

## PNEUMOCOCCIE

### DEFINITION

*Streptococcus pneumoniae* (Sp) encore appelé pneumocoque appartient à la famille des *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus* et au groupe des streptocoques oraux. C'est une bactérie commensale des voies aériennes supérieures de l'homme, dont les infections représentent aujourd'hui un réel problème de santé publique car elles sont graves voire mortelles quand elles sont invasives. Il existe actuellement 90 sérotypes de pneumocoques classés d'après la composition de la capsule bactérienne.

**Synonymes :** *Streptococcus pneumoniae*, pneumocoque.

### BIOPATHOLOGIE

#### ■ EPIDEMIOLOGIE

*Streptococcus pneumoniae* colonise le rhinopharynx des enfants dès leur plus jeune âge (tous les enfants ont été en contact avec le germe dès 2 ans). Son réservoir est surtout humain et la transmission interhumaine se fait par les gouttelettes aéropartées.

#### ■ CLINIQUE

Le pneumocoque est responsable d'infections diverses :

- **Pneumonies bactériennes communautaires** : elles surviennent plus particulièrement chez les sujets âgés ou sur des terrains fragilisés (immunodépression, viroses respiratoires, sujets aspléniques, diabétiques...). Il peut s'agir d'une pneumonie franche lobaire aiguë d'apparition brutale ou parfois d'une pneumopathie de surinfection post-virale.
- **Otitites moyennes aiguës de l'enfant de moins de 2 ans** : c'est le deuxième agent responsable après *Haemophilus influenzae*.
- **Sinusites, bronchites, mastoïdites et conjonctivites.**
- **Méningites bactériennes de l'enfant de plus de 3 mois et de l'adulte après 50 ans.**
- **Septicémies et bactériémies** : compliquent souvent les infections primaires à pneumocoques.

#### ■ PHYSIOPATHOLOGIE

Le pouvoir pathogène de *Streptococcus pneumoniae* est essentiellement dû à la présence de 2 facteurs de virulence du germe que sont : **la capsule bactérienne** et **la pneumolysine**. La capsule assure la résistance à la phagocytose des macrophages dans les alvéoles pulmonaires, tandis que la pneumolysine possède une activité cytotoxique directe vis-à-vis des cellules endothéliales et respiratoires.

### INDICATIONS DE LA RECHERCHE

Diagnostic de pneumonies communautaires de l'adulte plus particulièrement sur des terrains fragilisés. Diagnostic de bronchites et de bronchopneumopathies chez des insuffisants respiratoires chroniques ou au décours de pathologies respiratoires d'origine virale.

Diagnostic d'otites aiguës de l'enfant de moins de 2 ans. Diagnostic de méningites bactériennes de l'adulte et du nourrisson.

Diagnostic d'infections invasives de type septicémies ou méningites associées.

Contrôle après vaccination (recherche d'un déficit immunitaire humoral).

### RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

#### ■ PRELEVEMENT - CONSERVATION - TRANSPORT

**Prélèvements bronchiques** : expectorations dans les pneumopathies communautaires, lavage bronchoalvéolaire (LBA), prélèvement distal protégé (PDP), brosse bronchique protégée (BBP) ou encore ponction transtrachéale dans les cas de pneumopathies graves.

**Pus de paracentèse** si otites.

**LCR** dans les suspicions de méningites.

**Hémocultures**

**Urines**

**Sérums**

**Liquides de ponction pleurale.**

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

#### ■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Symptomatologie clinique ?

Age ?

Pathologie sous-jacente : diabète, drépanocytose, asplénisme, immunodépression ?

Traitement antibiotique en cours ou antérieur ?

### METHODES DE DIAGNOSTIC

#### ■ EXAMEN DIRECT

Le pneumocoque est facilement reconnaissable à la coloration de Gram : diplocoques à Gram positif lancéolés en « flammes de bougie » ou sous forme de courtes chaînettes.

#### ■ CULTURE

C'est la technique de référence pour le diagnostic d'une infection à pneumocoque. Le diagnostic est orienté par

l'aspect au Gram et celui des colonies (alpha-hémolytiques, lisses, bombées, brillantes après 18 à 24 h d'incubation à 37 °C). Pour le confirmer, le test le plus utilisé est la sensibilité à l'optochine : un diamètre > 14 mm autour d'un disque chargé à 5 µg est en faveur d'un pneumocoque. Toutefois, 0,5 à 5 % des pneumocoques sont résistants à l'optochine et quelques *Streptococcus viridans* y sont sensibles. En cas de doute, un test de lyse par la bile, plus spécifique, est recommandé (éclaircissement d'une suspension dense de la bactérie à identifier après addition de quelques gouttes d'une solution de désoxycholate de sodium à 10 % et incubation 30 min à 37 °C). L'utilisation d'une technique d'agglutination de particules de latex sensibilisées avec des Ac reconnaissant les différents sérotypes capsulaires (Slidex® pneumo-kit Mérieux) peut également orienter l'identification. Toutefois ce test peut être pris en défaut, notamment avec *S. oralis* et *S. mitis*. Ce réactif peut être utilisé directement sur produits pathologiques.

Les pneumocoques se développent bien dans les hémocultures, mais le taux d'hémocultures positives chez les adultes dans les pneumonies aiguës communautaires (PAC) n'est que de 20 % (10 % chez l'enfant). Dans les méningites, les hémocultures sont positives dans plus d'un cas sur deux. Ces résultats s'expliquent probablement par la quantité de bactéries dans le sang qui peut être faible, l'administration fréquente d'antibiotiques et le caractère intermittent de la bactériémie. D'où l'intérêt de tests complémentaires.

#### ■ RECHERCHE DIRECTE D'ANTIGENES BACTERIENS SOLUBLES

Se fait par une méthode immunologique comme l'agglutination de particules de latex sensibilisées ou par test immunochromatographique. Le test immunochromatographique (ICT) *Now S. pneumoniae*® Binax constitue un progrès important dans la mise en évidence d'une infection par le pneumocoque. Ce test de recherche d'Ag solubles s'effectue en 15 min à partir d'un échantillon d'urines ou de LCR.

Dans les PAC, la recherche s'effectue dans les urines. Chez l'adulte, la spécificité du test est > 90 % et la sensibilité de 77 à 89 % dans les PAC bactériémiques et de 44 à 64 % dans les non bactériémiques. Ce test est utilisable y compris en cas d'exacerbation de BPCO (rares faux positifs) et/ou chez un sujet sous antibiotiques, même depuis plusieurs jours (à J3 après début du traitement antibiotique, 80 % des sujets ont encore un test positif). En France, il est recommandé dans la prise en charge des PAC chez l'adulte, dans les formes graves (en réanimation), en parallèle du test recherchant l'Ag Légionelle, dans les urines.

Chez l'enfant, l'intérêt du test est sa bonne valeur prédictive négative (VPN) : un test négatif exclut de façon quasi-certaine une infection à pneumocoque, mais un test positif n'est pas interprétable, compte tenu

de la fréquence élevée des infections à pneumocoque dans cette tranche d'âge. Il n'est pas actuellement recommandé chez l'enfant.

Le test est également validé dans le LCR, lorsque le contexte clinique est évocateur d'une méningite. Sa sensibilité est comprise entre 95 et 100 % et sa spécificité > 99 %. En France, la conférence de consensus sur les méningites de 2008 recommande son utilisation dans le LCR en cas de contexte évocateur (pas dans les urines en raison du risque de faux négatifs).

#### ■ BIOLOGIE MOLECULAIRE

Actuellement, la technique utilisée est la PCR en temps réel. Différents gènes cibles peuvent être amplifiés, les plus performants étant *lytA* (gène codant l'autolysine) et *spn9802* (codant un gène de fonction inconnue). L'amplification d'autres cibles (*ply* ou *psaA*) peut entraîner de fausses réactions positives en présence de *S. viridans* ou *S. pseudopneumoniae* (une espèce récemment décrite, proche du pneumocoque, intermédiaire ou résistante à l'optochine sous 5 % de CO<sub>2</sub>, mais sensible si la boîte est incubée en air ambiant).

Dans le LCR, la PCR a une sensibilité de 92 à 100 % et une spécificité de 100 % et peut être utilisée notamment lorsque l'examen direct est positif et la culture négative (traitement antibiotique ?). En France, la conférence de consensus sur les méningites recommande son utilisation, sauf si un test ICT a été réalisé.

Dans le liquide pleural, la sensibilité de la PCR est de 71 % (vs 28 % pour la culture). Dans les PAC, la PCR effectuée sur plasma est positive dans 29 % à 100 % des cas selon les études ; à partir d'échantillons respiratoires, elle est positive dans 68 à 100 % des cas. Mais il est difficile de faire la part des choses entre les pneumocoques « colonisateurs » et ceux responsables d'une infection.

#### ■ SEROGROUPAGE / TYPAGE

Il a un intérêt surtout épidémiologique.

#### ■ SEROLOGIE

Contrôle post-vaccinal dans le contexte diagnostique d'un déficit immunitaire.

### TRAITEMENT

#### ■ Antibiothérapie

##### PENICILLINES

Les pénicillines se lient de manière covalente aux protéines de liaison à la pénicilline (PLP), enzymes intervenant dans la synthèse de la paroi au niveau du peptidoglycane. Le mécanisme de résistance repose sur une modification de ces PLP, qui entraîne une augmentation des CMI de toutes les β-lactamines, dont l'ampleur varie selon les molécules.

Les PSDP (pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline) sont détectés par un disque d'oxacilline à 5 µg. Les souches sensibles ont une CMI ≤ 0,06 mg/l ; parmi les PSDP, on distingue les souches intermédiaires (ou bas niveau de résistance) si 0,1 mg/l < CMI ≤ 2 mg/l et résistantes si CMI > 2 mg/l.

En ce qui concerne les autres β-lactamines (amoxicilline AMX, ampicilline AMP, céfotaxime CTX, ceftriaxone CRO), le disque d'oxacilline ne peut apprécier le niveau de résistance à ces antibiotiques. L'utilisation d'autres disques de β-lactamines ne le permet pas non plus. En conséquence, notamment en cas d'infection sévère, d'échec clinique ou devant toute souche de PSDP (oxa < 26 mm), le CA-SFM recommande de déterminer la CMI d'au moins une des β-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique, en particulier l'antibiotique prescrit. La résistance acquise à la pénicilline G est croisée avec toutes les autres β-lactamines, mais à des niveaux variables en fonction des antibiotiques, permettant l'utilisation des molécules les plus actives. Les souches catégorisées comme « intermédiaires » (ou résistantes de bas niveau) doivent être considérées comme résistantes en cas de méningite, mais sensibles à fortes doses en cas d'infection respiratoire.

Les méthodes les plus utilisées pour déterminer la CMI sont celles avec bandelettes de type E-test®. Il est préconisé d'utiliser un contrôle de qualité avec des CMI déterminées sur la pénicilline, l'AMX, le CTX, et de suivre les recommandations des fabricants. Il est fondamental d'utiliser des bandelettes bien conservées : pour cela, il convient de vérifier l'absence d'humidité (regarder la couleur des déshydratants), respecter strictement la température de conservation (si elles sont congelées, ne pas ouvrir le kit avant 30 min, sinon, les bandelettes prennent l'humidité). Pour la lecture, il faut pouvoir bien observer les petites colonies, c'est-à-dire faire la lecture à la lumière, avec une loupe. En pratique, il est exceptionnel de mesurer des valeurs de CMI > 8 mg/l pour l'AMX et > 4 mg/l pour le CTX. L'observation de telles CMI doit être vérifiée, au besoin dans un centre de référence.

#### AMINOSIDES

Le genre *Streptococcus* est résistant à bas niveau à tous les aminosides, mais un effet synergique bactéricide reste possible. Ce qu'il faut détecter est l'acquisition d'une résistance supplémentaire conduisant à une souche de haut niveau de résistance (HNR) ; pour cela, il convient d'utiliser des disques fortement chargés (500 µg) pour la streptomycine, la gentamicine et la kanamycine (qui teste l'amikacine). Ainsi, le biologiste pourra catégoriser les souches non pas en S, I ou R, mais en « bas niveau de résistance » (BNR = association permise) ou HNR (association non permise). Les associations bactéricides pourront être utilisées pour les infections sévères à pneumocoque comme les endocardites (toutefois très rares).

#### MACROLIDES

Ces antibiotiques sont moins actifs en milieu acide, d'où les recommandations du CA-SFM de ne pas incuber les antibiogrammes de pneumocoques sous une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>. Cet effet est particulièrement marqué pour la télichromycine (ne pas rendre R à cet antibiotique s'il a été testé sous CO<sub>2</sub>). L'atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> sera réservée aux souches qui ne poussent pas sous air ambiant.

Le principal mécanisme de résistance est la modification de cible par méthylation ribosomale : résistance de type MLS<sub>B</sub> (gènes *erm*). L'expression de cette résistance est le plus souvent inductible chez le pneumocoque.

La résistance MLS<sub>B</sub> concerne les macrolides à noyau lactone à 14 atomes (érythromycine, oléandomycine, roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine), ceux à 15 atomes (azithromycine) et à 16 atomes (josamycine, spiramycine), ainsi que les lincosamides (lincomycine, clindamycine), la streptogramine B (une partie de la pristinamycine et la quinupristine). Ce mécanisme est détecté par la mise en évidence d'un effet antagoniste entre l'érythromycine (inducteur) et la clinda- ou la lincomycine (non inducteur) : aplatissement de la zone d'inhibition autour de l'antibiotique non inducteur, formant une zone en D. En cas de phénotype MLS<sub>B</sub>, l'érythromycine, la lincomycine, la spiramycine, la clindamycine sont catégorisées R, tandis que la pristinamycine et la télichromycine restent sensibles.

En cas de phénotype MLS<sub>B</sub> constitutif (absence d'induction entre érythromycine et télichromycine), la télichromycine n'est plus sensible ; mais ces souches sont très rares.

Un autre mécanisme de résistance possible est l'efflux (absence d'antagonisme entre érythro- et lincomycine : pas de lecture interprétative de l'antibiogramme), conduisant à une résistance à l'érythromycine, mais la lincomycine, la clindamycine, la spiramycine, la télichromycine et la pristinamycine restent sensibles.

#### COTRIMOXAZOLE

Cet antibiotique doit être testé sur une gélose au sang de cheval hémolysé, car sur Mueller Hinton au sang, les diamètres sont diminués, pouvant conduire à rendre une fausse résistance.

#### FLUOROQUINOLONES

Les fluoroquinolones agissent par inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien par action sur la gyrase responsable du surenroulement de l'ADN (gènes *gyrA* et *gyrB*), ou la topoisomérase IV responsable du désenchevêtrement des ADN en fin de réplication : soit sur les 2 sous-unités C sous la dépendance du gène *ParC*, soit sur les 2 sous-unités E, sous la dépendance du gène *ParE*.

Les mécanismes de résistance peuvent être une modification de cible suite à une mutation chromosomique dans une région du gène très conservée (gène QRDR), ou des mutations,

principalement chez le pneumocoque, sur les gènes *gyrA* et *parC*, ou bien un mécanisme d'efflux actif. Dès l'acquisition d'un mécanisme de résistance (en général une première mutation *parC*), la CMI des fluoroquinolones anti-pneumococques (lévofloxacine, moxifloxacine) augmente légèrement par rapport aux souches sauvages sans que cela justifie une catégorisation en I ou R. Or, ces souches doivent être détectées car elles sont susceptibles d'acquérir un haut niveau de résistance sous traitement. Pour cela, il est préconisé d'utiliser la norfloxacine dont la CMI, dès l'acquisition d'une mutation, passe de 2-4 mg/l à > 16 mg/l. Ainsi, le CA-SFM précise : « Le dépistage des pneumocoques de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est réalisé par la mesure de la sensibilité à la norfloxacine. Si le diamètre autour du disque de norfloxacine (chargé à 5 µg) est < 7 mm et/ou si la CMI > 16 mg/l », il existe un risque élevé de sélection *in vivo* de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique ».

#### ■ Vaccination

Deux vaccins sont disponibles. Le vaccin polysaccharidique Pneumo 23<sup>®</sup> est efficace sur 85 % des souches les plus fréquentes, mais inefficace chez les enfants de moins de 2 ans. Il est utilisé dans la prévention des infections pneumococques, notamment respiratoires chez les personnes âgées de plus de 65 ans.

Le vaccin conjugué 7-valent (Prévenar<sup>®</sup>), disponible depuis 2003 (étendu à 13 valences fin 2010) est efficace dès les premiers mois de vie. Il est indiqué chez les enfants de 2 mois à 2 ans selon un schéma vaccinal de deux doses à l'âge de 2 et 4 mois, suivies d'un rappel à 12 mois (une dose supplémentaire à 3 mois est recommandée pour les prématurés et les nourrissons ayant une pathologie les exposant à un risque élevé d'infection invasive par le pneumocoque); il est également indiqué chez les enfants de 2 ans à moins de 5 ans, non précédemment vaccinés et ayant un facteur de risque de développer une infection invasive à pneumocoques, selon un schéma vaccinal de deux doses à deux mois d'intervalle, suivies d'une dose de vaccin Pneumo23<sup>®</sup> au moins 2 mois après.

En France, la mise en place d'un plan antibiotique en 2002 et l'introduction du vaccin conjugué en 2003 ont conduit à une diminution des infections invasives à pneumocoques chez l'enfant de moins de 2 ans (méningites et bactériémies) et à une baisse de la prescription des pénicillines et des macrolides entre 2001 et 2007.

Un statut immunitaire déprimé ou d'autres maladies associées sont des facteurs aggravants de l'infection à pneumocoque. Le vaccin protéique universel n'a pas encore été mis au point et la résistance aux antibiotiques existe toujours, nécessitant une détection adéquate et la poursuite des efforts de maîtrise de la prescription antibiotique.

#### POUR EN SAVOIR PLUS

- Thierry J., Perrier-Gros- Claude J.D., Masseron T., *Streptococcus Pneumoniae*. In: Précis de bactériologie clinique, ESKA 2000, N° 43: p 891 à 900.
- *Le pneumocoque et sa pathologie*, XIX<sup>e</sup> Colloque, Paris, 15 mars 2002, Médecine et maladies infectieuses 2002; 32/SUPPL1/1s-86s.
- Chardon H. *L'antibiogramme du pneumocoque*. *Revue Francophone des Laboratoires* 2008 ; 407:45-50.