

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

I- Caractères généraux des streptocoques	2
II- Taxonomie	2
III- Identification	2
III-1- Caractères morphologiques	3
III-2- Caractères culturels	3
III-3- Caractères antigéniques	4
III-4- Caractères biochimiques	5
IV- Sensibilité aux antibiotiques	7
V- Caractères de <i>Streptococcus pyogenes</i>	7
V-1- Historique	7
V-2- La bactérie	8
V-2-1- Constituants somatiques	8
V-2-2- Produits extracellulaires	10
V-2-3- Identification microbiologique ou caractères morphologiques	11
VI- Epidémiologie	12
VII- Manifestations cliniques	12
VIII- Rappel sur les antibiotiques	13
VIII-1- Définition d'un antibiotique	13
VIII-2- Classification des antibiotiques testés	14
VIII-2-1- Les bêta-lactamines	14
VIII-2-2- Les macrolides	16
VIII-2-3- Les kétolides	17
VIII-2-4- Les lincosamides	21
VIII-2-5- Les fluoroquinolones	21
VIII-2-6- Les cyclines	22

DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL

Cadre de l'étude	24
Matériel et réactifs	24
II-1- Matériel utilisé pour les prélèvements	24
II-2- Matériel utilisé pour l'isolement	24
II-3- Matériel pour l'identification	25
II-4- Matériel pour l'antibiogramme	25

II-5- Matériel pour la conservation des souches	26
II-6- Préparation des milieux de culture	28
Méthodes	28
III-1- Modalités de prélèvements	28
III-2- Technique de l'examen bactériologique	29
III-2-1- Examen macroscopique	29
III-2-2- Examen microscopique	29
III-2-3- Isolement	29
III-2-4- Identification	30
III-2-4-1- Test au latex (Pastorex Strep)	30
III-2-4-2- Identification biochimique	31
III-2-5- Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	34
III-2-5-1- Antibiogramme standard par la méthode des disques	34
III-2-5-2- Détermination des CMI's par E-test	35
III-2-5-3- Antibiotiques testés	36
III-2-5-4- Lecture et interprétation	36
III-2-6- Conservation des souches bactériennes de streptocoque du groupe A	37
III-2-7- Evaluation de la qualité des milieux liquides préparés	39

TROISIEME PARTIE : RESULTATS

I- Répartition des différents prélèvements	41
II- Résultats des prélèvements en fonction de la culture	42
III- Résultats de la sensibilité des souches de <i>Streptococcus pyogenes</i>	45
III-1- Sensibilité à la téliclithromycine	47
III-2- Sensibilité à la lévofloxacine	48
III-3- Sensibilité aux autres molécules	48
III-3-1- Sensibilité à la pénicilline G	48

III-3-2- Sensibilité à la tétracycline	48
III-3-3- Sensibilité à l'érythromycine	48
III-3-4- Sensibilité à la clindamycine	49
 QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION	
I- Souches étudiées	51
II- Méthode de diffusion en milieu gélosé	51
III- Sensibilité générale des souches aux antibiotiques	52
III-1- Sensibilité aux kétolides (téolithromycine)	52
III-2- Sensibilité aux fluoroquinolones (lévofloxacin)	53
III-3- Sensibilité autres molécules	53
III-3-1- Sensibilité aux bêta-lactamines (pénicilline G)	53
III-3-2- Sensibilité aux cyclines (tétracycline)	54
III-3-3- Sensibilité aux macrolides (érythromycine)	55
III-3-4- Sensibilité aux lincosamides (clindamycine)	55
III-4- Comparaison de l'activité des molécules testées	56
III-5- Prise en charge des infections respiratoires et ostéo-articulaires	57
III-5-1- Aspects curatifs	57
III-5-2- Aspects préventifs	57
 RECOMMANDATIONS	 59
 CONCLUSION	 62
 BIBLIOGRAPHIE	 64
 INTRODUCTION	

Les nombreuses études sur les souches streptococciques en particulier celles des streptocoques du groupe A se justifient par la grande place qu'elles occupent en pathologie infectieuse humaine et vétérinaire tant par la gravité et la fréquence que par les complications dont elles sont responsables.

Dans ce groupe A, *Streptococcus pyogenes* représente le type même de bactérie pathogène chez l'homme et est responsable de nombreuses infections aiguës dont certaines lui sont spécifiques (angine).

Cependant face à l'augmentation du nombre de *Streptococcus pyogenes* retrouvés dans les isollements de produits pathologiques d'origine rhinopharyngée, la nécessité d'une utilisation d'antibactériens, tels que les antibiotiques s'avère indispensable.

Ainsi, depuis leur usage en thérapeutique, la sensibilité de certaines bactéries a beaucoup évolué de sorte que la proportion de souches résistantes est importante.

Outre le siège de l'infection, l'identité et la sensibilité de la bactérie responsable doivent être connues pour un bon choix d'antibiotiques.

Le but de ce travail est l'étude de la sensibilité des souches de streptocoques isolées à partir de produits pathologiques de manière à faire un choix judicieux d'antibiotiques éradiquant le maximum de bactéries et aussi à déceler les molécules révélant une résistance.

Deux molécules sont particulièrement visées dans cette étude à savoir la télicycline et la lévofloxacine.

Cette étude s'articule sur quatre parties :

- première partie : généralités
- deuxième partie : travail personnel
- troisième partie : résultats
- quatrième partie : discussion

II- Caractères généraux des streptocoques

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif groupés en paire ou en chaînettes, de longueur variable, catalase négative, aéro-anaérobies facultatifs, à métabolisme fermentaire.

II- Taxonomie

Leur position taxonomique a évolué depuis la dernière édition du Bergey's Manual de 1996 dans laquelle hardie décrivait le genre *Streptococcus*. Les techniques de biologie moléculaire ont permis à Schleifer et Kilpper-Balz (93) de proposer l'éclatement du genre *Streptococcus* en genres *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Lactococcus*.

Les espèces commensales ou pathogènes rencontrées chez l'homme ou l'animal se retrouvent dans les premiers genres.

III- Identification

Les Streptocoques autres que *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, entérocoques et streptocoques du groupe D comportent une diversité d'espèces pathogènes chez l'homme et chez l'animal. Ces différentes espèces ne peuvent pas être reconnues sur leur séro groupe, car un même séro groupe peut être retrouvé dans des espèces différentes, ni sur leur caractère hémolytique , car une même espèce peut avoir des propriétés hémolytiques variables.

Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de comparer le matériel génétique des bactéries et de ne pas les classer sur une similitude phénotypique.

Une homologie de séquence d'ADN supérieure ou égale à 70 % est requise pour définir une espèce.

En pratique, l'identification d'une espèce repose sur l'étude d'un ensemble de caractères morphologiques, culturels, antigéniques et biochimiques.

III-1- Caractères morphologiques

Ce sont des cocci à Gram positif, en chaînettes plus ou moins longues (figure 1). Un halo clair entourant les cocci et correspondant à une capsule peut être observé chez *Streptococcus pneumoniae*.



Figure 1: Aspect des streptocoques au Gram (68)

III-2- Caractères culturels

Les caractéristiques de la croissance orientent le diagnostic : aéro-anaérobies facultatifs, ils ne possèdent ni catalase, ni cytochrome oxydase. Leurs exigences de culture sont complexes (vitamines, acides aminés, bases puriques et pyrimidiques). Le milieu de choix est la gélose au sang et l'optimum thermique est 37 °C. La culture à des températures d'incubation inférieure ou supérieure permet la différenciation avec les genres *Lactococcus* et *Enterococcus*. La présence de CO₂ ou l'atmosphère anaérobie sont pour certaines espèces indispensables à la primoculture. La tolérance aux concentrations salines élevées est caractéristique du genre *Enterococcus*, dont les espèces sont par ailleurs moins exigeantes.

L'aspect des colonies sur gélose au sang est un critère important dans l'identification : leur taille est petite ; leur action sur les hématies peut être de trois types :

- destruction totale des globules rouges : hémolyse bêta
- transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine se traduisant par un halo de verdissement caractérisant l'hémolyse de type alpha ;
- pas de modification des hématies : hémolyse gamma

Les streptocoques donnant ces deux derniers types d'hémolyse sont appelés streptocoques viridans.

III-3- Caractères antigéniques

La classification sérologique de Lancefield permet la reconnaissance des groupes A à H et L à U. L'antigène spécifique est le polysaccharide C, sauf pour les groupes D et N (acide teichoïque).

La subdivision en types de certaines espèces est basée sur la spécificité de la protéine M. La recherche a un intérêt épidémiologique et physiopathologique.

La spécificité des polysaccharides capsulaires permet le typage sérologique de *S. agalactiae* et *S. pneumoniae*. La recherche de ces polysaccharides à l'aide d'antisérums spécifiques peut être une aide au diagnostic (recherche d'antigènes solubles).

III-4- Caractères biochimiques

La recherche d'enzymes spécifiques à l'aide de divers substrats permet de définir des profils biochimiques qui caractérisent les espèces.

La classification des streptocoques en différentes espèces est donnée dans le tableau I.

Tableau I : classification des streptocoques (68)

Espèces	Hémolyse	Groupe de Lancefield	Hôte	Habitat
Streptocoques pyogènes				
<i>S. pyogenes</i>	β	A	Homme (animal±)	Rhinopharynx, peau, intestin
<i>S. agalactiae</i>	β	B	Homme(animal)	Vagin
<i>S. equi subsp</i> <i>Zoo</i> <i>epidimicus</i>	β	C	Animal	
<i>S. dysgalactiae</i>	β	C	Animal	
<i>S. equisimilis</i>	NH	C, G ou L	Animal	
<i>S. canis</i>	β	C ou G	Animal	
<i>S. intestinalis</i>	β	G	Animal	
<i>S. porcinus</i>	β	G ou ng	Animal	

<i>S. uberis</i>	β	E, P, UV ou G	Animal	
<i>S. parauberis</i>	NH	ng	Animal	
<i>S. iniae</i>	β	ng	Animal	
<i>S. hyointestinalis</i>	β	ng	Animal	
Streptocoques du groupe D				
<i>S. bovis</i>	NH	D ou ng	Homme(animal)	Intestin
<i>S. equinus</i>	NH	D ou ng	Animal	
<i>S. alactolyticus</i>	NH	D ou ng	Animal	
Streptocoques oraux				
<i>S. gordonii</i>	NH	H ou ng	Homme (animal)	Rhinopharynx
<i>S. sanguis</i>	NH	H ou ng	Homme (animal)	Rhinopharynx
<i>S. parasanguis</i>	NH	F ou ng	Homme (animal)	Rhinopharynx
<i>S. mitis</i>	NH	KO ou ng	Homme(animal)	Rhinopharynx
<i>S. oralis</i>	NH	ng	Homme (animal)	Rhinopharynx
<i>S. adiaes</i>	NH	ng	Homme (animal)	Rhinopharynx
<i>S. defectivus</i>	NH	H ou ng	Homme (animal)	Rhinopharynx
<i>S. pneumoniae</i>	NH	ng (substance C)	Homme (animal)	Rhinopharynx
<i>S. anginosus</i>	NH	ACFG ou ng	Homme (animal)	Rhinopharynx, intestin
<i>S. constellatus</i>	NH	ACFG ou ng	Homme	Rhinopharynx, intestin
<i>S. intermedius</i>	NH	ng	Homme	Rhinopharynx, intestin
<i>S. mutans</i>	NH	E ou ng	Homme	Dents
<i>S. rattus</i>	NH	ng	Animal	
<i>S. cricetus</i>	NH	ng	Animal	

chromosomique ou de l'acquisition de matériel génétique.

X- Caractères de *Streptococcus pyogenes*

V-1- Historique

Dès la fin du siècle dernier, les streptocoques étaient reconnus responsables d'érysipèle, d'infections de plaies et d'infections puerpérales.

En 1884, Rosenbach créait l'appellation de *Streptococcus pyogenes*. *S. pyogenes*, streptocoque bêta-hémolytique du groupe A, représente le type même de bactérie pathogène chez l'homme. Il est responsable d'infections diverses et de gravité variable (109). Cette diversité clinique et évolutive exprime la multiplicité des facteurs de virulence sécrétés par la bactérie. *S. pyogenes* est également responsable de deux pathologies non suppuratives : glomérulonéphrite aiguë et surtout rhumatisme articulaire aigu (RAA).

Bien que depuis l'avènement de la pénicilline , les infections streptococciques aient beaucoup perdu de leur gravité et de leur fréquence dans les pays industrialisés, des cas de RAA et d'infections graves à *S. pyogenes* étaient réapparus depuis la fin des années 1980, aussi bien aux Etats Unis qu 'en Europe (58).

V-2- La bactérie

S. pyogenes se différencie des autres streptocoques par les caractères biochimiques et antigéniques du polysaccharide de sa paroi qui est un dimère de rhamnose et N-acétyl-glucosamine. Un grand nombre de constituants somatiques et de produits extracellulaires rendent compte de la virulence de la bactérie.

V-2-1- Constituants somatiques (figure 2)

- La **protéine M** est le principal facteur de virulence : les bactéries riches en protéine M résistent à la phagocytose et se multiplient rapidement dans le sang. Les variations antigéniques de cette protéine sont à l'origine des sérotypes : plus de 80 sérotypes ont ainsi été reconnus. Des études récentes ont permis de préciser la structure et les fonctions de cette protéine (42).

Figure 2: Structure de la protéine M (68)

Certains sérotypes sont plus souvent responsables d'infections graves ou de manifestations post-streptococciques. La production par génie génétique des protéines M définissant ces sérotypes laisse entrevoir la possibilité de vaccins contre les sérotypes de streptocoques les plus dangereux pour l'homme (14).

- Une **capsule** d'acide hyaluronique entoure la paroi du streptocoque. Comme la protéine M, elle exerce un effet antiphagocytaire. Les colonies bactéries entourées d'une volumineuse capsule prennent un aspect mucoïde sur gélose au sang. Les souches mucoïdes de *S. pyogenes* riche en protéine M sont à l'origine d'infections sévères et contagieuses.

L'acide lipotéichoïque de la paroi joue un rôle déterminant dans l'interaction hôte-bactérie au niveau de l'étape initiale de la colonisation. Il représente une adhésion permettant à la bactérie de se fixer sur la fibronectine qui recouvre les cellules épithéliales de la cavité buccale (10).

S. pyogenes exprime à sa surface une variété d'autres facteurs dont le rôle pathogène reste mal connu. Parmi eux, une lipoprotéinase et un récepteur pour le Fc des IgG ou des IgA, retrouvés en proportions variables selon l'origine cutanée ou pharyngée du streptocoque (13).

V-2-2- Produits extracellulaires

S. pyogenes synthétise un grand nombre de toxines extracellulaires (111). Parmi celles-ci, la streptolysine O, La désoxyribonucléase B et la hyaluronidase induisent la production d'anticorps qui permettent un diagnostic d'infection récente à *S. pyogenes*.

***S. pyogenes* produit deux hémolysines qui sont des toxines cytolytiques : les streptolysines O et S. La streptolysine O fait partie de la famille des cytolysines labiles en présence d'oxygène (d'où le « O »), produites par les bactéries à Gram positif comme le pneumocoque, certaines clostridies et *Listeria monocytogenes*. Cette toxine lyse les membranes cellulaires des érythrocytes, mais aussi d'une grande variété de cellules de mammifères dont les polynucléaires et les plaquettes. Le cholestérol des membranes cellulaires représente le site de fixation de la toxine.**

La streptolysine S est produite par le streptocoque en présence de sérum (d'où le « S »). Comme la précédente, cette toxine lyse une grande variété de membranes cellulaires y compris celles des protoplastes bactériens (contrairement à la streptolysine O). Elle n'est pas labile en présence d'oxygène et est responsable de l'hémolyse observée sur gélose au sang. La streptolysine S n'est pas immunogène. La majorité des souches produit les deux hémolysines, rarement une seule, voire aucune (111).

D'autres produits extracellulaires pourraient faciliter l'invasivité de *S. pyogenes*. Les plus importantes sont les désoxyribonucléases A, B, C et D, la hyaluronidase et la streptokinase.

V-2-3- Identification microbiologique ou caractères morphologiques

S. pyogenes présente la morphologie classique des streptocoques : cocci à Gram positif, groupés en chaînettes plus ou moins longues. Il cultive en 24 heures sur gélose au sang à 5 %, en donnant des colonies opaques de 2 mm de diamètre, entourées d'une zone d'hémolyse complète (bêta) et large (2 à 4 fois la taille de la colonie). Certaines propriétés culturales et métaboliques permettent son identification ; la sensibilité à la bacitracine (disque à 0,04 U), la résistance à l'optochine, la résistance au cotrimoxazole observée sur gélose trypticase soja au sang de mouton, l'absence de culture en milieu salé, l'absence d'hydrolyse de l'esculine, la positivité de l'hydrolyse de la L-pyrrolidinyl-bêta-naphtylamide sont caractéristiques de cette espèce.

L'appartenance au séro groupe A de Lancefield est un élément essentiel de l'identification de *S. pyogenes*. L'agglutination de particules de latex recouvertes d'anticorps spécifiques du polyside A permet de déterminer le séro groupe à partir des cultures ou directement à partir d'un prélèvement pharyngé.

Comme caractères culturels, le streptocoque A présente des exigences nutritives complexes. Son isolement se pratique sur gélose au sang de cheval ou de mouton et les colonies de streptocoque A sont entourées d'une grande zone d'hémolyse totale de type bêta. Toutefois, l'appellation « streptocoque hémolytique » ne peut être considérée comme synonyme de groupe A.

XI- Epidémiologie

Le principal réservoir de *S. pyogenes* est nasal et pharyngé. Cette bactérie est retrouvée dans la gorge à l'état de simple portage chez 15 à 25 % des enfants, moins fréquemment chez l'adulte (15). La peau saine ne représente pas

un réservoir important de *S. pyogenes*. ; par contre, le germe peut être retrouvé au niveau de dermatoses (71). Une autre source est anale ou vaginale (110). L'environnement (habits, literie, etc.) pourrait également représenter un réservoir potentiel mais dont le rôle épidémiologique reste mineur. La transmission du streptocoque est le plus souvent interhumaine directe, favorisée par la promiscuité, ce qui explique la survenue d'épidémies dans des collectivités d'enfants ou de militaires.

Une transmission digestive a pu être responsable d'épidémies d'angines streptococciques d'origine alimentaire (22). La transmission aérienne par pollution de l'air ambiant a été responsable d'infections nosocomiales, de plaies chirurgicales, telle une épidémie où le réservoir de streptocoque était représenté par des lésions psoriasiques du cuir chevelu d'une personne transitant dans la salle d'opération (71).

XII- Manifestations cliniques

S. pyogenes est à l'origine d'infections diverses telles que :

- otites moyennes aiguës et chroniques
- infections respiratoires hautes et basses
- sinusites
- bronchites
- infections de la peau et des tissus mous
- infections ostéo-articulaires, etc.

- Angine streptococcique

Les angines à streptocoque bêta-hémolytique A dominent la question depuis 40 ans non du fait de leur fréquence – 10 à 20 % des cas chez l'adulte, jusqu'à 50 % des cas chez l'enfant – mais à cause du souvenir des complications cardiaques rhumatismales (6).

L'affection touche principalement les enfants de 5 à 15 ans sans prédilection de sexe avec un pic de fréquence en saison froide.

- Infections aiguës non spécifiques

Il entraîne de nombreuses infections cutanées (surinfections d'eczéma, de plaies et de brûlures), ainsi que des vaginites, salpingites, phlegmons, abcès, otites, adénites, pouvant entraîner une septicémie ou une méningite.

- Infections aiguës spécifiques

L'érysipèle et la scarlatine sont deux infections aiguës spécifiques des streptocoques du groupe A, qui s'accompagnent de manifestations infectieuses générales. Cependant les streptocoques du groupe C et G auraient été isolés de cas de scarlatine.

- Complications post-streptococciques

Des épidémies limitées de rhumatisme articulaire aigu ou de glomérulonéphrite aiguë surviennent au décours de certaines épidémies d'infections à streptocoque A (exceptionnellement à streptocoque C ou G pour le RAA). La chorée de Sydenham ainsi que l'érythème noueux post-streptococcique sont également des manifestations secondaires.

XIII- Rappel sur les antibiotiques (30, 45, 85, 87)

VIII-1- Définition d'un antibiotique

En bactériologie médicale, une définition plus large est retenue :

Les antibiotiques sont des composés chimiques élaborés par un micro-organisme ou produit par synthèse et dont l'activité spécifique se manifeste à dose faible sur les micro-organismes (95).

Les antibiotiques utilisables en thérapeutique sont très nombreux et ils sont regroupés en familles selon leur structure chimique. Chaque antibiotique est caractérisé par son spectre d'activité qui correspond aux différentes espèces

bactériennes susceptibles d'être sensibles à son action. Selon les antibiotiques, le spectre est limité ou large.

VIII-2- Classification des antibiotiques testés

VIII-2-1- Les bêta-lactamines (68, 103)

Ils constituent une grande famille d'antibiotiques, la plus importante par le nombre et la diversité des molécules utilisables, par ses indications, les plus larges qui puissent être attribuées à une famille d'antibiotiques, en raison des propriétés pharmacologiques et du spectre car rares sont les espèces bactériennes qui échappent à l'une ou l'autre des molécules.

Toutes les bêta-lactamines disposent d'une structure commune, le cycle bêta-lactame (hétérocycle à cinq atomes) formant l'acide 6-amino-pénicillanique (6-APA) pour les pénicillines, le noyau 7-amino-céphalosporanique (7-ACA) pour les céphalosporines. Avec l'addition de radicaux variés, a été réalisée la constitution de nombreuses molécules.

Parmi les bêta-lactamines, sont distingués :

- Pénames
 - pénicillines du groupe I :
 - pénicilline G (injectable IM – IV)
 - benzylpénicilline sodique
 - benzylpénicilline potassique
 - phénoxy méthyl pénicilline (pénicilline V)
 - pénicillines du groupe II
 - pénicilline du groupe III
 - carboxybenzylpénicilline
 - associations avec inhibiteurs de bêta-lactamases
- Carbapénèmes

- Inhibiteurs de bêta-lactamases
- Monobactames
- Céphèmes
 - céphalosporines proprement dites
 - céphamycines
 - oxa-céphèmes
 - carba-céphèmes

Parmi les molécules citées ci-dessus, seule la pénicilline G a été testée dans notre étude.

Parmi les espèces habituellement sensibles, est noté *Streptococcus pyogenes*, espèce pathogène pour chez l'homme.

Elle est indiquée dans les infections dues aux germes sensibles, notamment dans les manifestations respiratoires, ORL, cutanées, etc.

Les bêta-lactamines inhibent en général la synthèse du peptidoglycane, constituant de la bactérie. La synthèse de cette paroi peut être schématisée en trois étapes :

- la première aboutit à la formation de l'unité de base UDP-acétyl-muramyl pentapeptide et se déroule à l'intérieur de la cellule.
- La seconde permet le passage par un système de transporteurs lipidiques à l'intérieur de la membrane cytoplasmique de ce glucopentapeptide et de la formation de liaisons covalentes avec les éléments pré-existants de la paroi.
- La troisième aboutit à une réaction de transpeptidation qui permet la formation de ponts peptidiques entre les chaînes latérales pentapeptidiques des molécules linéaires du peptidoglycane formé.

C'est cette dernière étape qui est inhibée par les bêta-lactamines. Une transpeptidase permet la séparation de la dernière D-alanine et la liaison de la précédente à la glycine terminale de la chaîne latérale du pentapeptide voisin. En

présence de pénicilline, cette réaction ne se fait pas. Une accumulation de matériel fibreux, visible se produit dans la zone de croissance de la bactérie, qui pourrait correspondre au peptidoglycane linéaire. En fait, très rapidement, a été aperçue que l'inhibition de la synthèse de la paroi peut être traduite par la mort, suivie de la lyse de la bactérie. C'est ainsi que le comportement des souches de streptocoques A vis-à-vis de la pénicilline G a été confirmé par la littérature.

La pénicilline G occupe une place réelle dans la thérapie depuis son insertion dans le marché et a été indiquée en première intention en l'absence de toutes manifestations allergiques.

VIII-2-2- Les macrolides (27, 52, 61, 63, 64, 84, 100, 101)

La famille des macrolides forme une classe d'antibiotiques assez homogène sur le plan de la structure et du spectre antibactérien.

Elle comprend une vingtaine de molécules lipophiles caractérisées par un noyau central lactonique composé de 12 à 16 atomes avec peu ou pas de doubles liaisons et pas d'azote endocyclique. Un ou plusieurs sucres aminés et/ou neutres sont fixés par des liaisons alpha ou bêta-glycosidiques sur l'aglycone.

Les macrolides ont pour chef de file l'érythromycine, isolée en 1952 de *Streptomyces erythreus*.

Avant 1990, l'érythromycine était bien établie comme antibiotique efficace dans le traitement des infections causées par des germes Gram positif ou des cocci Gram négatif.

Elle est prescrite comme antibiotique de second choix aux patients allergiques aux pénicillines et à ses dérivés, en cas de contre-indication aux tétracyclines et enfin, aux patients ambulatoires souffrant d'infections respiratoires, cutanées, etc.

Parmi la vingtaine de molécules que compose cette famille, seule l'érythromycine a été testée dans cette étude.

C'est un antibiotique inhibiteur bactériostatique de la synthèse protéique. Elle se lie au ribosome 70S et plus précisément à leur fraction ou sous-unité 50S. Elle inhibe également la synthèse des protéines ARN-dépendantes et bloque le site P. Son efficacité thérapeutique dépend essentiellement du temps pendant lequel la concentration en antibiotique au site d'infection reste supérieur à la CMI. Son activité est également augmentée à pH alcalin, car sa pénétration à travers la paroi bactérienne est la meilleure lorsqu'elle est non ionisée. La fonction aminée sur un sucre (désosamine) lui confère un caractère basique responsable de son accumulation cellulaire entraînant ainsi la mort des bactéries.

VIII-2-3- Les kétolides (21, 92) (voir schémas 1 à 4)

L'émergence de souches de *Streptococcus pneumoniae* et de *Streptococcus pyogenes* résistantes à l'érythromycine A pour conséquence l'hémisynthèse de nouveaux dérivés de type macrolide qui permettent de contourner l'inactivité de l'érythromycine A et de ses dérivés.

Les kétolides sont des dérivés obtenus par hémisynthèse à partir de l'érythromycine A, qui se caractérisent par l'absence de L-cladinose en position 3 de l'aglycone, d'une fonction 3-céto et d'une chaîne latérale originale conférant une grande activité antibactérienne.

Un dérivé est actuellement en développement : HMR 3647. Il se caractérise par sa chaîne carbamate substituée en C11-C12. L'absence de L-cladinose est responsable de la grande stabilité en milieu acide (100 % d'activité en milieu acide, pH 1), de son activité sur les souches résistantes à l'érythromycine A par un mécanisme de type MLS_B inductible et de l'absence d'induction d'une résistance pour les autres macrolides.

La télithromycine incluse dans cette famille des kétolides est l'unique molécule testée malgré le large spectre antibactérien des HMR 3647.

Il inhibe la synthèse des protéines en agissant au niveau des domaines II et V des ribosomes, contrairement à l'érythromycine A qui n'agit qu'au niveau d'un seul domaine.

Elle agit sur le ribosome :

- soit par inhibition de la synthèse protéique : la peptidyl transférase de la fraction ribosomale de l'ARN 23S constitue la cible de la télithromycine (ainsi que celle de l'érythromycine).
- soit par une déplétion ribosomale au niveau des deux sous-unités 30S et 50S (seulement 50S pour l'érythromycine).

Ces données ont été confirmées par plusieurs publications qui rapportent que la télithromycine manifeste une haute activité thérapeutique dans diverses infections induites par des germes autres que *Streptococcus pyogenes*.

Il convient également de noter que l'efficacité de la télithromycine s'explique par sa structure moléculaire ($C_{43}H_{64}N_5O_{10}$) de poids moléculaire 812,03 possédant ainsi :

- une fonction 3-céto qui entraîne une non-induction de la molécule MLS et est active sur les cocci à Gram positif possédant le gène *erm*.
- Une fonction 6-méthoxy qui évite l'inactivation de la fonction 3-céto.
- Une chaîne C_{11} - C_{12} carbamate (21) qui augmente l'affinité pour les ribosomes, améliore l'activité antibactérienne sur les bactéries à Gram positif et aussi diminue l'impact de la résistance par efflux.

Schéma 1: structure de la télithromycine (21)

Schéma 2 : Premier mécanisme d'action de la télithromycine (21)

Schéma 3 : Second mécanisme d'action de la télithromycine (21)

Schéma 4 : Relation entre les macrolides et télithromycine (21)

VIII-2-4- Les lincosamides (60, 88, 100, 101)

D'activité bactérienne proche de celle des macrolides, les lincosamides sont de structure chimique différente : ils comportent un acide aminé, un sucre reliés entre eux par une liaison amide.

La lincomycine a été isolée en 1962 à partir de la fermentation de *Streptomyces lincolnensis* var. *lincolnensis* et un dérivé 7-chloro-lincomycine a été synthétisé, la clindamycine.

Ont été commercialisées à usage humain, la lincomycine et la clindamycine, puis la pirlimycine à usage vétérinaire.

Ces molécules possèdent une activité antibactérienne et dans une certaine mesure, une activité antiprotozoaire.

Parmi les trois molécules citées ci-dessus, seule la clindamycine a été testée.

C'est un antibiotique inhibiteur bactériostatique de la synthèse des protéines. Elle inhibe la transpeptidation au niveau des chaînes polypeptidiques en voie de formation.

VIII-2-5- Les fluoroquinolones

Les 4-quinolones comprennent deux types de molécules, selon qu'elles soient ou non substituées par un atome de fluor en position 6 (fluoroquinolones).

Deux classifications ont été décrites : chimique et biologique.

- Classification chimique :

Quatre groupes peuvent être décrits en fonction de la structure associée au noyau pyridone bêta-carboxylique : mono-, bi-, tri- ou tétracycliques.

Les molécules à usage thérapeutique sont regroupées dans les groupes 1 et 2. Ce dernier peut être subdivisé en deux sous-groupes en fonction du noyau bicyclique : quinoléine ou 1,8-naphthyridone.

Le groupe 3 comprend des molécules à usage thérapeutique comportant un noyau tricyclique de type 6,7 (acide oxolinique), mais surtout de type 1,8 (ofloxacin, lévofloxacin, rifloxacin, etc.).

- Classification biologique :

Les 4-quinolones peuvent être classées en fonction de leur spectre antibactérien et de leur métabolisation en quatre sous-groupes.

Les groupes 1 et 2 comportent des molécules dont le spectre antibactérien est limité à certaines espèces d'entérobactéries et les groupes 3 et 4 sont composés de dérivés ayant un large spectre antibactérien.

Parmi ces différentes molécules classées en quatre groupes, seule la lévofloxacinine a été testée.

La lévofloxacinine est la première fluoroquinolone de troisième génération à avoir été approuvée au Canada en janvier 1998. Elle est l'isomère lévogyre de l'ofloxacinine.

Son efficacité est due au fait qu'elle inhibe la gyrase de l'ADN, une enzyme essentielle à la réplication de l'ADN bactérien. Par conséquent, elle exerce un bon effet sur les streptocoques, notamment *Streptococcus pyogenes*, y compris les souches résistantes à la pénicilline G.

VIII-2-6- Les cyclines (25, 28, 29, 51, 62, 65, 99, 113)

Les tétracyclines constituent une famille d'antibiotiques développée entre 1948 et 1972. Les premiers dérivés furent la chlortétracycline (ou auréomycine) et l'oxytétracycline (terramycine) d'origine naturelle produits par *Streptomyces aureofaciens* et *Streptomyces rimosus*, suivis par tétracycline et diméthylchlortétracycline . Ensuite ont été obtenus les dérivés semi-synthétiques : méthacycline, doxycycline et minocycline, classés comme tétracycline de deuxième génération.

D'autres dérivés semi-synthétiques ont été réalisés surtout dans le but de vaincre la résistance bactérienne aux anciens dérivés, mais ils n'ont pas pu être introduits en clinique en raison de leur toxicité.

Malgré l'existence de nouveaux dérivés semi-synthétiques (les glycylicyclines), la tétracycline a été la seule molécule testée.

Elle a été produite en 1953 par halogénéation de la chlortétracycline. En raison de leur large spectre et de la rareté des effets indésirables graves après leur administration orale chez l'adulte, la tétracycline a été utilisée de manière abusive dans le traitement d'infections ne nécessitant pas un diagnostic. De nombreuses souches de Streptocoques du groupe A sont devenues résistantes.

Dans l'espoir de réduire ce pourcentage, la tétracycline est prescrite dans le traitement d'infections sexuellement transmissibles, de pneumonies atypiques et syphilis, respectivement causées par *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma pneumoniae* et *Treponema pallidum*.

La tétracycline inhibe la synthèse protéique en se liant de façon réversible à la sous-unité 30S du ribosome. Cette liaison empêche la fixation du complexe ARN de transfert – acide aminé au complexe ribosome – ARN messager. Les tétracyclines, en général, sont concentrées dans les bactéries par un mécanisme de pénétration transmembranaire actif. Cependant, trois mécanismes ont été évoqués pour expliquer la résistance des streptocoques A vis-à-vis de la tétracycline :

- l'efflux, c'est-à-dire le transport actif de la tétracycline hors de la cellule par des protéines transmembranaires.
- La protection ribosomique dans laquelle une protéine cytoplasmique empêche l'inhibition de la machinerie de synthèse protéique par la tétracycline.
- La modification chimique, nécessitant oxygène et NADPH.

Du fait de l'auto-médication et de son utilisation abusive, l'efficacité antibactérienne de cette famille des cyclines a tendance à régresser

MATERIEL ET METHODES

Cadre de l'étude

Le travail a été effectué sur une période de cinq mois au laboratoire de Bactériologie-virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec.

L'étude a porté sur 37 souches de *Streptococcus pyogenes* provenant d'échantillons de pus d'oreille, de plaies, de prélèvements de gorge.

Les souches de *S. pyogenes* portant sur notre étude provenaient :

- d'infections respiratoires hautes et basses

- d'otites
- d'angines
- et de plaies suppuratives

Matériel et réactifs

II-1- Matériel utilisé pour les prélèvements

- Ecouvillons en coton stériles
- Aspirateur
- Tubes à hémolyse
- Seringues

II-2- Matériel utilisé pour l'isolement

- Anse de platine
- Bec Bunsen
- Boîtes de Pétri
- Tubes à hémolyse
- Eau distillée
- Portoirs
- Autoclave
- Jarre + bougie ou billes génératrices de CO₂
- Gélose au sang de mouton additionnée d'acide nalidixique et de colistine
- Bouillon streptosel
- Bouillon trypticase soja
- Gélose Mueller-Hinton

Obtention de la gélose au sang frais

La poudre de Mueller-Hinton est mélangée avec un volume d'eau approprié et chauffé pour permettre la dissolution de la poudre. Il est porté à l'autoclave, à 120 °C pendant 20

minutes, puis refroidi à 45 - 50 °C. Le sang de mouton est ajouté à 5 % et homogénéisé. La répartition se fait en boîtes de Pétri en évitant les bulles d'air.

Ce milieu est utilisé aussi bien pour l'isolement que pour la réalisation de l'antibiogramme des souches de *S. pyogenes*.

II-3- Matériel pour l'identification

- Test au latex
- Galerie Micro CSB streptocoques
- API streptocoque
- Embouts stériles
- Micropipettes
- Tubes à hémolyse

II-4- Matériel pour l'antibiogramme

- Disques d'antibiotiques
- Eau physiologique stérile
- Gélose au sang de mouton
- Souches viables de 24 heures
- Ecouvillons stériles
- Pincettes

II-5- Matériel pour la conservation des souches (figure 3)

- Lait écrémé + glycérol à 10 %
- Bouillon cœur-cervelle + glycérol à 10 %
- Cryotubes Nunc[®]
- Tubes avec billes pour la conservation

Figure 3: Conservation de souches bactériennes par la méthode de longue durée

II-6- Préparation des milieux de culture

Le milieu de Mueller-Hinton est vendu dans le commerce, plus souvent sous forme de poudre déshydratée. La composition du milieu, correspondant à la formule chimique, doit être mentionnée sur l'étiquette de la boîte. La poudre est mélangée à un volume d'eau approprié et chauffée pour dissoudre la poudre. Le milieu préparé est autoclavé 15 minutes à 120 °C, refroidi, additionné de sang et coulé en boîte de Pétri.

Méthodes

III-1- Modalités de prélèvements

La règle fut le respect rigoureux des conditions d'asepsie et de stérilité. Les prélèvements ont été accompagnés d'une fiche de renseignements indiquant :

- nom et prénom
- âge et sexe
- diagnostic

- service et médecin traitant

De préférence, ces prélèvements doivent être effectués en dehors de tout traitement ou après une fenêtre thérapeutique.

Les prélèvements peuvent se présenter sous forme d'écouvillons contenus dans un tube à hémolyse stérile ou bien le prélèvement (pus) est recueilli directement dans un tube stérile.

III-2- Technique de l'examen bactériologique

III-2-1- Examen macroscopique

Le prélèvement pouvait revêtir plusieurs aspects. Il pouvait être sous forme de liquides limpides, sanguinolents, muco-purulents, parfois avec une odeur caractéristique. Quelque soit l'origine du prélèvement, étaient toujours noté son aspect, son odeur et sa couleur.

III-2-2- Examen microscopique

L'aspect du prélèvement a orienté l'examen microscopique. Un état frais a été effectué sur les échantillons liquides et la lecture a été faite au microscope en vue d'observer :

- les polynucléaires
- les lymphocytes
- les cellules épithéliales
- les parasites

- les éléments levuriformes et filaments mycéliens

Puis les lames ont été colorées au Gram.

Si le prélèvement était d'aspect concentré par exemple un pus d'otite ou d'abcès, était effectué directement une coloration de Gram.

La lecture a été effectuée au microscope, à l'objectif X100. Puis a été notée la flore bactérienne (présence de cocci à Gram positif).

III-2-3- Isolement

Après la coloration de Gram, l'examen microscopique des lames a révélé la présence de cocci en chaînettes longues (plus de six éléments).

Ainsi le prélèvement a été ensemencé sur GSN. La boîte de Pétri a été incubée à l'étuve, à 37 °C pendant 24 heures et en présence de 5 % de CO₂. Après examen macroscopique de la culture, les types d'hémolyse (hémolyse bêta) et l'aspect des colonies (transparentes et translucides) ont été notés.

III-2-4- Identification

Au bout de 24 heures, l'observation des boîtes de culture, la lecture de la coloration de Gram, les caractères biochimiques et antigéniques ont permis d'identifier l'espèce recherchée.

III-2-4-1- Test au latex (Pastorex Strep)

Pastorex Strep est un test d'agglutination rapide et sensible des streptocoques bêta hémolytiques appartenant aux principaux groupes de Lancefield. Il comporte des suspensions de latex permettant d'identifier les groupes A, B, C, D F et G. L'identification des streptocoques bêta-hémolytiques sur la base des polysaccharides spécifiques de groupe nécessite au préalable

l'extraction de ces antigènes à partir des colonies isolées en primoculture sur gélose au sang. Le système réalise cette extraction en 15 minutes à la température ambiante ou en 10 minutes à 37 °C à l'aide d'une enzyme active qui lyse les parois cellulaires et permet la mise en solution du polyside C. En présence de l'antigène, les particules de latex recouvertes des anticorps homologues s'agglutinent très rapidement.

La sensibilité des différentes suspensions de latex conditionne la rapidité d'apparition des agglutinats ; elle est due à la qualité des antisérums obtenus chez le lapin par le protocole d'immunisation de Lancefield et aux quantités optimales d'immunoglobulines purifiées adsorbées sur les particules de latex.

- Mode opératoire

• Préparation des échantillons

Ce test s'applique aux colonies isolées sur gélose au sang et entourées d'une zone d'hémolyse bêta.

L'observation de cocci à gram positif à l'examen microscopique et une recherche de catalase négative ont permis de poursuivre l'identification par un groupage direct s'il a été noté un nombre suffisant de colonies isolées en primoculture.

• Préparation des extraits

Placer 0,3 ml de solution d'enzyme d'extraction dans un tube à hémolyse pour la souche à identifier.

Prélever environ 5 colonies et les dissocier dans l'enzyme.

Incuber 15 à 45 minutes à la température ambiante.

• Identification du groupe A

Remettre en suspension le flacon contenant le latex en l'agitant énergiquement pendant quelques secondes.

Déposer une goutte du latex dans le cercle de la carte d'agglutination.

A l'aide d'une pipette, placer une goutte d'extrait dans le cercle.

Homogénéiser le contenu du cercle à l'aide d'un bâtonnet.

Si plusieurs cercles sont remplis, utiliser des bâtonnets distincts afin d'éviter une contamination.

Agiter la carte selon un mouvement orbital pendant un maximum d'une minute.

Effectuer la lecture.

Une réaction positive se traduit par l'agglutination des particules de latex dans un délai maximum d'une minute. La taille des particules des agglutinats et la rapidité de leur apparition dépendent de la concentration antigénique de l'extrait.

- **Interprétation des résultats**

Réaction + : apparition d'agglutinats rouges sur fond vert

Réaction - : suspension homogène brune

Réactions non spécifiques : faibles agglutinats sur fond brun.

Eventuelles agglutinations multiples pouvant être dues à d'autres bactéries prélevées sur la gélose en même temps que les colonies bêta-hémolytiques. Une identification biochimique permettra de confirmer l'identification de certaines souches possédant à la fois les antigènes des groupes C et G par exemple.

III-2-4-2- Identification biochimique

Galerie CSB Streptocoques

- Principe

C'est une microméthode d'identification . Elle consiste à ensemencer des plaques présentant des cupules qui renferment des substrats déshydratés destinés à la mise en évidence d'activités enzymatiques ou d'assimilation des substrats carbonés en milieu approprié (fermentation) ou hostile.

Ces puits sont ensemencés avec un inoculum qui reconstitue le milieu. Après incubation, la lecture des réactions est effectuée directement ou après addition de réactifs de révélation.

- **Mode opératoire**

Préparer une suspension bactérienne de turbidité égale à celle de l'étalon 4 de MacFarland dans 1 ml d'eau distillée stérile avec une boîte entière de culture de 24 heures sur gélose au sang (par écouvillonnage) – et utiliser deux boîtes si des pneumocoques sont suspectés ou une culture de 48 heures pour les espèces à colonies naines.

Distribuer environ 3 à 4 gouttes d'inoculum bactérien (remplissant la moitié de la cupule, environ 100 µl) par cupule, de VP à BHS.

Verser le reste de la suspension bactérienne dans 1 ml de MEVAG streptocoque et mélanger.

Ensemencer les cupules de ARA à GLY avec le MEVAG ainsi inoculé (environ 100 µl par cupule).

Fermer les cupules ADH et tous les sucres avec 2 gouttes d'huile de paraffine.

Incuber à 37 °C sous un plateau recouvert de papier buvard imbibé d'eau.

Lire après 4 heures puis après 18 heures d'incubation.

L'identification se fait à l'aide d'un tableau de lecture (voir ci-dessous).

Tableau II : Lecture de la galerie CSB Streptocoques

Tests	Substrats	Réactions Enzymes	Réactifs à ajouter	Résultats positifs	Résultats négatifs
VP	Glucose + pyruvate	Production d'acétoïne	1 goutte de KOH 1 goutte de déhydratine	Rose Rouge	incolore

			1 goutte de naphthol		
ESC	Esculine	Bêta-blucosidase		Noir	incolore
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase		Rouge	Jaune
BHS	Glucose	Croissance en milieu hypersalé		Jaune	Violet
ARA	L-arabinose				
MAN	Mannitol				
SOR	Sorbitol				
TRE	Tréhalose				
RAF	Raffinose	Fermentation		Jaune	Rouge
SOS	Sorbose				
INU	Inuline				
LAC	Lactose				
AMD	Amidon				
GLY	glycérol				

III-2-5- Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

III-2-5-1- Antibiogramme standard par la méthode des disques

- **Principe**

La méthode de diffusion en milieu gélosé a permis la détermination de la sensibilité des agents bactériens (*S. pyogenes*).

- **Mode opératoire**

A partir d'une culture jeune de 18-24 heures, préparer une suspension de 1 à 2 colonies dans un milieu liquide de 1 à 1,5 ml et incuber pendant quelques minutes. Les colonies prélevées pour la réalisation de la suspension doivent être identiques de la bactérie à tester.

La suspension réalisée a une opacité correspondant à celle produite par le tube 0,5 –1 MacFarland.

Ensemencer les boîtes contenant la gélose au sang par écouvillonnage. Au préalable, plonger l'écouvillon stérile dans l'inoculum, puis essorer.

Ecouvillonner le milieu gélosé suivant trois directions différentes par une simple rotation.

Laisser sécher les boîtes à la température ambiante pendant 15 minutes avant l'application des disques d'antibiotiques.

Disposer les disques sur la gélose à 20 mm du bord de la boîte, en appuyant légèrement pour assurer le contact avec la gélose. Opérer à l'aide d'une pince stérile.

Placer les boîtes à l'étuve en présence de CO₂ pendant 24 heures.

- Lecture

La culture bactérienne s'arrête lorsqu'elle rencontre une concentration égale à sa Concentration minimale inhibitrice (CMI). Pour chaque disque d'antibiotique, mesurer le diamètre de la zone d'inhibition avec une règle graduée ou un pied à coulisse. La mesure du diamètre des zones d'inhibition permet de mesurer la CMI de chaque antibiotique, grâce à des abaques donnant la relation diamètre – CMI.

Suivant la valeur du diamètre obtenu, la souche étudiée est sensible, intermédiaire ou résistante.

III-2-5-2- Détermination des CMIs par E-test

La détermination de la CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes. La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber dans un milieu toute culture visible de souche étudiée.

Le E-test est une technique de détermination de la CMI fondée sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini de

l'antibiotique à tester, couvrant une zone continue de 0,016 à 256 mg/l ou de 0,002 à 32 mg/l.

Le E-test combine les caractéristiques des méthodes de diffusion et de dilution en milieu solide.

- **Préparation de l'inoculum**

Cf antibiogramme standard par la méthode des disques

- **Ensemencement**

Cf antibiogramme standard

- **Application des bandelettes**

Les bandelettes sont des supports inertes, hydrophobes de 5 mm de large et de 80 mm de long. Elles sont appliquées sur la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la souche à étudier.

Assurer un bon contact entre la bande et la gélose.

Placer les boîtes de Pétri à l'étuve en présence de CO₂ pendant 24 heures.

- **Lecture**

Après incubation, l'inhibition de la croissance bactérienne se traduit par la présence d'une ellipse dont le point d'intersection avec la bandelette définit la CMI.

Une échelle de lecture sur la surface supérieure de la bandelette permet une lecture facile et rapide.

III-2-5-3- Antibiotiques testés

En disques :

- macrolides :

- érythromycine
- clindamycine
- quinolones : lévofloxacin
- kétolides : télithromycine
- tétracyclines : tétracyclines
- Bêta-lactamines : pénicilline G

En E-test :

- pénicilline G

III-2-5-4- Lecture et interprétation

L'efficacité d'un traitement antibiotique dépend du taux d'antibiotique présent au foyer infectieux ; ce taux doit être supérieur ou au moins égal à la CMI de la bactérie responsable et dépend lui-même des concentrations sériques, donc de la posologie.

En fonction de la CMI, la souche est classée en trois catégories :

- une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique capable de l'inhiber (CMI) est trop élevée pour être atteinte in vivo, quelque soit le traitement.
- Une souche est dite « sensible » lorsque la CMI est nettement inférieure à la concentration obtenue avec un traitement a dose usuelle.
- Si la CMI de l'antibiotique testé se situe entre ces deux extrêmes, la sensibilité de la bactérie est dite « intermédiaire » : la bactérie ne pourra pas être atteinte si l'antibiotique est administré à doses usuelles ; mais elle pourra l'être par un traitement par voie générale à hautes doses s'il est possible (risques toxiques), ou par voie locale, ou encore si l'infection siège en des organes où l'antibiotique peut être physiologiquement concentré (organes d'excrétion).

III-2-6- Conservation des souches bactériennes de streptocoque du groupe A

Il existe deux méthodes qui se distinguent par la durée de survie des bactéries sous certaines conditions de conservation :

- méthode de courte durée
- méthode de longue durée

Quelque soit le choix, il est indispensable de suivre les impératifs qui régissent la réussite de cette manipulation. Les règles observées sont les suivantes :

- ne conserver qu'une souche pure
- ne jamais conserver en milieu liquide pour éviter le développement des mutants
- garder la souche dans les conditions favorables à sa multiplication
- éviter les repiquages et faire les subcultures sur plusieurs colonies
- prévoir enfin toutes les mesures nécessaires pour la conservation de l'isolement

Méthode de longue durée

Elle reste la plus utilisée avec nos souches à étudier.

La congélation à de basses températures (à -20°C et à -70°C) a été utilisée et la conservation a été effectuée à partir d'une culture pure de 24 heures, avec 1,8 à 2 ml de milieu nutritif adapté dans un cryotube.

Les cryotubes ont été convenablement rangés dans un portoir et immédiatement placés à la température de -20°C et /ou -70°C . Ainsi les bactéries se conservent pendant très longtemps.

En cas de besoin, la décongélation a été effectuée très rapidement à la température ambiante et par vortex et les cryotubes ont été remis immédiatement à la congélation après utilisation.

Les tubes avec écouvillon ont été conservés à – 70 °C et ceux avec billes ont été gardés pendant 3 à 4 jours à – 20 °C puis à – 70 °C.

Dans cette étude, la méthode de conservation de longue durée a demeuré la seule méthode utilisée. Elle a réduit de façon considérable la perte des souches gardées pendant plusieurs années et a convenu aussi à la grande majorité des bactéries.

Règles d'étiquetage

La conservation des souches a été effectuée avec certaines règles d'étiquetage. Mentionner sur le tube :

- l'origine de la souche (HALD, IP, HP, IHS) ou le numéro de lot pour les souches de référence
- La date de conservation
- Le nom de la souche
- Le numéro et la nature du prélèvement
- Le milieu utilisé
- Le code de la souche

III-2-7- Evaluation de la qualité des milieux liquides préparés

Lorsqu'un lot de milieu était préparé, il était nécessaire de s'assurer de l'efficacité et de la stérilité des différents milieux.

Stérilité

Un millilitre de chaque milieu préparé a été déposé dans des tubes à hémolyse stériles qui ont été ensuite incubés à 37 °C pendant 24 heures. En l'absence de trouble, de virage de l'indicateur coloré et en l'absence de coloration, les milieux ont été considérés comme stériles.

Efficacité

Le milieu considéré ainsi comme stérile doit faire l'objet d'une étude en ce qui concerne sa capacité à donner un résultat positif avec une souche dont le caractère correspondant est positif et à donner un résultat négatif si ce caractère est négatif pour une souche donnée.

Pour chaque caractère biochimique, une souche de référence a été choisie comme contrôle positif et une autre comme contrôle négatif.

Pour les streptocoques, la souche de référence la plus utilisée a été *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

IV- Répartition des différents prélèvements

Dans le cadres de notre étude, nous avons analysé 37 souches venant de patients d'âge et de sexe différents à l'aide des microplaques CSB et du test au latex. *S. pyogenes* a été le seul germe recherché.

La majorité de nos prélèvements provenaient des infections ostéo-articulaires (plaies) et quelques rares étaient des prélèvements de gorge (voir tableau ci-dessous).

Tableau III: Répartition des souches dans les différents prélèvements

Nature des prélèvements	Nombre de prélèvements	<i>S. pyogenes</i>
Gorge	17	++
Plaies	18	+++
Oreilles	2	+

Le groupe le plus représentatif des patients était des externes.

Sur les 37 prélèvements analysés, nous avons retrouvé *S. pyogenes* le plus souvent associé à *Staphylococcus aureus*, d'où l'utilisation de milieu sélectif et ceci a été rencontré dans plus de la moitié des prélèvements, et surtout dans ceux d'origine ostéo-articulaire.

Vu la rareté de ce germe, nos prélèvements étaient collectés dans différents hôpitaux : HALD, HPD et IPD. Cette rareté a été confirmée par le nombre de souches qui est de 37.

Tableau IV : Répartition des souches en fonction des hôpitaux

Services	Nombre de souches	Pourcentage
HALD	32	86,49 %
IPD	04	10,81 %
HPD	01	2,70 %
Total	37	100 %

V- Résultats des prélèvements en fonction de la culture

Plusieurs prélèvements ont été ensemencés sur GSN (gélose au sang additionnée d'acide nalidixique), utilisée pour l'isolement de *S. pyogenes*.

Sur les 43 prélèvements analysés :

- 37 ont donné des colonies transparentes plus ou moins translucides accompagnées d'une bêta-hémolyse franche.
- 6, des colonies de tailles différentes non spécifiques. Ces colonies , jaunes et de grande taille, sont surtout observées après ensemencement sur GSO.

La confirmation d'une culture positive et plus précisément la présence de *S. pyogenes* est prouvée par l'usage des microplaques CSB et le test au latex.

Tableau V : Différenciation entre *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*

	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
GSN	Colonies transparentes et translucides	Absente
GSO	Colonies transparentes et translucides	Colonies jaunes ou blanches de grande taille
Test au latex	Positif	Négatif
Micro CSB Strepto	Positif	Négatif

Figure 4 : Souche bêta-hémolytique de *Streptococcus pyogenes* sur gélose au sang de mouton

VI- Résultats de la sensibilité des souches de *Streptococcus pyogenes*

Après l'isolement et l'identification de ces souches, nous avons étudié leur profil de sensibilité vis-à-vis des antibiotiques.

Ainsi six (6) antibiotiques, appartenant à quatre familles différentes (cyclines, macrolides, quinolones et kétolides) ont été testés.

Pour chacun de ces antibiotiques, nous avons déterminé le nombre et le pourcentage de souches sensibles, intermédiaires et résistantes.

Tableau VI : Pourcentage de sensibilité des 37 souches de *S. pyogenes*

Antibiotiques	Valeurs critiques (mm)			Valeurs extrêmes (mm)		S (%)	I (%)	R (%)
	R	I	S					
Clindamycine	≤ 15	16-18	≥ 19	17	41	89,19	8,11	2,70
Erythromycine	≤ 15	16-20	≥ 21	21	43	100	0	0
Télithromycine	≤ 13	14-16	≥ 17	20	41	100	0	0
Lévofloxacine	≤ 16	17-20	≥ 21	15	26	78,37	21,62	0
Pénicilline G	≤ 19	20-27	≥ 28	28	50	100	0	0
Tétracycline	≤ 18	19-22	≥ 23	06	18	0	0	100

Figure 5 : Profil de sensibilité d'une souche de *Streptococcus pyogenes* à différents antibiotique testés

Tableau VII : Nombre de souches sensibles

Antibiotiques	Nombre de souches		
	S	I	R
Clindamycine	33	03	01
Erythromycine	37	0	0
Lévoﬂoxacine	29	08	0
Pénicilline G	37	0	0
Télithromycine	37	0	0
Tétracycline	0	0	37

Toutes les souches ont été sensibles à la télithromycine, l'érythromycine, à la pénicilline G et à la clindamycine.

La sensibilité des souches streptococciques par rapport à certains produits pathologiques à savoir les pus d'abcès, d'otites et prélèvements de gorge a été déterminée, et ceci selon que les patients soient hospitalisés ou externes.

III-1- Sensibilité à la télithromycine

Toutes les souches étudiées ont été sensibles à cette molécule (100 %). Ces taux de sensibilité ont été proches de ceux obtenus en général et a été noté un

taux de résistance qui est nul. En d'autres termes, aucune souche n'a révélé une résistance par synthèse de protéines, ni par modification de la cible par méthylase ou par efflux, ni encore par une inactivation enzymatique.

La télithromycine a montré une bonne activité par rapport à l'éry A avec des diamètres qui passent de 20 mm à 41 mm. Ce taux de sensibilité élevé a également été observé dans diverses infections bien que certains de ces germes incriminés soient résistants à l'éryA.

III-2- Sensibilité à la lévofloxacin

Cet antibiotique est apparu actif sur les souches avec un taux de sensibilité de 78,37 %. Nous avons aussi noté une sensibilité intermédiaire de 21,62 %, ce qui est apparu assez élevé par rapport à celle obtenue avec la clindamycine.

III-3- Sensibilité aux autres molécules

III-3-1- Sensibilité à la pénicilline G

La pénicilline G a été active sur toutes les souches avec (100 % de sensibilité). Bien que les taux de résistance de la pénicilline G et l'érythromycine soient nuls, la télithromycine a demeuré plus que jamais la molécule de référence dans le traitement des infections bactériennes du fait de son large spectre.

III-3-2- Sensibilité à la tétracycline

Le pourcentage de résistance à haut niveau aux cyclines, plus précisément à la tétracycline a été de 100 %. Toutes les souches ont été résistantes avec des

diamètres inférieurs ou égaux à 18 mm. L'absence totale de zone d'inhibition a été observée sur certaines souches.

III-3-3- Sensibilité à l'érythromycine

L'absence de souches résistantes a été notée pour cette molécule. Elle a été active sur la totalité des souches testées (100 %) avec des diamètres variant entre 21 et 43 mm ; en plus près de % des souches ont une zone d'inhibition 25 mm.

III-3-4- Sensibilité à la clindamycine

Pour cet antibiotique, plus des 3/4 des souches ont présenté une bonne sensibilité (89,19 % avec un taux de sensibilité intermédiaire faible (8,11 %). Seuls 2,70 % des souches ont révélé une résistance.

Histogramme : Sensibilité globale de *Streptococcus pyogenes*

IV- Souches étudiées

Parmi les 37 souches obtenues, près de la moitié d'entre elles ont été isolées avec d'énormes difficultés. L'identification faite grâce l'utilisation de microplaques CSB System et du test au latex n'a posé aucun problème.

La principale contrainte rencontrée dans l'isolement a été la présence simultanée de *Streptococcus pyogenes* et *Staphylococcus aureus* dans un même milieu de culture et ceci a été surtout remarqué des échantillons de l'écoulement produit par la plaie, ou d'abcès ou précisément d'ulcères cutanés.

Par contre, les souches provenant de l'IPD sont caractérisées par une pureté et une hémolyse très franche. Dans de tels cas, l'identité de la souche n'est confirmée que par le test au latex.

Les informations collectées au niveau des bulletins d'analyse et plus précisément le diagnostic ont permis d'orienter et de faciliter la recherche. Seulement, pour quelques rares souches nous n'avons pas pu obtenir d'informations cliniques.

Le nombre de souches collectées et testées dans cette étude pour une durée assez longue nous a paru faible. Ceci a été expliqué non seulement par la fréquence très faible des demandes d'examen de prélèvements de gorge mais

également par l'auto-médication qui reste actuellement à la base de la résistance à la tétracycline.

V- Méthode de diffusion en milieu gélosé

Cette technique de diffusion a été utilisée depuis fort longtemps et présente jusqu'à l'heure actuelle de nombreux avantages auxquels (savoir) l'identification et le diagnostic des streptocoques A dans diverses pathologies par rapport à d'autres techniques classiques, notamment celle de dilution et de E-test.

En effet, c'est une méthode de quantification de l'activité antibactérienne d'un antibiotique donné nécessitant toujours l'usage d'un abaque pour l'interprétation des résultats.

Généralement, des problèmes de précision ont été noté avec cette technique puisque les zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle ou d'un pied à coulisse.

Il convient également de noter que cette technique a été adaptée à la routine et dans nos pays pauvres où son coût est relativement modeste.

A l'heure actuelle, la technique de dilution et de E-test font place de plus en plus à celle de diffusion, d'où une plus grande précision et une rapidité d'interprétation des résultats, donc un gain de temps.

Cette méthode de E-test n'a été faite que sur une seule de nos souches et les résultats obtenus ont été superposables à ceux obtenus par la technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme standard).

VI- Sensibilité générale des souches aux antibiotiques

Les résultats de la sensibilité des streptocoques du groupe A aux différents antibiotiques (voir généralités) ont été acceptables ; c'est aussi l'occasion de

dire que le logiciel WHONET V a été un excellent outil dans l'exploitation des résultats.

III-1- Sensibilité aux kétolides (télithromycine)

Non seulement nous n'avons pas eu des CMI mais les diamètres obtenus (valeurs extrêmes compris entre 17 et 41 mm) sont inclus dans un intervalle décrit dans une étude similaire en France et en Italie (78). Ce travail a donné aussi la valeur de CMI de la télithromycine en fonction de la sensibilité de la souche de l'éry A, ce qui paraît beaucoup plus intéressant.

Pour les souches sensibles à l'érythromycine, la CMI était homogène (CMI 0,015 mg / l). Pour celles qui sont résistantes, cette valeur était comprise entre 0,015 et 32 mg / l.

Nous pouvons comparer également nos résultats à ceux décrits aux USA (CMI 0,5 mg / l) avec 98,5 % de sensibilité (77), atteignant 100 %, toujours aux USA (96, 97, 9) avec comme CMI₉₀ 0,008 à 0,06 mg / l.

III-2- Sensibilité aux fluoroquinolones (lévofloxacin)

Dans notre étude, 78,37 % des souches testées ont été sensibles contre 21,62 % de sensibilité intermédiaire.

Des pourcentages de sensibilité nettement supérieurs aux nôtres, atteignant parfois 100 % de souches sensibles ont été notés dans de nombreux pays, notamment aux USA avec une CMI₉₀ de 1 mg/l sur 1742 souches de *S. pyogenes* (31, 57), de même en Italie (50) , en Belgique et en France (1).

En opposition, une résistance des souches a été observée en Pologne (75) en 2001. Les principales causes retenues ont été le phénomène d'efflux actif et la modification enzymatique.

III-3- Sensibilité autres molécules

III-3-1- Sensibilité aux bêta-lactamines (pénicilline G)

Pratiquement toutes les souches (100 %) ont été sensibles à la pénicilline G avec des diamètres ayant pour valeurs extrêmes 28 et 50 mm, similaires à celles décrites dans de nombreuses études, notamment au Portugal (100 %) (72).

Cette absence de résistance a été également décrite dans une étude faite à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis de janvier 1988 à décembre 1990 (37). Cette même observation a été faite dans divers pays, notamment en Espagne (82), Russie (49), Israël (112), Lisboa (72), et aux USA avec des CMI₉₀ 0,06 mg/ l , à Séoul et à Taiwan (26, 83), à Deutschland en 1997 (104), au Canada (16), en Italie (24), en Allemagne (41), en Australie (66), à Barcelone (46) et en Algérie (79).

Contrairement, un échec thérapeutique a été observé à l'université de Washington en 2001 dans plus de 20 % des patients. Cette dernière révélation nous pousse à penser à une évolution de la résistance à la pénicilline G qui s'explique certainement par une production de bêta-lactamase et par une interférence bactérienne.

A l'exception de ce dernier cas, pour toutes les souches testées, de hauts niveaux de sensibilité à la pénicilline G ont été rapportés et celle-ci demeure à l'état actuel, la molécule de premier choix hormis la télithromycine.

III-3-2- Sensibilité aux cyclines (tétracycline)

Il apparaît d'après nos résultats que les souches de *S. pyogenes* ont présenté une résistance à haut niveau aux tétracyclines conformément à la littérature (113, 17, 38, 39, 74, 89).

Le taux de résistance, de 100 %, se rapproche également de ceux publiés par d'autres articles, notamment à Madrid (82), Pologne (75) Suède (56) et Russie (23).

La résistance peut être associée à un système d'efflux et un système de « protection du ribosome » par l'intermédiaire d'une protéine cytoplasmique. Enfin, très récemment, une enzyme inactivant les tétracyclines a été découverte, active seulement en anaérobiose, mais dont l'importance clinique n'est pas connue.

En opposition, des taux beaucoup plus faibles ont été enregistrés au Lisbonne (72) avec 16,4 %, 4 % aux USA (59), 7,3 % à Madrid (81), 8,5 % en Espagne (82), 51 % en Russie (49), 2,2 % en Allemagne (41) et 52,1 % à Séoul (26).

Paradoxalement, une étude faite en 1997 en Israël (112) a obtenu un taux de 59 % de souches sensibles, qui est plus élevé que celui de notre travail.

III-3-3- Sensibilité aux macrolides (érythromycine)

Des travaux réalisés dans plusieurs pays ou villes, notamment à Madrid (82), aux USA (59), au Canada (34), en Iran (56), Portugal (72), Suède (56), Corée (22), Espagne (81), Argentine, Allemagne (41), Berlin (79), et Algérie (79) ont rapporté des pourcentage de résistance qui sont respectivement pour chacun : 14,3 %, 2,6 %, 2,1 %, 0,6 %, 21,1 %, 41,3 %, 2,8 %, 12 %, 10 %, 12,7 %, 24 % et 29 % ; chiffres très éloignés de celui que nous obtenus, soit 0 % de résistance, mais qui est approximativement proche des résultats obtenus en Israël (112) qui révèlent 99 % de sensibilité, soit une seule souche résistante.

Les chiffres mentionnés ci-dessus témoignent une forte résistance des streptocoques aux macrolides en général, résistance qui s'étend aux

lincosamides et aux streptogramines. Cette résistance serait inductible avec la synthèse de méthylase et la modification du cible.

Seule l'étude en Allemagne (104) a montré un pourcentage de résistance / intermédiaire (R / I %) qui est de 1,6 %. Les prescriptions de cette molécule restent limitées en cas d'allergie à la pénicilline et aux contre-indications à la tétracycline.

III-3-4- Sensibilité aux lincosamides (clindamycine)

Une étude réalisée dans un institut de microbiologie en Allemagne a rapporté que toutes les souches de streptocoque A testées avaient été sensibles (66), de même qu'au USA en 2002 (70, 79), avec une CMI₅₀ de 0,125 mg / l alors que notre étude quant à elle a rapporté 89,18 % de souches sensibles et 2,70 % de résistance.

Ces derniers chiffres ne sont pas très éloignés de celui que nous avons trouvé à Barcelone, soit une souche résistante sur cent (46), et la résistance est inductible. Comme elle l'a été au Canada (34) sur 20 souches, 18 ont montré une résistance inductible et les 2 une résistance constitutive.

La résistance à la clindamycine sur les souches de streptocoque A est restée exceptionnelle. Cette molécule est une alternative dans le traitement des infections à *S. pyogenes* dues aux souches résistantes aux macrolides chez des patients qui ne peuvent pas être traités par des bêta-lactamines.

Néanmoins , des cas de résistance élevée ont été observés à Taiwan (83) (30 ,22 %).

III-4- Comparaison de l'activité des molécules testées

Tous les travaux réalisés aux USA ont révélé que la télithromycine a été plus active que l'azithromycine contre toutes les souches sensibles aux

macrolides ; de même, elle a été aussi active sur un grand nombre de souches résistantes aux macrolides.

L'activité de la lévofloxacinine a été comparée aux alternatives non fluoroquinolones utilisées dans les infections du tractus respiratoire.

Les résultats confirment que l'impact écologique de la lévofloxacinine est moindre visiblement qu'avec une association aux comparateurs non fluoroquinolones (1).

Après avoir connu un intense intérêt, l'émergence de souches résistantes, les effets secondaires contre-indiquant son utilisation chez la femme enceinte et l'enfant en période de croissance a fait diminuer la prescription de la tétracycline.

III-5- Prise en charge des infections respiratoires et ostéo-articulaires

III-5-1- Aspects curatifs

Avant toute thérapie, le choix de l'antibiotique doit tenir compte de trois données :

- identité de la bactérie
- profil de sensibilité du germe vis-à-vis des antibiotiques
- siège de l'infection

Une fois le diagnostic posé et l'étude de la sensibilité faite, il sera ainsi nécessaire pour avoir une guérison de choisir parmi les antibiotiques actifs testés le traitement le plus bactéricide.

Les streptocoques A ont des caractéristiques expliquant leur haut taux de sensibilité vis-à-vis des familles d'antibiotiques, à savoir les céphalosporines, macrolides et bêta-lactamines.

Streptococcus pyogenes résiste à la tétracycline qui a une activité nulle sur nos souches. Cette résistance tient essentiellement à nos habitudes thérapeutiques et à un mauvais usage de cette famille d'antibiotiques.

III-5-2- Aspects préventifs

Bien que certaines personnes soient porteuses du streptocoque A sans développer en fait de pharyngite, elles ne joueraient pas un rôle de premier plan dans la propagation de ce germe. Néanmoins, elles doivent bénéficier d'un diagnostic et être traitées dans les situations suivantes :

- en présence d'antécédents familiaux de fièvre rhumatismale
- durant une épidémie de fièvre rhumatismale dans la communauté
- et surtout si un problème de streptocoque inquiète dans la famille.

Concernant les infections de la peau et des tissus mous, une bonne hygiène est une façon de prévenir ces types d'infections. Un bon nettoyage des coupures et éraflures avec de l'eau, du savon et l'utilisation d'un antiseptique contribueront aussi à la prévention.

Quelqu'en soit l'origine des plaies (plaies issues d'une morsure ou abcès ou plaies post-opératoires), il est préférable de consulter un médecin avant toute aggravation.

RECOMMANDATIONS

Identification

L'implication du streptocoque A dans les pathologies (citées ci-dessus) a été faite au moyen de deux méthodes simples et rapides, réalisables à un temps réduit, à savoir la microplaque streptocoques CSB (24 h) et le test au latex.

Diagnostic

En dehors de la culture du prélèvement de gorge, le diagnostic des pharyngites et angines peut être posé par un test rapide et simple, effectué au cabinet du médecin. Ce test demande 10 minutes et permet de déceler le streptocoque A dans environ 90 % des cas.

Cette dernière technique a tendance à supplanter la culture qui dure 24 à 48 heures et en plus est délicate et peu appréciée par les patients.

Pour le moment, ce test n'est pas encore applicable dans notre pays. Il existe également un indice de mesure des maux de gorge qui peut aider les médecins à poser le diagnostic de pharyngite à streptocoque A. Le système de mesure énumère quatre signes :

- la fièvre
- les tâches sur les amygdales
- la tuméfaction des ganglions du cou
- la présence ou l'absence de toux

Chez les sujets qui ne présentent qu'un seul de ces symptômes ou qui n'en présentent aucun, la probabilité d'une pharyngite streptococcique est de 10 % et il n'est pas suggéré alors de culture de gorge.

Si deux à trois des symptômes sont présents, il est suggéré de procéder à une culture de gorge et d'attendre les résultats avant d'instaurer un traitement antibiotique.

Si les quatre symptômes sont présents, il est suggéré de procéder à une culture de gorge et d'administrer un traitement antibiotique.

Ce système convient mieux aux patients de plus de 15 ans et en l'absence d'épidémie, nous rapporte la littérature.

Sensibilité

Pour la détermination de la sensibilité aux antibiotiques, la méthode de diffusion en milieu gélosé offre plusieurs avantages parmi lesquels :

- une facilité de réalisation et d'interprétation des résultats
- un coût abordable et adaptable à la routine.

Actuellement, plusieurs travaux effectués par la méthode E-test et surtout celle de la microdilution ont tendance à remplacer celle de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme standard).

Les auteurs de ces travaux ont approuvé et confirmé leur sensibilité, leur facilité et leur reproductibilité.

Il convient également de noter que malheureusement ces méthodes ne sont pas utilisables en routine dans les laboratoires de microbiologie en raison de leur coût.

En cas de maux de gorge, les médecins doivent inciter leurs patients à faire des prélèvements de gorge et attendre les résultats de la culture de gorge avant toute antibiothérapie pour plusieurs raisons :

- d'abord, la plupart des gens ne souffrent pas de pharyngite ou d'angine à streptocoque A et cet approche conservatrice face au démarrage du traitement antibiotique fait en sorte que les patients qui n'en ont pas besoin ne prendront pas de médicaments.
- Ensuite, en prescrivant des antibiotiques alors qu'ils ne sont pas nécessaires, peut contribuer au développement de souches bactériennes résistantes au médicament.

CONCLUSION

Les infections respiratoires , de la peau et des tissus occupent une place importante en pathologie, en raison de leur fréquence, leur négligence et surtout de leur gravité.

Par conséquent, nous avons entamé ce travail dans le but d'étudier le profil de la sensibilité des streptocoques bêta-hémolytiques du groupe A sur deux antibiotiques, à savoir : télithromycine et lévofloxacine.

L'antibiogramme standard a été utilisé comme méthode d'étude. Afin d'évaluer l'activité de la télithromycine et de la lévofloxacine, nous les avons comparés avec quatre autres molécules : érythromycine, clindamycine, pénicilline G et tétracycline.

Trente-sept (37) souches ont été testées avec ces molécules et les résultats sont les suivants :

- Toutes les souches ont révélé une bonne sensibilité (100 %) avec la télithromycine ; et il en a été de même pour la pénicilline G avec des zones d'inhibition légèrement différentes.
- La lévofloxacinine a fourni 78,37 % de sensibilité et 21,62 % de sensibilité intermédiaire.
- L'érythromycine a agi 100 % d'activité
- 89,1 % de sensibilité ont été notée avec la clindamycine contre 2,7 % de résistance.
- La tétracycline a montré une inefficacité totale avec 100 % de résistance.

Avant toute antibiothérapie, le choix de l'antibiotique doit tenir compte de trois données citées plus haut (identité bactérienne, profil de sensibilité et siège de l'infection).

Cette étude a permis non seulement d'avoir une approche des antibiotiques avant toute prescription , mais aussi de déceler les souches résistantes.

Cette résistance concerne surtout les cyclines et cette observation a été faite depuis un certain nombre d'années. Cette famille des cyclines perd de plus en plus sa place en thérapeutique des infections respiratoires.

Et pour remédier à cette situation, de nouvelles molécules ont été mises au point : la télithromycine et la lévofloxacinine.

La sensibilité de ce nouveau kétolide reste identique dans toutes les affections et se positionne à l'état actuel de la science en première ligne du fait de son spectre antibactérien plus large que celui des macrolides, bêta-lactamines et même les fluoroquinolones.

Quant à la sensibilité de la lévofloxacinine, elle varie suivant les affections. Elle occupe une place importante dans la thérapie respiratoire. Par contre, pour les infections cutanées, il est difficile d'évaluer où se situe cette molécule dans l'arsenal thérapeutique puisqu'aucune étude n'a comparé jusqu'à aujourd'hui son efficacité par rapport au traitement de première ligne.

Dans le but de maintenir stable le taux de sensibilité de la télithromycine et de la lévofloxacin, nous invitons surtout :

- les médecins à un bon usage de ces molécules afin d'éviter l'apparition de souches résistantes, de discuter leur indication avant toute prescription ;
- les biologistes de les tester constamment et de faire connaître leur efficacité aux premiers.

BIBLIOGRAPHIE

1- **Acar J.F.**

A comparison of side effects of levofloxacin to other agents concerning the ecological and microbiological effects on normal human flora.
Chemotherapy, 2001; 47 Suppl 3 : 15-23 discussion 44-8.

2- **Agence nationale pour le développement de l'évaluation médicale (ANDEM).**

Le bon usage des antibiotiques à l'hôpital.
La lettre de l'infectiologue, 1996, tome XII, 2 : 77-82.

3- **Akiyama H., Yamasaki O., Kanzaki H. and al.**

Streptococci isolated from various skin lesions : the interaction with *Staphylococcus aureus* strains.
J Dermatol Sci, 1999 Jan; 19 (1) : 17-22.

4- **Alos J.I., Aracil B., Oteo J., and al.**

High prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin/miocomycin-susceptible (M phenotype) *Streptococcus pyogenes*: results of Spanish multicentre study in 1998. Spanish group for the study of infection in the Primary Health Care Setting.
J Antimicrob Chemother, 2000 May ; 45 (5) : 605-9.

5- **Amsterdam D.**

The MIC : myth and reality.
The Antimicrobial Newsletter, 1992, 8 : 9-16.

6- **Anonyme.**

Recherche de consensus. Le traitement des angines aiguës et la prévention de leurs complications.

Conférence organisée par l'Association pour la formation continue en Pathologie Infectieuse.

Med Mal Infect, 1991, 21 : 277-284.

7- Arvand M., Hoeck M., Hahn H., Wagner J.

Antimicrobial resistance in *Streptococcus pyogenes* isolates in Berlin.

J Antimicrob Chemother, 2000 Oct ; 46 (4) : 621-4.

8- Balducci Y., Bodey G.P.

In vitro activity of kitasamycin against gram positive cocci.

J Antibiot 5 Tokyo) , 1974 Jul; 27 (7) 516-19.

9- Barry A.L., Fuchs P.C., Brown S.D.

Relative potency of telithromycin, azithromycin and erythromycin against recent clinical isolates of gram-positive cocci.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2001 Jul; 20 (7) : 494-7.

10- Beachey E.H., Sumpson W.A.

The adherence of group A streptococci to oropharyngeal cells: the lipoteichoic acid adhesin and fibronectin receptor.

Infection, 1982, 10: 107-111.

11- Bearden D.T., Neuhauser M.N., Garey K.W.

Telithromycin : an oral ketolide for respiratory infections.

Pharmacotherapy, 2001 Oct; 21 (10) : 1204-22.

12- Bergner Rabinowitz S., Davies A.M.

Sensitivity of *Streptococcus pyogenes* types to tetracycline and other antibiotics.

Isr J Med Sci, 1970 May-Jun; 6 (3) : 393-8.

13- Bessen D., Fischetti V.A.

A human IgG receptor of group A streptococci is isolated with tissue site of infection and streptococcal class.

J Infect Dis, 1990, 161: 747-754.

14- Bisno A.L.

Group A streptococcal infections and acute rheumatic fever.

N Engl J Med, 1991, 325 : 783-793.

15- Bisno A.L.

Streptococcus pyogenes. In : Mandell G.L., Douglas R.G., Bennett J.E. (eds), Principles and practice of infectious diseases. 3rd ed.
Churchill Livingstone, ed, New York, 1990: 1519-1539.

16- Blondeau J.M., Church D., Yaschuk Y., and al.

In vitro activity of several antimicrobial agents against 1003 isolates of *Streptococcus pyogenes* collected from Western Canada.
Int J Antimicrob Agents, 1999 Jun; 12 (1) : 67-70.

17- Boswell P.A., Hillier G.E.

Tetracycline resistance of group A streptococci from different sites.
Br Med J, 1977 Feb ; 1 (6058) : 446.

18- Brook I.

Inoculum effect.
Rev Infect Dis, 1989, 11 : 361.

19- Brook I.

Failure of penicillin to eradicate group A beta-hemolytic streptococci tonsillitis : causes and management.
J Otolaryngol, 2001 Dec; 30 (6) : 324-9.

20- Brook I., Aronovitz G.H., Pichichero M.E.

Open-label, parallel-group, multicenter, randomised study of cefprozil versus erythromycin in children with group A streptococcal pharyngitis/tonsillitis.
Clin Ther, 2001 Nov ; 23 (11) : 1889-900.

21- Bryskier A.

Diapo d'après Hansen L.H. et coll, Mol Microbiology, 1999, 31 : 623-31.

22- Buisson Y., Descraques C., Schill H., Julien H., Antoine H.M.

Epidémie d'angines streptococciques d'origine alimentaire.
Bull Epidemiol Hebd, 1990, 31 : 134-135.
Courvalin P., Goldstein F., Philippon A., Sirot J.

L'antibiogramme, 1^{ère} éd, MPC Videom, 1985.

23- Bulgakova T.N.

Streptococcus group A resistance to tetracycline : its spread and transduction.
Antibiotiki, 1979 Mar; 24 (3): 193-7.

24- Cornaglia G. Ligozzi M., mazzariol A., and al.

Rapid increase of resistance to erythromycin and clindalycin in *Streptococcus pyogenes* in Italy, 1993-1995. The Italian Surveillance Group for Antimicrobial Resistance.

Emerg Infect Dis, 1996 Oct-Dec; 2 (4) : 339-42.

25- Carson et al.

Acute liver disease associated with erythromycins, sulfonamids and tetracyclines.

Ann Inter Med, 119 : 576 – 583.

26- Cha S., Lee H., Lee K. and al .

The emergence of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Seoul, Korea.

J Infect Chemother, 2001 Jun; 7 (2) :81-6.

27- Charles L., and Segreti J.

Choosing the right macrolides antibiotic. A guide to selection.

Drugs, 53 : 349-357.

28- Chopra I. Et al.

Tetracyclines, molecular and clinical aspects.

J Antimicrob Chemother, 29 : 245-277.

29- Cocito C. et Di Giambattista M.

Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique.

Médecine Sciences, 6 : 46-54.

30- Corcoran J.W., et Hahn F.E.

Antibiotics III. Mechanism of action of antimicrobial and antitumor agents.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1975.

31- Critchley I.A., Sahm D.F., Thornsberry C. and al.

Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pyogenes* isolated from respiratory and skin and soft tissue infections : United States LIBRA surveillance data from 1999.

Diag, Microbiol Infect Dis, 2002 Feb; 42 (2) :129-35.

32- Cunka Ba.

Problems arising in antimicrobial therapy due to false susceptibility testing.
J Chemotherapy, 1997, 9 (suppl 1) : 25-35.

33- Dalhoff A.

Differences between bacteria grown in vitro and in vivo.
J Antimicrob Chemother, 1985, 15 (suppl A) : 175-195.

34- De Azavedo J.C., Yeung R.H., Bast D.J. and al.

Prevalence and mechanisms of macrolides resistance in clinical isolates of group A streptococci from Ontario, Canada.
Antimicrob Agents Chemother, 1999 sep; 43 (9) : 2144-7.

35- Delmas P., Freney J.

Les streptocoques.
Lyon Pharmaceutique, 1989, 40 : 353-369.

36- Dubois J., St Pierre C.

In vitro activity of ABT-773 versus macrolides and quinolones against resistant respiratory tract pathogens.
Diag Microbiol Infect Dis, 2001 May-Jun; 40 (1-2) :35-40.

37- El Bour M., fendri C., Ben Hassen A. and al.

Study of antibiotic sensitivity of *Streptococcus pyogenes* isolated in the hospital milieu (Charles Nicolle Hospital of Tunis).
Med Trop , 1993 Jan-Mar; 53 (1) : 13-7.

38- Fallon R.J.

Tetracycline-resistant group A streptococci.
Br Med J, 1974 Sep 21; 3 (5933) : 741.

39- Fallon R.J.

Tetracycline-resistant beta-hemolytic streptococci.

Br Med J, 1973 Nov 3; 4 (5887) : 300-1.

40- Felmingham D.

Microbiological profile of telithromycin, the first ketolide antimicrobial.
Clin Microbiol Infect, 2001; 7 Suppl 3 : 2-10.

41- Fierek O., Hinniger P., Panzig B.

Antibiotic sensitivity of important pathogens of bacterial respiratory tract infections in Northeast Germany.
Med Klin, 1998 Nov 15 ; 93 (11) : 656-61.

42- Fischette V.A.

La protéine M des streptocoques.
Pour la science, août 1991, 166 : 56-65.

43- Freundlich L.F., Zanfardino E., Rosenthal S.L.

Susceptibility of streptococci to newer tetracyclines and cephalosporins and to other antimicrobial agents.
Am J Med Technol, 1979 Oct; 45 (10) : 835-9.

44- Gaillat J.

Objectives for antibiotic therapy in acute exacerbations of chronic bronchitis.
Presse Med, 2001 Oct 27; 30 (31 Pt 2) : 17-22.

45- Gasser F.

Microbiologie générale.
Cours de l'Institut Pasteur.
Ediscience, Mc Graw-Hill, Paris, New York, 1975.

46- Gene A., Gonzalez-Cuevas A., Juncosa T., and al.

Antibiotics sensitivity of *Streptococcus pyogenes* in pediatrics.
Enferm Infect Microbiol Clin, 1998 Jun-Jul; 16 (6) : 272-4.

47- Gerber M.A.

Antibiotic resistance : relationship to persistence of group A streptococci in the upper respiratory tract.

Pediatrics, 1996 Jun; 97 (6 Pt 2): 971-5.

48- Gerber M.A., Tanz R.R.

New approaches to the treatment of group A streptococcal pharyngitis.
Curr Opin Pediatr, 2001 Feb; 13 (1) : 51-5.

49- Givental N.I., Krasil' nikova O.A., Osmanov S.K. and al.

Antibiotic sensitivity of beta-hemolytic Streptococcus group A on a new nutrient medium for the cultivation of streptococci.
Antibiotiki, 1983 May; 28 (5) : 325-31.

50- Grassi G.G., Fietta A.

Antibiotics and their interaction the host defense system in vivo.
J Chemother, 1991 Jan; 3 Suppl 1 : 112-5.

51- Grossman E.R. et al.

Tetracycline and permanent teeth: the relationship between doses and tooth color.
Pediatrics, 47, 567-570.

52- Haydon R.C. et al.

Erythromycin ototoxicity : analysis and conclusions based on 22 case reports.
Otopharygol Head Neck Surg, 92 : 678-684.

53- Holmström L . Nyman B., Rosengren M. Wallander S. Ripa T.

Outbreaks of infections with erythromycin-resistant group A streptococcal in child day care centres.
Scand J Infect Dis, 1990, 22 : 179-195.

54- Hsueh P.R., Chen H.M., Huang A.H., Wu J.J.

Decreased activity of erythromycin against *Streptococcus pyogenes* in Taiwan.
Antimicrob Agents Chemother, 1995 Oct; 39 (10) : 2239-42.

55- Jalava J., Kataja J., Seppala H., Huovinen P.

In vitro activities of the novel kétolide telithromycin (HMR 3647) against erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* species.

Antimicrob Agents Chemother, 2001 Mar; 45 (3) : 789-93.

56- Jasir A., Tanna A., Noorani A., and al.

High rate of tetracycline resistance in *Streptococcus pyogenes* in Iran :an epidemiological study.

J Clin Microbiol, 2000, Jun; 38 (6) : 2103-7.

57- Jones R.N., Pfaller M.A.

In vitro activity of newer fluoroquinolones for respiratory tract infections and emerging patterns of antimicrobial resistance : data from the SENTRY antimicrobial surveillance program.

Clin Infect Dis, 2000, Aug; 31 Suppl 2 : S16-23

58- Kaplan E.L.

The resurgence of group A streptococcal infections and their sequelae.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1991, 10 : 55-57.

**59- Kaplan E. L., Johnson D.R., Del Rosario M.C.,
Horn D.L.**

Susceptibility of group A beta-hemolytic streptococci to thirteen antibiotics : examination of 301 strains isolated in the United States between 1994 and 1997. Pediatr Infect Dis J, 1999 Dec; 18 (12) : 1069-72.

60- Kaplan K. and Weinstein L.

Lincomycin and clindamycin (7-clorlicomycin). In : Antimicrobial therapy, edited by Kagan B.M., Saunders W.B. Philadelphia, 145-156.

61- Kibwage I.O. et al.

Antibacterial activities of erythromycin A, B, C and D, and some of their derivatives.

Antimicrob Agents Chemother, 28 : 630-633.

62- Kiivet R.A. et al.

Changes in the use of antibacterial drugs in the countries of central and eastern Europe.

Eur J Clin Microbiol, 48 : 299-304.

63- Kist H.A. and Sides G.D.

New directions for macrolides antibiotics : pharmacokinetics and clinical efficacy.

Antimicrob Agents Chemother, 33 : 1419-1422.

64- Kist H.A. and Sides G.D.

New directions for macrolides antibiotics : structural modification and in vitro activity.

Antimicrob Agents Chemother, 33 : 1413-1418.

65- Kleier N.CC and Cunha B.A.

Tetracyclines.

Clin North Am, 49 :789-801.

66- Kribernegg I., Feieri G., Grisold A., Marth E.

IN-vitro susceptibility of group A beta-hemolytic streptococci (GABHS) to penicillin, erythromycin, clarithromycin and azithromycin in Styroa, Australia. Zentralbl Bakteriол, 1998 Jan; 287 (1-2) : 33-9.

67- Linder J.A., Stafford R.S.

Antibiotic treatment of adults with sore throat by community primary care physicians : a national survey, 1989-1999.

JAMA. 2001 Dec 19; 286 (23) : 2942-3.

68- Marchou B., Lemozy J.

Infections à streptocoques (*Streptococcus pneumoniae* exclu).

Editions Techniques , Encyclop Méd Chir , Paris, 1993.

69- Marin P., Marquez A., Garcia-Martos P., and al.

Susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to penicillin, macrolids and clindamycin in Cadiz.

Rev Esp Quimiother, 2000 Sep ; 13 (3) : 318-9.

70- Martin J.M., Green M., Barbadora K.A., Wald E.R.

Erythromycin-resistant group S streptococci in schoolchildren in Pittsburgh.

N Engl J Med, 2002 Apr 18 ; 346 (16) : 1243-5.

71- Mastro T.D., Farley T.A., Elliott J.A. et al.

And outbreak of surgical wound infections due to group A streptococcus carried on the scalp.

N Engl J Med , 1990, 323 : 968-972.

72- Melo-Cristino J., Fernandes M.L, Serrano N.

Grupo de Estudo Portugues de bacterias Patogenicas respiratorias.

Acta Ped Port, 2001, sep-Dec ; 14 (5-6) : 459-68

73- Michel M.F., Van Leeuwen W.B.

Degree and stability of tolerance to penicillin in *Streptococcus pyogenes*.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1989, 8 : 225-232

74- Mitsuhashi S., Inoue M., Fuse A. and al.

Drug resistance in *Streptococcus pyogenes* .

Jpn J Microbiol, 1974 Jan; 18 (1) : 98-9.

75- Mlynarczyk G., Mlynarczyk A., Jeljaszewicz J.

Epidemiological aspects of antibiotic resistance in respiratory pathogens.

Int J Antimicrob Agents, 2001 Dec; 18 (6) : 497-502.

76- Murase T., Suzuki R., Yamai S.

Molecular typing of *Streptococcus pyogenes*.

Nippon Saikingaku Zasshi, 1999 Aug; 54 (3) :617-29.

77- Nagai K., Appelbaum P.C., Davies T.A. and al.

Susceptibility to telithromycin in 1,011 *Streptococcus pyogenes* isolates from 10 central and Eastern European countries.

Antimicrob Agents Chemother, 2002 Feb; 46 (2) : 546-9.

78- Nagai K., Davies T.A., Ednie L.M. and al.

Fluor Derivative RU 64399 compared to those télithromycine , erythromycin A, azithromycin, clarythromycine and clindamycin against macrolides-susceptible or –resistant *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*.

Antimicrob Agents Chemother, 45 : 3242-3245.

79- Nait-Kaci S., Boukarana W., Rahal K.

Sensitivity to beta lactams and macrolides of *Streptococcus pyogenes* isolated at the services from 1994 to 1998.

Arch Inst Pasteur Alger, 1998 ; 62 : 13-23.

80- Neu H.C.

Penicillins. In : Mandell G.L., Douglas R.G., Bennett J.E. (eds), Principles and practice of infectious diseases. 3rd ed.

Churchill Livingstone, ed, New York, 1990: 234.

81- Orden B., Martinez R., Lopez de los Mozos A., Franco A.

Antibiotic resistance to erythromycin, clindamycin and tetracycline of 573 strains of *Streptococcus pyogenes* (1992- 1994).

Enferm Infecc Microbiol Clin, 1996 Feb ; 14 (2) : 86-9.

82- Orden B., Perez Trallero E., Montes M. and al.

Erythromycin resistance of *Streptococcus pyogenes* in Madrid.

Pediatr Infect Dis J, 1998, Jun; 17 (6) :470-3.

83- Pan T.M., Lin S.S., Yu Y.L. Horng C.B.

Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of group A streptococci (*Streptococcus pyogenes*) isolated in Taiwan.

Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi, 1996 Aug; 29 (3) : 153-61.

84- Paterson I. and Mansuri M.M.

Recent developments in the total synthesis of macrolides antibiotics.

Tetrahedron, 41 : 3569-3624.

85- Perlman D.

Structure activity relationships among the semi-synthetic antibiotics.

Academic Press, New York, San Francisco, Londres, 1977.

86- Portier H., Bourillon A., Lucht F., and al.

Treatment of acute group A beta-hemolytic streptococcal tonsillitis in children with a 5-day course of josamycin.

Arch Pediatr, 2001 Jul; 8 (7) : 700-6.

87- Pratt W.B.

Chemotherapy of infection.
Oxford University Press, New York, 1977.

88- Prince R.A.

Clindamycin. In: Antimicrobial therapy, edited by Risticcia A. M. and Cunha B.A.
Raven Press, New York, 235-247.

89- Robertson M.H.

Tetracyclin-resistant beta-hemolytic streptococci in South-west Essex : decline and fall.
Br Med J, 1973 Oct 13; 4 (5884) : 84-5/

90- Rodriguez R.S., Calderon-Jaimes E., Gomez-Barreto D., and al.

Antimicrobial resistance characteristics of clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*.
Salud Publica Mex, 2000 May-Jun; 42 (3) : 229-9.

91- Saginur R.

Barriers to the effective management of respiratory tract infections in the community.
Division of Infectious diseases, Ontario, Canada.
Infection, 2001, Dec, 29 Suppl 2 : 3-10.

92- Schain C.S. Amsden G.W.

Telithromycin : the first of the k etolides.
Clinical Pharmacology Research Center, Bassett Healthcare, Cooperstown, NY 13332-1394, USA.
Ann Pharmacother, 2002, Mar, 36 (3) : 452-64.

93- Schleifer K.H., Kilpper-Balz R.

Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci : a review.
System Appl Microbiol, 1987, 10 : 1-19

94- Schlievert P.M., Bettin K.M., Watson D.W.

Production of pyrogenic exotoxin by groups of streptococci : association with group A.

J Infect Dis, 1979, 140 : 676-681.

95- Schorderet M. et al

Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques.

3^{ème} éd. 1998.

96- Shain C.S., Amsden G.W.

Telithromycin : the first of the ketolides.

Ann Pharmacother, 2002 Mar; 36 (3) : 452-64.

97- Shortridge V.D., Zhong P., Cao Z., and al.

Comparison of in vitro activities of ABT-773 and telithromycin against macrolides-susceptible and resistant streptococci and staphylococci.

Antimicrob Agents Chemother, 2002 Mar; 46 (3) : 783-6.

98- Soriano S.V., Brasili S., Saiz M., and al.

Streptococcus pyogenes : penicillin and erythromycin susceptibility in the cities of Neuquen and Cipoletti.

Medicina (B Aires), 2000; 60 (4) :487-90.

99- Speer B., S. et al .

Bacterial resistance to tetracycline : mechanism transfer and clinical significance.

Clin Microbiol Rev, 1992, 5: 387-399.

100- Steibigel N.H.

Erythromycin, lincomycin and clindamycin.

In : Principles and practice of infectious diseases, 2nd edition, edited by Mandel and al, John Wiley et Sons, New York, 224-232.

101- Steigbigel N.H.

Macrolides and clindalycin. In : Principles and practice of infectious diseases, 4th edition by Mandel G.L., et al.

Chuchill Livingstone, New York, 334-345

**102- Syrogiamnopoulos G.A., Grivea I.N.,
Fitoussi F., and al.**

High prevalence of erythromycin resistance of *Streptococcus pyogenes* in Greek children.

Pediatr Infect Dis J, 2001 Sep ; 20 (9) : 863-8.

103- Thomasz A.

The mechanism of irreversible antimicrobial effects of penicillins : how beta-lactam antibiotics kill and lyse bacteria.

Ann Rev Microbiol, 1979, 33 : 113-137.

104- Traub W.H., Leonhard B.

Comparative susceptibility of clinical group A, B, C, F and G beta-molytic streptococcal isolates to 24 antimicrobial drugs.

Chemotherapy, 1997 Jan-Feb; 43 (1) : 10-20

105- Van Bambeke F, Tulkens P.M.

Macrolides : pharmacokinetics and pharmacodynamics.

Int J Antimicrob Agents, 2001; 18 Suppl 1 : S17-23.

106- Vu Thien H.

Bactériologie des angines : mise au point sur les tests rapides.

Med Mal Infect, 1988, 10 bis : 509-512.

107- Vymola F., Jedlickova Z.

Streptococcus pyogenes group A-sensitivity to chemical preparations in vitro.

Cas Lak Cesk, 1972 Mar 24; 111 (13) : 292-4.

108- Vymola F., Jedlickova Z.

The effects of chemotherapeutics on the species streptococcus in vitro.

J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol, 1975; 19 (3) : 383-8.

109- Wannamaker L.W.

Differences between streptococcal infections of the throat and the skin (first of the two parts).

N Engl J Med, 1970, 282 : 23-31.

110- Wannamaker L.W.

Differences between streptococcal infections of the throat and the skin (second of the two parts).

N Engl J Med, 1970, 282 : 78-85.

111- Wannamaker L.W.

Streptococcal toxins.

Rev Infect Dis, 1983, 5 [suppl 4] : 5723-5732.

112- Weiss I., Gorodnitzky Z., Korenman Z an al.

Serotyping and susceptibility to macrolides and other antimicrobial drugs of *Streptococcus pyogenes* isolated from patients with invasive diseases in southern Israel.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1997 Jan; 16 (1) :20-3.

113- Winckler K.

Tetracycline ulcers of oesophagus : endoscopy, histology and roentgenology in two cases, and reviews of the litterature.

Endoscopy, 13 :225-228.

114- Yoshioka M., Kunii T.

Antibiotic resistant group A streptococci. Acquired in vitro resistance to penicillin, mitomycin C, tetracycline and streptomycin.

Jpn J Microbiol, 1965 Jun; 9 (2) : 87-99.