PARTIE : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
I. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	5
I.1. Historique.....	5
I.2. Habitat.....	5
I.3. Taxonomie.....	6
I.4. Morphologie.....	6
I.5. Caractères culturels.....	6
I.6. Caractères antigéniques.....	7
I.7. Caractères biochimiques.....	8
I.8. Propriétés particulières.....	8
II. Infection à <i>Streptococcus pneumoniae</i>	8
II.1. Pouvoir pathogène.....	8
II.2. Épidémiologie.....	9
II.3. Problématique actuelle de l'infection à <i>Streptococcus pneumoniae</i>	10
III. Antibiogramme.....	10
DEUXIÈME PARTIE : NOTRE ÉTUDE.....	13
I. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	14
I.1. Cadre d'étude.....	14
I.2. Présentation du Centre MURAZ.....	14

I.3.	Population de l'étude	15
I.4.	Type et période de l'étude	15
I.5.	Matériels et réactifs de l'étude	16
I.6.	Prélèvement et analyse au laboratoire	16
I.7.	Conservation des souches de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	18
I.8.	Analyse des données	19
II.	RESULTATS	20
III.	DISCUSSION	25
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	28
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	29
	ANNEXES	31

LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES

➤ Liste des tableaux

Tableau 1: Concentrations critiques et diamètres d'interprétation de chaque antibiotique testé	18
Tableau 2: Concentrations critiques et CMI d'interprétation de chaque antibiotique testé en E-test	18
Tableau 3: Distribution de la population d'étude par village	21
Tableau 4: Distribution de la population d'étude par tranche d'âge	21
Tableau 5: Sensibilité globale des pneumocoques aux différents disques d'antibiotiques testés	24
Tableau 6: Résultats comparés des deux méthodes utilisées pour l'antibiogramme	24

➤ Liste des figures

Figure 1: Pneumocoques capsules (à gauche) et pneumocoques présentant une hémolyse alpha (à droite)	7
figure 2: Sensibilité des pneumocoques à l'optochine	8
figure 3: Carte de la ceinture méningitique	9
figure 4: Méthodes de réalisation de l'antibiogramme	12
figure 5: Présentation du nouvel organigramme scientifique du centre Muraz, fév. 2015	15
figure 6: Répartition des pneumocoques isolés par genre	22
figure 7: Distribution des pneumocoques par tranches d'âge.	23

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

A.T.C.C	: American Type Culture Collection (Souches de référence Américaine)
BAAR	: Bacilles Acido-Alcool-Résistants
CA-SFM	: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
CO₂	: Dioxyde de Carbone
EPS	: Etablissement Public de Santé
GBA	: Gentamycin Blood Agar
LCR	: Liquide Céphalo-Rachidien
MHA	: Mueller Hinton Agar
MVP	: Meningitis Vaccine Project
O.C.C.G.E	: Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PATH	: Project for Appropriate Technology for Health
PEV	: Programme Elargi de Vaccination
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Réaction en chaîne par polymérase)
PCV13	: Vaccin conjugué anti-pneumocoque
PSDP	: Pneumocoques à Sensibilité Diminuée à la Pénicilline
PSM II	: Poste de Sécurité Microbiologique de classe II
SIDA	: Syndrome d'Immuno Déficience Acquise
SMI	: Santé Maternelle et Infantile
STGG	: Skim Milk-Tryptone-Glucose-Glycérol
<i>S. p</i>	: <i>Streptococcus pneumoniae</i>
VIH	: Virus de l'Immunodéficience Humaine
WHO	: World Health Organization (OMS)

RÉSUMÉ

Streptococcus pneumoniae est l'une des causes majeures des infections respiratoires aiguës et que l'on retrouve souvent en portage. C'est un important agent pathogène chez l'homme en particulier chez l'enfant.

De Décembre 2015 à Mai 2016, nous avons réalisé une étude de prévalence du portage nasopharyngé chez des enfants de 0 à 5 ans dans 24 villages de Houndé au Burkina Faso. Ces prélèvements ont été manipulés au laboratoire de Bactériologie du centre MURAZ de Bobo-Dioulasso. L'identification des souches isolées a été faite sur la base des caractères morphologiques, culturels, la sensibilité à l'optochine et la mise en évidence de la lyse du pneumocoque par la bile. L'antibiogramme a été réalisé selon les procédures du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Un total de 269 souches ont été isolées chez 390 enfants soit une prévalence de 69%. La sensibilité des souches isolées dans notre étude aux antibiotiques testés était élevée : Oxacilline (71%), Azithromycine (83%), Erythromycine (81%), Ceftriaxone (98,6%), Norfloxacin (94%), et la Vancomycine (100%). Le taux de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) était de 29%. En outre, la comparaison entre les méthodes de diffusion sur disques et sur Bandelettes (E-test) a donné des résultats relativement concordants nous rassurant sur l'utilisation des disques d'antibiotiques pour nos laboratoires à ressources limitées.

Au regard de l'émergence et de la forte prévalence du pneumocoque en portage chez les enfants en âge de vaccination, des campagnes de vaccination de masse du PCV13 sont fortement encouragées au Burkina Faso.

Mots clés : *Streptococcus pneumoniae*, portage, sensibilité, E-test.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Streptococcus pneumoniae communément appelé pneumocoque est un pathogène majeur à l'origine d'infections humaines. La transmission se fait à partir d'un réservoir rhinopharyngé et le germe provoque des infections de type de pneumonies, bactériémies, méningites, otites et sinusites qui sont à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité considérables. Le taux de mortalité des infections dues à *Streptococcus pneumoniae* était d'environ 10% en Tunisie en (Znazen et al., 2006) .

Le Burkina Faso est l'un des pays entièrement situé dans la zone où sévit la méningite appelée « ceinture de la méningite ». Des études ont démontré l'existence de portage asymptomatique de *Streptococcus pneumoniae*. Une étude réalisée en 2000 a révélé que le taux de portage trouvé chez les enfants de 0 à 5ans était de 50,6% (Bere et al.,2005). Des études menées en 1997 et 2001 avaient montré auparavant qu'il existe une corrélation entre le niveau de résistance des souches isolées du portage nasopharyngé et celles des souches responsables d'infections (Syrogiannopoulos et al., 2001). Par ailleurs, il a été remarqué que le pneumocoque a acquis au cours des six dernières décennies de nombreuses résistances aux antibiotiques : sulfamides (1943), tétracyclines (1963), érythromycine (1967), pénicilline (1967) et chloramphénicol (1970) (Hansman, 1967). Au Burkina Faso, l'étude de BERE et coll. avait montré que 58,65% des souches présentaient une résistance totale aux pénicillines, Amykacine (95,19%) ; Tétracycline (65,30%) ; Pefloxacine (54,80%) ; Cotrimoxazole (31,70%) et Oxacilline (25%) (Bere et al.,2005). Par conséquent le choix du meilleur traitement devient difficile d'autant plus qu'un grand nombre de ces souches sont multirésistantes. C'est ainsi qu'une surveillance du niveau de résistance des souches de *Streptococcus pneumoniae* (S.p.) effectuée sur des souches isolées du nasopharynx, aux antibiotiques couramment utilisées au Burkina Faso s'impose. Ces résultats permettront d'avoir une base de données qui servirait à un système de surveillance épidémiologique continue au Burkina Faso.

Les objectifs de notre étude étaient les suivants :

- De façon générale, de déterminer le profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées du nasopharynx chez des enfants de 0-5 ans de Houndé, et comparer les résultats de l'antibiogramme par méthode de diffusion sur disques et sur bandelette (E-test).

- et de façon spécifique de :

- Déterminer la prévalence du portage de *S. pneumoniae*.
- Déterminer la sensibilité des souches de *S. pneumoniae* aux antibiotiques testés par méthode de diffusion sur disque.
- Comparer les résultats de l'antibiogramme par méthode de diffusion sur disques et sur bandelette.

Dans ce document, il s'agira pour nous d'abord de faire un point sur les données de la littérature sur *S. pneumoniae*, ensuite de donner les matériels et méthodes utilisés dans notre étude, en outre de faire ressortir les différents résultats de l'étude. Ces résultats feront l'objet d'une discussion et nous terminerons par une conclusion.



PREMIÈRE PARTIE : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I. *Streptococcus pneumoniae*

I.1. Historique

Le nom de *Streptococcus* (streptus: flexible; coccus: grain) a été pour la première fois attribué par Bilroch et Erlich (1877) à des cocci formant des chaînettes. Dès 1881, Pasteur, Chamberland et Roux découvrent le pneumocoque dans la salive d'un enfant atteint de rage. En inoculant cette salive à des lapins, ils provoquent une septicémie d'où son nom de « Microbe septicémique de la salive ». Cette expérience est considérée comme la première référence sur *S. pneumoniae* (Minor, 1989). En 1912, la première souche de pneumocoque résistante à l'optochine (Huebner et *al.*, 2000) est découverte par Mongeroth et Kaufmann et au fil des années, des souches de pneumocoques ont acquis une résistance vis-à-vis de tous les antibiotiques (Huebner et *al.*, 2000).

I.2. Habitat

Le pneumocoque colonise fréquemment les voies respiratoires de l'homme puisqu'il y aurait jusqu'à 70 % de porteurs pharyngés sains (Cohen et *al.*, 1993), on peut parfois le retrouver au niveau des muqueuses génitales. C'est un germe transmis par voie aérienne : la transmission est presque toujours directe par l'intermédiaire des gouttelettes de Pflügge. Des cellules infectieuses peuvent se propager par des microgouttelettes aérosolisées projetées lors de la toux ou des éternuements, ou encore par contact oral d'une personne à l'autre. La transmission est fréquente, mais l'infection est inhabituelle, car les personnes en bonne santé sont porteuses de *S. pneumoniae* dans la région rhinopharyngée sans être infectées. La colonisation par *S. pneumoniae* du rhino-pharynx débute dès les premiers mois de la vie, atteint son maximum à l'âge préscolaire (de 2 à 3 ans), puis décroît progressivement avec l'âge. Ce taux est élevé chez les enfants vivant en collectivité dans les jardins d'enfants, les écoles et les orphelinats (Musher et *al.*, 1997). Le germe est très fragile et il ne survit pas dans l'environnement (Musher et *al.*, 1997). Les pneumocoques sont isolés à partir de différents prélèvements : expectoration, liquide pleural, sang, liquide céphalo-rachidien (LCR), ou autres suppurations, selon qu'ils provoquent respectivement une pneumonie, une pleurésie purulente, une septicémie, une méningite purulente, ou toute autre suppuration, telle qu'otite ou sinusite.

I.3. Taxonomie

L'espèce *Streptococcus pneumoniae* appartient au genre *Streptococcus*, à la famille des *Streptococcaceae* et à l'ordre des *Micrococcales* (Bergey et al., 1923).

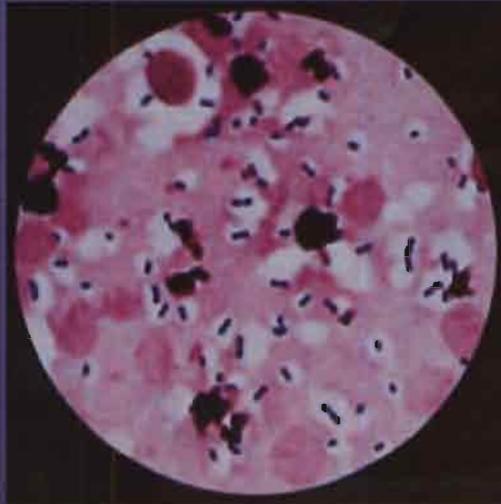
I.4. Morphologie

En microscopie ordinaire, le pneumocoque se présente de façon caractéristique dans les produits pathologiques sous forme de diplocoques immobiles asporulés, capsulés à Gram positif appariés par leurs extrémités (figure 2) pointues. Chaque coque donne un aspect de flamme de bougie, et le diplocoque est en forme de « 8 ». Cependant *S. pneumoniae* peut se présenter en courtes chaînettes (Avril, 1992).

I.5. Caractères cultureux

La culture du pneumocoque est délicate en raison de sa tendance à la lyse spontanée ou autolyse (Minor, 1992). L'intervalle de température optimale pour la culture est de 25°C à 42°C. L'anaérobiose stricte est meilleure pour le développement des pneumocoques (Avril, 1992).. Le pneumocoque exige des milieux nutritifs enrichis au sang, comme la gélose au sang de mouton ou de cheval. Sur une gélose au sang frais de mouton, le pneumocoque développe une hémolyse de type alpha, grâce à une hémolysine produite par la bactérie. En présence d'antibiotiques modifiant la paroi, il apparaît une hémolyse bêta (Avril, 1992). Les colonies de bactéries virulentes capsulées sont lisses, transparentes et rondes. Elles sont encore appelées S « smooth ». En culture, le pneumocoque perd facilement sa capsule donnant des colonies rugueuses R « rough » qui correspondent à des bactéries ayant perdu leur virulence.

Streptococcus pneumoniae



Pneumocoque capsulé (en diplocoque)



Hémolyse alpha: hémolyse incomplète (verdâtre)

Figure 1: Pneumocoques capsulés (à gauche) et pneumocoques présentant une hémolyse alpha (à droite).

Source : <http://www.microbes.edu.org/etudiant/streptocoques.html> ; consulté le 18-05-2016.

I.6. Caractères antigéniques

La bactérie est caractérisée par la présence de trois types d'antigènes :

-les antigènes somatiques dont l'une protéique est spécifique de l'espèce; c'est la substance C dite "protéine C réactive".

les toxines : le germe peut sécréter aussi des toxines dont la plupart sont antigéniques ce sont: la pneumolysine, neuraminidase, et la hyaluronidase.

-les antigènes capsulaires : ils permettent de différencier le germe en plusieurs sérotypes.

I.7. Caractères biochimiques

Le pneumocoque est : catalase négative, cytochrome oxydase négative, peroxydase négative, ce qui conduit à l'accumulation de peroxyde responsable en partie de son autolyse.

I.8. Propriétés particulières

Des caractères bactériologiques permettent la différenciation de *Streptococcus pneumoniae* des autres streptocoques. La sensibilité à l'optochine (éthylhydrocupréine, dérivé proche de la quinine), la lyse par les sels biliaires (phénomène de Neufeld) et souvent la mise en évidence de la capsule.

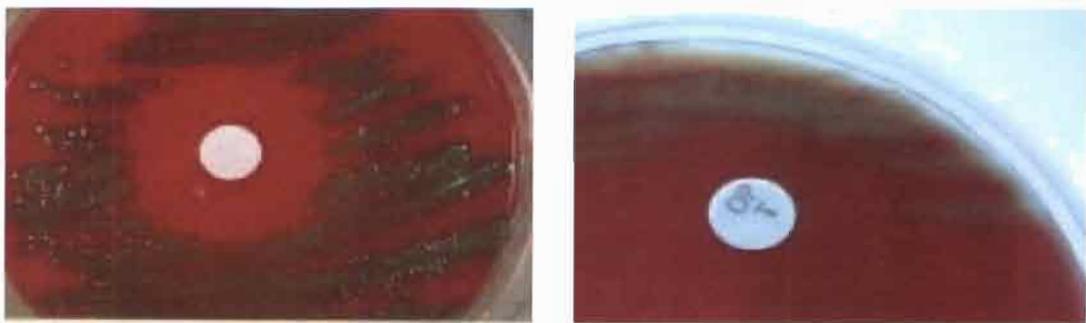


Figure 2: Sensibilité des pneumocoques à l'optochine

Source : www.techmicrobio.eu/index.php/microbio/systematiq.bacterienne/orientation?id=71 ; consulté le 18-05-2016.

II. Infection à *Streptococcus pneumoniae*

II.1. Pouvoir pathogène

Les principaux facteurs de virulence peuvent être divisés en deux groupes : le premier groupe est constitué par des composants de surface de la membrane qui jouent un rôle important au début de l'infection en inhibant la phagocytose. Le deuxième groupe rassemble des composants (polysaccharide lié au peptidoglycane, pneumolysine) qui interviennent à un stade plus tardif de l'infection et qui sont libérés à la suite d'une désintégration des cellules bactériennes provoquée principalement par l'autolysine. Les méningites à pneumocoques surviennent à tout âge mais surtout chez le nourrisson et le vieillard. Elles sont caractérisées par un début brutal foudroyant, des troubles neuro-végétatifs sévères, un syndrome méningé franc. Par ailleurs, les infections pneumococciques sont beaucoup plus fréquentes sur les terrains

particuliers tels que l'insuffisance respiratoire, la bronchite chronique, l'insuffisance cardiaque, le diabète, le cancer, chez les sujets aspléniques, les sujets drépanocytaires et VIH séropositifs, les sujets immunodéprimés, les déficits de l'immunité cellulaire, la corticothérapie, les sujets fragilisés par des infections virales (grippe), l'alcool, etc.

II.2. Epidémiologie

Les épidémies de méningite frappent le plus lourdement l'Afrique subsaharienne, connue pour être la « ceinture de la méningite », une large zone s'étendant du Sénégal jusqu'à l'Éthiopie en passant par le Burkina Faso incluant les pays comme le Soudan, le Mali, le Niger, le Tchad, le Bénin, la Côte d'Ivoire, la Gambie, la Serra Leone, le Togo, le Ghana, la Guinée Bissau, la Mauritanie, le Nigéria et toute l'Afrique Centrale. La population totale exposée au risque est estimée à plus de 500 millions d'habitants. Au Burkina Faso, de 2009 à 2012, les résultats recueillis au niveau de quatre régions à l'ouest ont montré une diminution nette de la létalité qui est passée de 18,68 % (269/1440) en 2009 à 10,69 % (331/3095) en 2012 (MenAfrivac, 2012). Cette décroissance du taux de létalité s'explique par l'introduction du MenAfriVac (Vaccin anti-méningocoque) en 2010 au niveau du Burkina Faso (Ouangraoua et al., 2014).



Figure 3: Carte de la ceinture méningitique

Source : www.astrium.com/news/actualites-sanitaires/fevrier ; consulté le 25-09-2016.

II.3. Problématique actuelle de l'infection à *Streptococcus pneumoniae*

Le Burkina Faso occupe une position centrale en Afrique de l'Ouest, au cœur de la ceinture méningitique et paye un lourd tribut aux épidémies de méningite. Le germe qui était en cause de ces épidémies récurrentes était le méningocoque du groupe A. En 2006, il y'a eu 7524 cas de méningites avec 1125 décès enregistrés (OMS, 2006). Après l'introduction du vaccin conjugué anti-Méningocoque groupe A (MenAfriVac), nous avons constaté une quasi disparition du méningocoque séro groupe A. Malheureusement cette disparition a entraîné l'émergence d'autres germes responsables de méningite comme le *Neisseria meningitidis* W et dû en seconde position à *S. pneumoniae*. Les pneumocoques sont l'une des premières causes de décès chez l'enfant et l'adulte dans les pays en voie de développement, on estime à environ 1,2 millions de morts annuellement chez les enfants en dessous de 5 ans (William et al., 2000). Cependant, jadis sensible à la plupart des antibiotiques, force est de reconnaître que depuis quelques années il y a l'existence de résistance du *S. pneumoniae* à plusieurs antibiotiques. L'une des difficultés du traitement des infections à pneumocoque tient au fait de la prévalence de plus en plus élevée de *S. pneumoniae* résistant aux pénicillines ; alors que celles-ci sont généralement les antibiotiques de premier choix pour le traitement des infections à pneumocoques.

L'augmentation des souches de haut niveau de résistance à la pénicilline pourrait poser à moyen terme un problème. Cet état de fait recommande, une sélection d'antibiotiques sensibles, une surveillance épidémiologique, une utilisation rationnelle des antibiotiques, une réévaluation de la sensibilité aux antibiotiques, pour une bonne utilisation thérapeutique et prophylactique des antibiotiques dans notre pays.

III. Antibiogramme

L'antibiogramme est réalisé dans le but de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également à :

- ❖ la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne ;
- ❖ et à l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

Sa réalisation est laissée à l'initiative du biologiste. L'antibiogramme doit être pratiqué en raison de la qualité, de la densité de l'espèce ou des espèces isolées, soit de l'état clinique du patient ou du siège de l'infection sur les espèces susceptibles d'engendrer un processus

infectieux (arrêté du 30 juillet 1997-J.O. du 12 août 1997 fixant la nomenclature des actes de biologie médicale en France).

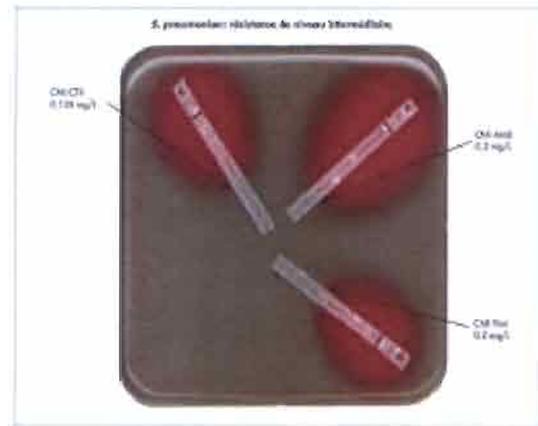
La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) permet de mesurer la sensibilité des souches aux antibiotiques. Elle est définie par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) comme étant la plus faible concentration d'une gamme de dilutions d'antibiotique de demi en demi qui entraîne l'inhibition de toute croissance bactérienne visible. Les méthodes que nous utiliserons pour la déterminer dans notre étude sont, la méthode par diffusion en milieu solide (méthode des disques) et l'E-test (bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique) afin de mener une comparaison.

Les méthodes de diffusion sur disque imprégné d'antibiotiques ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

La détermination précise de la CMI par la méthode de référence (méthode de dilution) est difficilement utilisable en pratique quotidienne. La commercialisation d'une technique rapide et simple, l'E-test permet à un laboratoire une estimation indirecte de la CMI. L'E-test permet de déterminer la CMI grâce à l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu de l'antibiotique à tester. Ce gradient couvre une zone qui, en fonction des molécules, va de 0,016 à 256 mg/L ou de 0,002 à 32 mg/L. L'E-test associe les caractéristiques des méthodes de diffusion et de dilution en milieu solide. Les bandelettes (supports inertes, hydrophobes, de 5 mm de largeur et de 50 mm de longueur) sont appliquées sur la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec un inoculum de la souche à étudier. Après incubation, l'inhibition de la croissance se traduit par une zone d'inhibition appelée « Ellipse » d'où le nom E-test pour dire « Ellipse-test ». Les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI. Une échelle de lecture, imprimée sur la bandelette, permet une interprétation rapide.



(a). Méthode des disques



(b). Etest

Figure 4: Méthodes de réalisation de l'antibiogramme

Source : www.institutpast.nc/observatoire-regional-du-pneumocoque/ ; consulté le 18-05-2016.



DEUXIÈME PARTIE : NOTRE ÉTUDE

I. MATÉRIELS ET MÉTHODES

I.1. Cadre d'étude

Notre étude a été menée à Bobo-Dioulasso, au sein du laboratoire de Bactériologie du Centre MURAZ. Les prélèvements nasopharyngés ont été effectués chez les enfants de Houndé. Il s'agissait de 24 centres de santé de Houndé qui sont : Bahoun, Bansie, Bena, Bombi, Boni centre, Bonsa, Dankari, Djuie, Dombokuy, Dossi, Doufian, Dougoumato, Kari gnekuy, Kari lonkuy, Kongolikan, Koumbia, Makognadougou, Mamboue, Minou, Moukounie, Nematoulaye, Soukourlaye, Wally et Yenou.

I.2. Présentation du Centre MURAZ

Le Centre MURAZ est le centre le plus ancien de l'Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies (O.C.C.G.E.). Créé en 1939 par Gaston MURAZ, il fut rebaptisé du nom de son fondateur en 1960. Il est aujourd'hui un Etablissement Public de Santé (EPS) par décret N° 2006-448 PRES/PM/MS/MFB du 14 septembre 2006, placé sous une double tutelle technique et financière respectivement du Ministère de la Santé et du Ministère des Finances. Doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière, il reçoit une délégation de pouvoir du Ministre en charge de la Santé et du Ministre en charge des Finances.

Le centre est ainsi placé administrativement sous l'autorité du Secrétariat Général du Ministère en charge de la Santé.

La mission principale du centre est de promouvoir la lutte contre les maladies transmissibles à travers:

- ❖ La recherche
- ❖ La formation
- ❖ et l'expertise.

Le nouvel organigramme scientifique

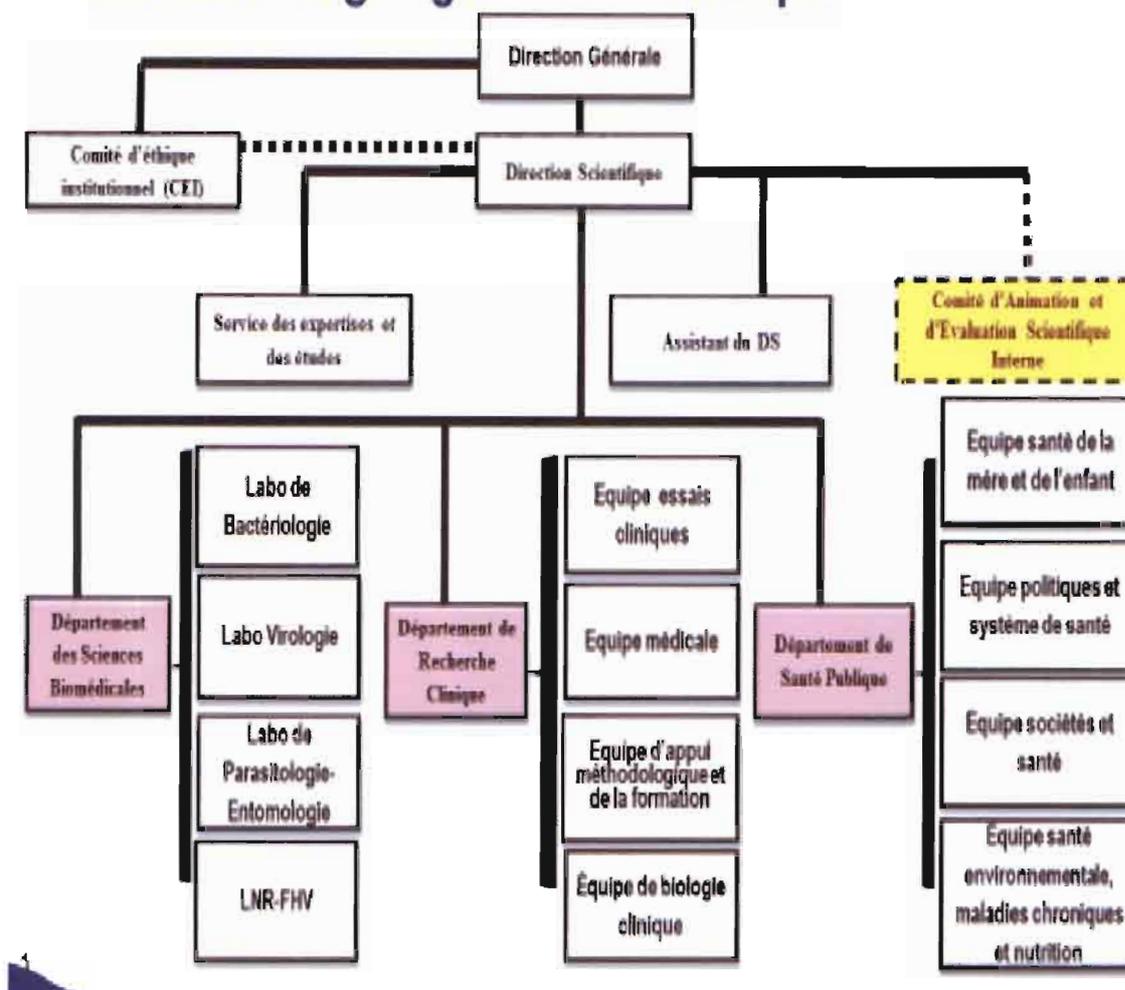


Figure 5: Présentation du nouvel organigramme scientifique du Centre MURAZ, Fév. 2015

↳ Personnels du service de bactériologie du Centre MURAZ

Il est composé de dix agents répartis comme suite : deux biologistes dont un responsable du laboratoire, trois pharmaciens-biologistes et cinq technologistes biomédicaux.

I.3. Population de l'étude

Il s'est agi d'une étude qui a concernée 390 enfants âgés de 0 à 5 ans de Houndé. L'ensemble des prélèvements a été réalisé au niveau des centres de santé de ladite localité.

I.4. Type et période de l'étude

L'étude était du type prospectif et a été réalisée sur une période de six mois allant de Décembre 2015 à Mai 2016.

I.5. Matériels et réactifs de l'étude

L'étude a porté sur des prélèvements nasopharyngés effectués chez des enfants âgés de 0 à 5 ans. Les matériels nécessaires pour ce type de prélèvement étaient :

- Pour le prélèvement
 - Des écouvillons stériles d'alginate de calcium utilisés pour le prélèvement ;
 - Des cryotubes de STGG (Skim milk-Tryptone-Glucose-Glycérol), utilisés comme milieu de transport et de conservation
 - Des cryoboîtes,
 - Des glacières.
- Pour l'identification des souches
 - Du bouillon Todd Hewitt : comme milieux d'enrichissement,
 - De la Gentamycin Blood Agar (GBA) ; milieu gélosé additionné de sang de mouton comme milieu de pousse des souches de pneumocoques
 - Des disques d'optochine, pour l'identification des souches
 - Du désoxycholate de sodium pour mettre en évidence la lyse du pneumocoque par la bile.
- Pour l'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques nous avons utilisé
 - De la gélose Mueller-Hinton (Sanofi Diagnostic Pasteur) additionnée de sang de mouton,
 - Des disques d'antibiotiques (Oxacilline, Azithromycine, Érythromycine, Ceftriaxone, Vancomycine, Norfloxacine),
 - Des bandelettes d'antibiotiques (Azithromycine, Pénicilline, Ceftriaxone),
 - Des souches de référence A.T.C.C pour le contrôle de qualité.

I.6. Prélèvement et analyse au laboratoire

I.6.1. Le prélèvement

Les échantillons nasopharyngés ont été prélevés au niveau du nasopharynx de chaque enfant à l'aide d'un écouvillon stérile d'alginate de calcium. Chaque prélèvement était mis en conservation dans des cryotubes de STGG avant transport. Chaque prélèvement a été identifié

puis enregistré sous la forme d'un numéro anonyme. Les cryotubes étaient rangées dans des cryoboîtes, et placés dans une glacière (4 à 10°C) puis transférés au laboratoire dans les 8 heures au maximum après le prélèvement, accompagnés de la fiche récapitulative des échantillons. Arrivées au laboratoire, les cryoboîtes étaient placées au congélateur à -80°C en attendant leur analyse.

I.6.2. Identification du *Streptococcus pneumoniae*

Chaque prélèvement a été enrichi sur le milieu TODD HEWITT, avant d'être repiqué sur de la gélose au sang frais enrichie à la Gentamicine et mise à incuber à 37°C avec 5% de CO₂ pendant 24 à 48 h. Les colonies de type α (alpha) caractéristiques du pneumocoque ont été identifiées sur la boîte de Pétri en présence de leur hémolyse. La sensibilité à l'optochine a été testée pour les boîtes positives pour confirmation. La mise en évidence de la lyse du pneumocoque par la bile a été nécessaire lorsque la sensibilité à l'optochine était intermédiaire (diamètre compris entre 7 et 14 mm).

I.6.3. Réalisation de l'antibiogramme de *S. pneumoniae*

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion des disques d'antibiotique et par la méthode de diffusion sur bandelette ou E-test. Les antibiogrammes de *S. pneumoniae*, ont été réalisés sur des boîtes de Mueller- Hinton Agar (MHA) enrichies avec 5% de sang de mouton suivant la technique recommandée par le CA-SFM. Une suspension dans l'eau distillée de germes à 0,5 Mac Farland a été ensemencée à l'écouvillon sur le MHA. Des disques d'antibiotique ont été déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes ont été mises à incuber 18 à 24 heures à 37°C avec 5% de CO₂. Les sensibilités ont été évaluées en fonction du diamètre d'inhibition de pousse autour des disques d'antibiotique. Pour le cas spécifique de la détection de la résistance à la pénicilline, l'utilisation des disques d'Oxacilline chargé à 1µg a été utilisé selon les recommandations du CA-SFM 2015. Si le diamètre d'inhibition de pousse autour du disque d'oxacilline était inférieur à 20 mm, la souche était a priori une souche de sensibilité diminuée à la pénicilline et cela sera confirmé en E-test par la pénicilline. Le tableau ci-dessous nous indique le diamètre de chaque antibiotique testé à partir du disque.

Tableau 1: concentrations critiques et diamètres d'interprétation de chaque antibiotique testé

Antibiotiques	Charge du disque	Diamètres critiques (mm) S ≥ R <	
		S	R
Oxacilline	1 µg	≥ 20	< 20
Azithromycine	5 µg	≥ 28	< 25
Érythromycine	15 µg	≥ 29	< 26
Ceftriaxone	30 µg	≥ 28	< 26
Vancomycine	5 µg	≥ 20	< 17
Norfloxacin	10 µg	≥ 21	< 18

N.B: Des disques de Gentamycine ont été déposés dans chaque boîte pour confirmer ou infirmer l'identification car *S. pneumoniae* est naturellement peu sensible à la Gentamycine.

La méthode de diffusion sur bandelette (l'E-test) a consisté comme la méthode de diffusion sur disques, à ensemercer à l'aide d'un écouvillon une suspension de germes à 0,5 Mac Farland sur le MHA. Puis des bandelettes d'E-test pour la pénicilline, l'Azithromycine, et la Ceftriaxone ont été appliquées à la surface des géloses. Les boîtes ont été incubées à 37°C avec 5% de CO₂ pendant 24 heures. Les souches ont été classées en fonction des concentrations critiques hautes et basses proposées par le CA-SFM 2015. Le tableau II montre les concentrations critiques d'interprétation de chaque antibiotique testé en E-test.

Tableau 2: concentrations critiques et CMI d'interprétation de chaque antibiotique testé en E-test

Antibiotiques	Charge	Concentrations critiques (mg/L) S ≤ R >	
		S	R
Pénicilline	15 µg	≤ 0,5	> 2
Azithromycine	10 UI	≤ 0,06	> 2
Ceftriaxone	30 µg	≤ 0,5	> 2

I.7. Conservation des souches de *Streptococcus pneumoniae*

Toutes les souches de *S. pneumoniae* ont été conservées dans des cryotubes de STGG au congélateur à -80°C, en y inoculant de façon stérile des colonies provenant d'une culture fraîche et pure de 18 à 24h.

I.8. Analyse des données

Les données de l'étude ont été saisies et traitées à l'aide du logiciel Excel 2013. Les proportions ont été comparées à l'aide du test statistique khi-2 et le seuil de signification retenu était de $p < 0,05$.

II. RESULTATS

II.1. Données épidémiologiques générales

Au cours de notre étude, nous avons collecté 390 prélèvements nasopharyngés provenant d'enfants âgés de 0 à 5 ans de Houndé. 52% des cas prélevés étaient du genre masculin contre 48% de genre féminin soit un sex-ratio de 1,08. L'âge moyen des enfants était de 29,4 mois avec respectivement un minimum et un maximum allant de 2 mois à 59 mois.

a. Distribution de la population d'étude par village

Les prélèvements ont été effectués dans 24 villages de Houndé, le village Doufian a enregistré le plus bas taux d'échantillons avec 0,3% (n= 1) contre 12,6% (n= 50) pour Koumbia.

Le tableau 3 présente la distribution de la population d'étude par village.

Tableau 3: Distribution de la population d'étude par village

Numéro d'ordre	Noms des villages	Effectifs	Pourcentages
1	Bahoun	15	3,9
2	Bansie	17	4,4
3	Bena	26	6,7
4	Bombi	30	7,7
5	Boni centre	12	3,1
6	Bonsa	8	2,1
7	Dankari	16	4,1
8	Djuie	9	2,3
9	Dombokuy	9	2,3
10	Dossi	42	10,8
11	Doufian	1	0,3
12	Dougoumato	21	5,4
13	Kari gnekuy	12	3,1
14	Kari lonkuy	10	2,6
15	Kongolikan	8	2,1
16	Koumbia	50	12,6
17	Makognadougou	28	7,2
18	Mamboue	11	2,8
19	Minou	6	1,5
20	Moukounie	8	2,1
21	Nematoulaye	37	9,5
22	Soukourlaye	9	2,3
23	Wally	2	0,5
24	Yenou	3	0,8
Total général		390	100,0

b. Distribution de la population d'étude par tranche d'âge

Le tableau 4 donne la distribution de la population d'étude par tranche d'âge. La tranche d'âge dans notre étude la plus représentative était celle de 13 à 24 mois.

Tableau 4: Distribution de la population d'étude par tranche d'âge

Tranches d'âge (mois)	Effectifs (n)	Pourcentages (%)
[0 ; 6]	28	07,2
[7 ; 12]	32	08,2
[13 ; 24]	100	25,5
[25 ; 36]	95	24,4
[37 ; 48]	70	18,0
[49 ; 60]	65	16,7
Total	390	100,0

II.2. Prévalence du portage nasopharyngé de *Streptococcus pneumoniae*

Les analyses bactériologiques faites sur les 390 échantillons collectés ont permis d'isoler 269 souches de *S.p* soit un taux de portage de 69%.

a. Prévalence du portage en fonction du genre

La figure 6 représente la répartition des cas de pneumocoques isolés par genre. Sur les 269 échantillons positifs aux pneumocoques. Le portage était de 52% (140/269) chez les garçons et 48% (129/269) chez les filles. Aucun lien statistique n'a été retrouvé entre le portage et le genre ($p=0,83 (>0,05)$).

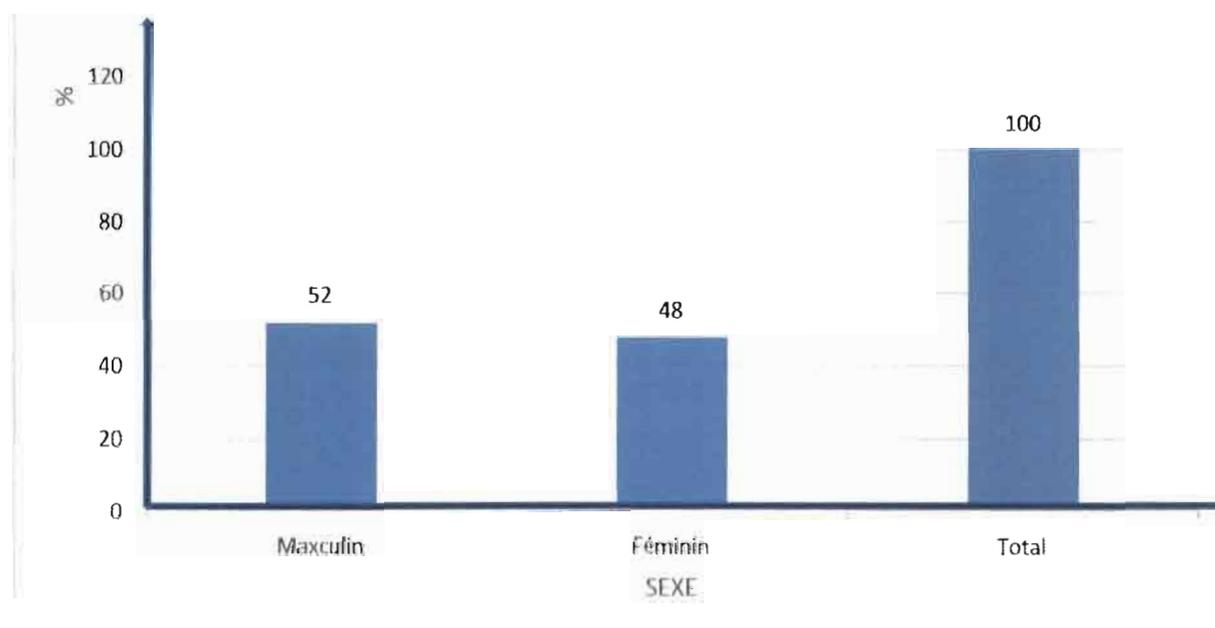


Figure 6: Répartition des pneumocoques isolés par genre

b. Prévalence du portage en fonction de l'âge

Sur les 269 cas confirmés de pneumocoques la tranche d'âge de 13 à 24 mois était celle qui avait le taux de portage le plus élevé avec 28% suivie de la tranche d'âge de 25 à 36 mois avec 26% contre 7% pour les classes [0 ; 6] et [7 ; 12] (Figure 7). Cependant, il n'existe aucune relation entre le paramètre tranche d'âge considéré dans notre étude et le portage de *S.p* ($p=0,06>0,05$).

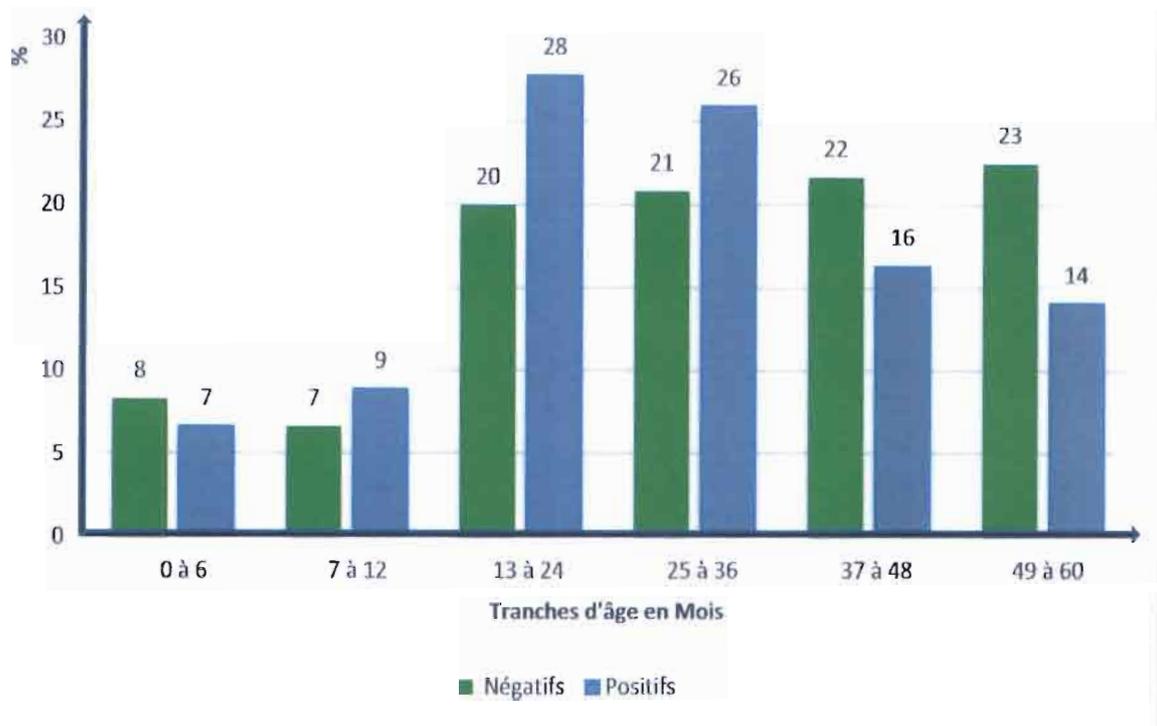


Figure 7: Distribution des pneumocoques par tranches d'âge.

II.3. La sensibilité des pneumocoques isolés aux antibiotiques testés

Le tableau V donne la sensibilité globale aux antibiotiques des germes de pneumocoques isolés de prélèvements nasopharyngés de notre étude. La prévalence des souches de Pneumocoques à Sensibilité Diminuée à la Pénicilline (PSDP) était de 29% (78/269). La sensibilité aux antibiotiques a été en générale excellente pour l'ensemble des souches de pneumocoques isolées. Toutes les souches identifiées au cours de cette étude ont été sensibles à environ 98,6% à la Ceftriaxone et à 100% à la Vancomycine.

Tableau 5: Sensibilité globale des pneumocoques aux différents disques d'antibiotiques testés

	Sensible		Intermédiaire		Résistant		TOTAL	
	n	%	N	%	N	%	n	%
OXACILLINE	191	71	0	0	78	29	269	100
AZITHROMYCINE	217	81	7	3	45	16	269	100
ERYTHROMYCINE	219	82	5	2	45	16	269	100
CEFTRIAZONE	265	98,6	2	0,7	2	0,7	269	100
NORFLOXACINE	254	94	0	0	15	6	269	100
VANCOMYCINE	269	100	0	0	0	0	269	100

II.3. Résultats comparés des deux méthodes utilisées pour l'antibiogramme

Trois antibiotiques ont été utilisés sur disques et bandelette (E-test) d'antibiotiques pour les comparer en termes de sensibilité, il s'agissait de l'Azithromycine versus Azithromycine, la Ceftriazone versus Ceftriazone et la Pénicilline versus Oxacilline. Le tableau 6 représente la tendance des résultats de chacun des antibiotiques obtenus par les deux méthodes.

Tableau 6: Résultats comparés des deux méthodes utilisées pour l'antibiogramme

E-teste vs* Disque	Sensible		Intermédiaire		Résistant	
	n	%	n	%	n	%
PENICILLINE	209	77,7	59	21	1	0,3
vs						
OXACILLINE	191	71	00	00	78	29
AZITHROMYCINE	222	83	0	00	47	17
vs						
AZITHROMYCINE	217	81	3	1	49	18
CEFTRIAZONE	267	99,4	1	0,3	1	0,3
vs						
CEFTRIAZONE	265	98,6	2	0,7	2	0,7

* = *Versus*

Les résultats de l'antibiogramme par les deux méthodes utilisées étaient dans l'ensemble approximatifs. Les taux de sensibilité de Pénicilline vs Oxacilline ; de l'Azithromycine (E-test) vs Azithromycine (disques) et de Ceftriazone (E-test) vs Ceftriazone (disques) étaient respectivement de 77,7% contre 71% ; 83% contre 81% ; et 99,4% contre 98,6%.

III. DISCUSSION

III.1. Prévalence du *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae est une cause fréquente d'infections respiratoires de l'enfant, d'otites moyennes aiguës, de sinusites ou de méningites. Notre étude a montré que le taux de portage de *S. pneumoniae* chez les enfants de Houndé était de 69%. Ces résultats observés restent nettement élevés, comparativement à certaines études antérieures comme celle de Huebner et coll. à Johannesburg (Afrique du sud) qui retrouvait 39,9% de souches en portage de pneumocoques chez les enfants (Huebner et al., 2000) et 50,6% à Bobo-Dioulasso rapporté par Bere et coll. (Bere et al., 2005). La forte prévalence du portage de pneumocoque chez les enfants de cet âge s'explique par le fait que le vaccin conjugué contre le sérotype A a été introduit en décembre 2010 au Burkina Faso. En effet, avant cette date le méningocoque A était le principal germe en cause d'épidémies de méningite bactérienne aiguë au Burkina Faso. L'introduction du vaccin conjugué anti méningococcique A a entraîné depuis lors une chute drastique des cas de *Neisseria meningitidis* du groupe A au Burkina Faso et malheureusement a contribué à l'émergence de nouveaux germes par changement de l'écologie bactérienne : augmentation des cas dus à *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* sérotype W et surtout *Neisseria meningitidis* sérotype C. Ce vaccin conjugué confère également une immunité de groupe entraînant donc une protection du portage du *Neisseria meningitidis* du groupe A. et entraînant donc une émergence du pneumocoque non seulement en portage mais également dans les infections respiratoires.

III.2. Sensibilité du *S. pneumoniae* aux disques antibiotiques testés

Les souches de pneumocoques isolées au cours de notre étude ont été testées aux disques d'antibiotiques suivants:

- Oxacilline, pour la recherche des PDSP
- Azithromycine et Erythromycine utilisés couramment dans le traitement ou la prévention des infections respiratoires
- La Ceftriaxone utilisés couramment dans le traitement des infections respiratoires
- La Norfloxacine et la vancomycine utilisées en seconde intention de traitement.

Dans notre étude 29% des souches de Pneumocoques étaient de Sensibilité Diminuée à la Pénicilline (PDSP). En Côte d'Ivoire un taux plus élevé de PSDP de 58,2% a été trouvé (Edoh et *al.*, 2000). Par contre Benbachir et *coll.* en Tunisie (Benbachir et *al.*, 2001) et au Maroc (Bellabest et *al.*, 2000)avaient obtenus des taux plus bas, respectivement 6% et 20%. De plus en plus d'études rapportent actuellement l'augmentation des souches de PDSP qui s'expliquent par la forte consommation de cet antibiotique aussi bien en ambulatoire qu'en milieu hospitalier (antibiotique de choix dans le traitement des infections respiratoires). Les pneumocoques restent encore sensibles à la Ceftriaxone (environ 98,6%) et est actuellement l'antibiotique de choix dans le traitement des infections respiratoires aux germes de streptocoques.

Une prévalence de 16% de souches résistantes à l'Erythromycine et à l'Azithromycine a été observée dans notre étude. Des résultats légèrement en baisse ont été trouvés par Bere et *coll.* en 2000 qui nous rapportait une prévalence de souches résistantes à l'Erythromycine de 14% (Bere et *al.*, 2005). *S.pneumoniae* reste toujours sensible à cette classe d'antibiotique (Macrolides) et peut donc être utilisée dans le traitement des affections à *S. pneumoniae*. Contrairement à nos résultats, l'équipe de Vergnaud en France rapportait un pourcentage de souches résistantes à l'Erythromycine de 40% (Vergnaud et *al.*, 2003).

Dans notre étude 6% de nos souches étaient résistantes à la Norfloxacin (Vergnaud et *al.*, 2003) retrouvaient 6,8% de souches résistantes à la Norfloxacin en 2007 ceci corrobore avec nos résultats. Cela nous indique que les pneumocoques restent encore sensibles aux quinolones (famille à laquelle appartient la Norfloxacin), Il en est de même pour la Vancomycine dans notre étude. Ces antibiotiques pourraient être utilisés comme molécule de seconde intention en cas de résistance aux antibiotiques couramment utilisés.

III.3. Comparaison des résultats des deux techniques

L'E-test est une méthode diffusion sur bandelette permettant, comme la méthode des disques, d'apprécier la sensibilité d'un germe à un antibiotique. Dans notre étude nous avons comparé les méthodes de diffusion sur disques et sur bandelette (E-test) pour les molécules : Azithromycine et Erythromycine *versus* Azithromycine (E-test), la Ceftriaxone *versus* Ceftriaxone (E-test) et l'Oxacilline *versus* Pénicilline (E-test).

Les résultats de la sensibilité aux antibiotiques de cette comparaison des deux techniques pour l'ensemble des antibiotiques étaient assez concordants. Ces résultats étaient respectivement de

77,7% vs 71% pour la pénicilline oxacilline : de 83% vs 81% pour l'Azithromycine et de 99,4% vs 98,6% pour la Ceftriaxone: Néanmoins nous retrouvons de rares discordances qui pourraient s'expliquer par le fait que la méthode des disques serait influençable par certaines variables donc possibilité d'erreurs liées aux manipulations (le dépôt des disques sur la boîte, la lecture du diamètre, etc.), la qualité du disque, la conservation des disques et la possibilité de réactions entre les différents disques.

Par ailleurs, ces résultats viennent confirmer sous forme d'un control de qualité, de la qualité des résultats des disques que le laboratoire de bactériologie du centre produit du fait du faible pourcentage de discordance, tout antibiotique confondu. La technique du E test, technique de référence pour l'interprétation des sensibilités n'étant pas à la portée de nos laboratoires, les disques d'antibiotiques restent encore le test de choix. Guillou conclut en ces termes que l'E-test est bien plus précis que la méthode de diffusion en milieu gélosé mais force est de reconnaître que son coût de réalisation est élevé (Guillou, 2006) donc difficilement réalisable en routine.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude a montré un taux de portage élevé (69%) du *Streptococcus pneumoniae* chez les enfants de Houndé âgés de 0 à 5 ans. En Novembre 2016, le Burkina Faso a introduit le vaccin conjugué PCV13 dans son programme élargi de vaccination (PEV) qui devrait voir une réduction dans les prochaines années du portage ainsi que les infections respiratoires aiguës dues au pneumocoque.

Par ailleurs nos résultats sur la sensibilité aux antibiotiques donnaient des taux de sensibilité relativement acceptables comprise entre 71 et 100 %. La proportion des PSDP restaient encore basse par rapport à d'autres pays tels que la Cote d'ivoire et la France.

En outre, la comparaison entre les méthodes de diffusion sur disques et sur Bandelettes (E-test) utilisées pour la réalisation de l'antibiogramme a donné des résultats relativement concordants. Ceci nous encourage dans l'utilisation du disque d'antibiotique au vu de l'inaccessibilité des bandelettes pour nos laboratoires à ressources limitées.

Au regard des résultats de notre étude, nous envisageons des perspectives pour approfondir la réflexion sur la question du portage du pneumocoque qui sont :

- déterminer les sérotypes des souches de pneumocoque isolées dans la tranche d'âge concerné par le PEV.
- séquencer des souches pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques et de détecter d'éventuels nouveaux clones.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Avril J.C. Bactériologie clinique. Paris : Ellipse; 1992.
2. Barakett DL.V, Delisle F, Richard G, Vergez P, Petit J.C. Activité bactériostatique et cinétique de la bactéricidie de huit antibiotiques vis à vis de sept souches de pneumocoques résistants à la pénicilline G. Bull. Soc. Pathol. Exot. 1992;40(5):483-91.
3. Bellabesh E, Redouani A & Benbachir H. Sérotype et sensibilité aux antibiotiques des pneumocoques isolés au CI-IR de Casablanca entre 1994 et 1997. Maroc Méd. 2000;22:265-7.
4. Benbachir M, Bendjesb S & Saddal B. Surveillance of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*. An A Chem. 2001;45:627-629.
5. Bere L.C, Simpore J.K, Traoré A.S, Dosso M et al. . Profil de résistance de *Streptococcus pneumoniae* chez les enfants de 0 à 5 ans dans la ville de Bobo-Dioulasso au Burkina Faso en 2000. Rev Bio-Afr. 2005;2:77-84.
6. Bergey DH, Harrison, F.C, Breed, R.S, Hammer, B.W & Huntoon, F.M. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1st ed., The Williams & Wilkins Co, Baltimore. 1923:442 p
7. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2015. France : CA-SFM ;2015 [En ligne]. 2015 [consulté le 30 mai 2016]. Disponible: <http://www.sfm.asso.fr>
8. Cohen VE.R, Geslin P. Résistance du pneumocoque en pédiatrie. Presse Méd. 1993;22:893-5.
9. Edoh V , Tia H & Oulai S.M. Sensibilité à la pénicilline G des pneumocoques isolés des méningites et implication thérapeutique au CHU de Treichville, Abidjan. Bull Soc Pathol Exot. 2005;98(1):9-10.
10. Guillou ML.J. Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie. Réanimation 15. 2006;237-240.
11. Hansman BH.D. A resistant pneumococcus. Boston: Lancet; 1967.
12. Huebner RE, Wasas AD. Klugman KP. Prevalence of nasopharyngeal antibiotic-resistant pneumococcal carriage in children attending private paediatric practices in Johannesburg. S Afr MedJ. 2000;90(11):1116-21.
13. Introduction du nouveau vaccin conjugué contre la méningite « A » au Burkina, au Mali et au Niger. Phase 1. Afrique: MenAfriVac; 2012.

14. Le Minor L, Veron M. Bactériologie Médicale. Paris: Méd. Science Flammarion; 1989.
15. Musher D.M, Groover JE, Watson DA, Breiman RF. Antibody emergence to capsular polysaccharides. *S pneumoniae* during outbreaks of pneumonia : Association with nasopharyngeal colonization. Clin Infect Dis. 1997;24 : 441-6.
16. Organisation mondiale de la santé. Méningococcie en Afrique (ceinture de la méningite): saison épidémique 2006. Genève: OMS; 2006 [En ligne]. 2006 [consulté le 25 mai 2016]. Disponible: http://www.who.int/csr/don/2006_03_21/fr/index.html.
17. Ouangraoua S, Schlumberger M, Yaro S, Ouédraogo A.S, Sanou S, Drabo A, Yaméogo T.M, Ouedraogo R. Impact d'un vaccin conjugué antiméningococcique « A » sur les méningites bactériennes notifiées à l'ouest du Burkina Faso (2009-2012). Bull. Soc. Pathol. Exot. 2014;107:27-30.
18. Raymond J, Cohen R, Moulin F, Gendrel D, Berche P. Facteurs influençant le portage de *Streptococcus pneumoniae*. Ed. paris.fr. 2000;27:127-8.
19. Syrogiannopoulos G.A, Grivea L.N, Beratis N.G, DE R. Groot and Hermans P.W.M. Molecular Epidemiology of penicillin susceptible, multidrug-resistant serotype 6B pneumococci isolate from children in Greece. JCM. Feb 2001;39(2):581-5.
20. Vergnaud SB.M, Brun M, Cattier B, Chanal C, Chardon H, Chomar M, Croizé J, Demachy M.C, Dupont P, Fosse T, Grignon B, Laurans G, Maugein J, Murbach V, Péchinot A, Ploy MC, Prère MF, Delvallez MR, Thoreux PH, Vauce J, Véronique, Garnier V, Weber M. Observatoires régionaux du pneumocoque : analyse de la résistance aux antibiotiques et des sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* en France en 2001. BEH. 2003;37:173-6.
21. William P Hausdorff JB, Peter R Paradiso, George R Siber. Which Pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: Implications for conjugate vaccine formulation and use, part I. Clinical Infectious Diseases. 2000;30:100-21.
22. Znazen SA.A, Mnif B, Zouari M, Mezghani S, Mahjoubi F, Smaoui H, Boutiba I, Kechrid I, Redjeb S, Hammami A. Résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en Tunisie : Etude multicentrique. Presse Méd. 2006;56:125-9.

ANNEXES

En annexe : Les résultats des prélèvements nasopharyngés par village

	Villages	Négatifs	Positifs	Total
1.	Bahoun	2	13	15
2.	Bansie	2	15	17
3.	Bena	10	16	26
4.	Bombi	14	16	30
5.	Boni centre	2	10	12
6.	Bonsa	1	7	8
7.	Dankari	6	10	16
8.	Djuie	3	6	9
9.	Dombokuy	4	5	9
10.	Dossi	10	32	42
11.	Doufian	0	1	1
12.	Dougoumato	8	13	21
13.	Kari gnekuy	3	9	12
14.	Kari lonkuy	4	6	10
15.	Kongolikan	4	4	8
16.	Koumbia	17	32	50
17.	Makognadougou	7	21	28
18.	Mamboue	3	8	11
19.	Minou	2	4	6
20.	Moukounie	1	7	8
21.	Nematoulaye	13	24	37
22.	Soukourlaye	3	6	9
23.	Wally	1	1	2
24.	Yenou	0	3	3
Total général		120	269	390

FIN