

Identification Des Streptocoques Au Laboratoire De L'Hôpital Universitaire De Befelatanana A Antananarivo Madagascar

Zafindrasoa Domoina Rakotovao-Ravahatra¹, Tojoniaina Herinjaka Andriamandimbisoa², Joely Nirina Rakotovao-Ravahatra³, Andry Maharo Andrianarivelo⁴, Fidiniaina Mamy Randriatsarafara⁵, Lala Rasoamialy-Soa Razanakolona⁶, Andriamiadana Luc Rakotovao⁷

¹Médecin Biologiste

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
ravahatradomoina@yahoo.fr

²Médecin biologiste

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
njaka.tojoniaina@gmail.com

³Enseignant chercheur

Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques
Université d'Antananarivo, Madagascar
rjoelynirina@yahoo.fr

⁴Professeur agrégé en Bactériologie-Virologie

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
andrimaharo@gmail.com

⁵Professeur agrégé en Médecine Préventive

Département de Santé Publique, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
fidyrfm@yahoo.fr

⁶Professeur titulaire en parasitologie

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
soamialyrazanakolona@yahoo.fr

⁷Professeur titulaire en Hématologie Biologique

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
lucdina007@yahoo.fr

Auteur correspondant : Zafindrasoa Domoina Rakotovao-Ravahatra. E-mail: ravahatradomoina@yahoo.fr



Résumé : Les infections à streptocoques deviennent de plus en plus fréquentes dans la communauté et en milieu hospitalier. L'objectif la présente étude consiste à évaluer le test Bis-Plus-D pour l'identification des streptocoques. Il s'agit d'une étude évaluative en comparant les deux systèmes d'identification bactérienne Bis-Plus-D et Api 20 Strep à partir de 30 souches de streptocoques collectées sur une période de 6 mois du mois de Janvier 2024 au mois de Juin 2024 au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana à Antananarivo Madagascar. Parmi les 30 souches de streptocoques, 15 souches ont été issues des prélèvements urinaires, 10 souches issues des prélèvements sanguins pour hémoculture et 5 souches issues des autres prélèvements. Selon les espèces, *Enterococcus faecalis*, représentant 43,3% (n=13) des cas, et *Enterococcus faecium*, représentant 26,6% (n=8) des cas, ont été les plus nombreux selon le test Api 20 Strep. Ainsi, 40 % (n=12) des résultats étaient discordants entre Bis-Plus-D et Api 20 Strep. En ce qui concerne les scores de probabilité pour l'identification exacte des bactéries, ils varient entre 90% et 100% pour l'Api 20 Strep et entre 60% et 99% pour le Bis-Plus-D. En bref, l'Api 20 Strep reste le meilleur test pour l'identification des espèces de streptocoques. Pour le test Bis-Plus-D, l'identification du genre de streptocoques est fiable mais l'identification d'espèce n'est pas encore précise.

Mots-clés : bactéries ; évaluation ; identification ; test.

Abstract: Streptococcal infections are becoming more and more common in the community and in hospital settings. The objective of the present study is to evaluate the Bis-Plus-D test for the identification of streptococci. This is an evaluative study comparing the two bacterial identification systems Bis-Plus-D and Api 20 Strep from 30 strains of streptococci detected over a period of 6 months from January 2024 to June 2024 in the laboratory of the Joseph Raseta Befelatanana University Hospital Center in Antananarivo Madagascar. Among the 30 strains of streptococci, 15 strains were from urine samples, 10 strains from blood samples for blood culture and 5 strains from other samples. Depending on the species, *Enterococcus faecalis*, representing 43.3% (n=13) of cases, and *Enterococcus faecium*, representing 26.6% (n=8) of cases, were the most numerous according to the Api 20 Strep test. Thus, 40% (n=12) of the results were discordant between Bis-Plus-D and Api 20 Strep. Regarding the probability scores for the exact identification of bacteria, they vary between 90% and 100% for Api 20 Strep and between 60% and 99% for Bis-Plus-D. In short, the Api 20 Strep remains the best test for the identification of streptococcal species. For the Bis-Plus-D test, the genus identification of streptococci is reliable but the species identification is not yet precise.

Keywords: bacteria ; evaluation ; identification ; test.

I. INTRODUCTION

Les streptocoques forment un large groupe de bactéries et sont impliqués dans des pathologies humaines et animales [1]. On estime que les streptocoques sont à l'origine de 700 millions d'infections humaines chaque année dans le monde, avec un total estimé de 500 000 décès [2]. Louis Pasteur a reconnu les streptocoques comme l'un des premiers micro-organismes à provoquer une maladie contagieuse en 1879 [2]. Il est donc d'une immense importance de caractériser et d'identifier ces bactéries. Le rôle des laboratoires de microbiologie est de bien identifier les streptocoques et de réaliser correctement l'antibiogramme afin d'assurer une bonne prise en charge de la maladie infectieuse du patient.

Concernant l'identification des streptocoques, la présente étude a pour objectif de comparer le système d'identification bactérienne Bis-Plus-D avec le système d'identification bactérienne Api 20 Strep qui est le test de référence afin d'améliorer et de faciliter l'identification de ces germes dans les laboratoires de bactériologie.

II. MATERIELS ET METHODES

A. Cadre d'étude

L'étude a été effectuée au laboratoire du CHUJRB à Antananarivo, Madagascar. Il s'agit d'un laboratoire d'analyses médicales polyvalentes situé au sein du CHUJRB et qui fonctionne jour et nuit. En plus des analyses bactériologiques, ce laboratoire effectue également des analyses hématologiques, biochimiques, immunologiques, virologiques et parasitologiques.

B. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude évaluative en comparant les deux systèmes d'identification bactérienne Bis-Plus-D et Api 20 Strep à partir de 30 souches de streptocoques collectées sur une période de 6 mois du mois de Janvier 2024 au mois de Juin 2024 au le laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana (CHUJRB) à Antananarivo Madagascar.

C. Procédures

Lorsque les 30 souches de streptocoques ont été collectées, les streptocoques ont été réisolés sur des géloses au sang. Ensuite, les colonies de streptocoques qui ont poussé ont été identifiés simultanément avec les deux tests Bis-Plus-D et Api 20 Strep.

D. Paramètres d'étude

Les paramètres de l'étude ont été représentés par les résultats bactériologiques du test Bis-Plus-D, les résultats bactériologiques du test API 20 Strep, les types de prélèvements et les scores de probabilité d'identification exacte de l'espèce bactérienne.

E. Considérations éthiques

La soumission à une comité d'éthique n'a pas été nécessaire pour la réalisation de la présente étude car ce sont des souches bactériennes qui ont été étudiées. Néanmoins, la présente étude a été autorisée par le Directeur d'Etablissement du CHUJRB et le Chef de Service de l'Unité Laboratoire du CHUJRB avant sa mise en œuvre.

III. RESULTATS

Parmi les 30 souches de streptocoques, 15 souches ont été issues des prélèvements urinaires, 10 souches issues des prélèvements sanguins pour hémoculture et 5 souches issues des autres prélèvements (Figure 1).

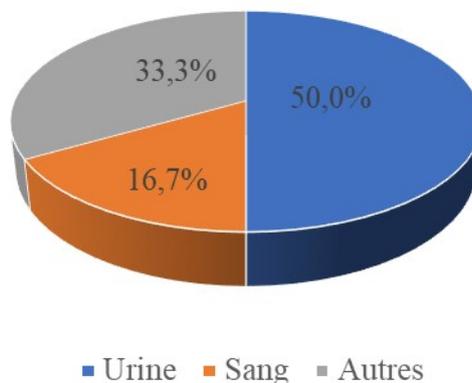


Figure 1 : Répartition des streptocoques selon les prélèvements

Selon les espèces, *Enterococcus faecalis*, représentant 43,3% (n=13) des cas, et *Enterococcus faecium*, représentant 26,6% (n=8) des cas, ont été les plus nombreux selon le test Api 29 Strep (Tableau 1).

Tableau 1 : Répartition des espèces de streptocoques identifiées par le test Api 20 Strep

Espèces identifiées	Api 20 Strep	
	n	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	13	43,3
<i>Enterococcus faecium</i>	8	26,7
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6	20,0
<i>Streptococcus anginosus</i>	3	10,0

Ainsi, 40 % (n=12) des résultats étaient discordants entre Bis-Plus-D et Api 20 Strep (Tableau 2).

Tableau 2 : Comparaison des espèces de streptocoques identifiées par les deux tests Api 20 Strep et Bis-Plus-D

N°	Api 20 Strep	Bis-Plus-D	Résultats
1	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Discordant
2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Discordant
3	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Discordant
4	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Discordant
5	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
6	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
7	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
8	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
9	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
10	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
11	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
12	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
13	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Concordant
14	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Discordant
15	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Discordant
16	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Discordant
17	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Discordant
18	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Concordant
19	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Concordant
20	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Concordant
21	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Concordant
22	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>	Discordant
23	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>	Discordant
24	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>	Discordant
25	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Concordant
26	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Concordant
27	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Concordant
28	<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Discordant
29	<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	Concordant
30	<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	Concordant

En ce qui concerne les scores de probabilité pour l'identification exacte des bactéries, ils varient entre 90% et 100% pour le streptocoque Api 20 et entre 60% et 99% pour le Bis-Plus-D.

IV. DISCUSSION

Dans la présente étude, les prélèvements urinaires ont été les plus concernés par les infections à streptocoques suivis des hémocultures. En effet, les demandes d'hémoculture et d'examen cytot bactériologique des urines sont très fréquentes au laboratoire du CHUJRB pouvant également expliquer la fréquence élevée de ces deux types de prélèvements dans la présente étude. Par ailleurs, la littérature confirme que les streptocoques, notamment les entérocoques sont fréquemment responsables d'infections urinaires et de septicémie expliquant la fréquence élevée des streptocoques dans ces deux types de prélèvement [3-4].

Concernant les résultats, les espèces *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* ont été les plus nombreux. La littérature confirme également que ces deux espèces d'entérocoque sont fréquemment responsables d'infections chez l'homme [5-7]. *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont des pathogènes humains qui présentent un double mode de vie en tant que bactéries commensales et pathogènes. Le mode de vie pathogène est associé à des conditions spécifiques impliquant une susceptibilité de l'hôte et une prolifération intestinale ou l'utilisation d'un dispositif médical. Bien que la virulence d'*Enterococcus faecium* semble bénéficier de sa résistance aux antimicrobiens, *Enterococcus faecalis* est reconnue pour son potentiel pathogène plus élevé [5]. De plus, *Enterococcus faecalis* peut former des biofilms, des structures de défense que les microbes utilisent pour lutter contre les menaces environnementales. Ces biofilms confèrent une résistance aux attaques du système immunitaire de l'hôte et aux interventions antibiotiques [8]. Cette situation pourrait expliquer la fréquence très élevée d'*Enterococcus faecalis* dans la présente étude.

Maintenant, concernant la comparaison des deux tests Bis-Plus-D et Api 20 Strep, ils sont tous deux des systèmes d'identification bactérienne avec à peu près le même principe qui est la lecture des résultats (réactions chimiques avec différentes couleurs) sur un logiciel spécifique. Dans la présente étude, nous avons identifié simultanément 30 bactéries à l'aide des deux tests Bis-Plus-D et Api 20 Strep. Les 30 bactéries présentaient les caractéristiques bactériologiques des streptocoques, c'est-à-dire des cocci à Gram positif et à catalase négative. En ce qui concerne les résultats, 40% des résultats d'identification bactérienne étaient discordants entre Bis-Plus-D et Api 20 Strep.

Concernant le test Api 20 Strep, il s'agit d'un test Gold Standard ou test de référence utilisé depuis l'ouverture du laboratoire de bactériologie du CHUJRB. D'ailleurs, les résultats des scores de probabilité d'une bonne identification d'espèce bactérienne de l'Api 20 Strep dans la présente étude variaient de 90 à 100%. En effet, le processus d'identification consiste à reconnaître une bactérie inconnue en définissant son appartenance à une espèce. Il repose sur le choix d'un ensemble de tests biochimiques réalisés par des logiciels spécifiques. Ce set constitue un kit d'identification. En fonction du profil de réponse observé, une probabilité d'appartenance à chaque espèce est calculée. Nous retenons les espèces les plus probables. Un score de probabilité compris entre 60 et 100 % signifie que le niveau de confiance est élevé et donc que l'identification est fiable. Pour un score <60% le niveau de confiance est faible, le logiciel proposant alors entre deux et quatre identifications [9-12]. Ainsi, le test Api 20 Strep est fiable car le score de probabilité minimum a été de 90, ce qui est largement élevé par rapport au score de 60.

Concernant le test Bis-Plus-D, ses scores de probabilité étaient supérieurs ou égaux à 60 %, ce qui montre que ce test est également fiable. Néanmoins, il est moins fiable que le test Api 20 Strep expliquant la discordance de 40%.

A l'issue de la présente étude, on peut conclure que le test API 20 Strep est le meilleur test dans l'identification des streptocoques et des entérocoques car ses qualités d'identification bactérienne sont toutes excellentes et ses scores de probabilité pour l'identification exacte des bactéries atteignent parfois 100%.

Ainsi, les résultats de la présente nous permettent de faire quelques recommandations. Premièrement, les fabricants du test le kit Bis-Plus-D devraient vérifier s'il y a des réactifs qui doivent être ajoutés ou modifiés pour augmenter la fiabilité des résultats. Deuxièmement, les petits laboratoires qui ne font pas beaucoup d'analyses bactériologiques peuvent utiliser le Bis-Plus-D car sa date de péremption est longue, et son prix est moins cher sur le marché mais l'identification doit s'arrêter au genre (streptocoque ou entérocoque) car l'identification d'espèce n'est pas fiable. De même, l'achat de Bis-Plus-D est plus avantageux pour les petits

laboratoires qui n'ont pas besoin d'acheter d'autres systèmes d'identification bactérienne pour l'identification d'autres bacilles (corynébactéries et anaérobies) car le Bis-Plus-D est suffisant pour les identifier tous. Néanmoins, pour les grands laboratoires de bactériologie, il est préférable qu'ils utilisent le test Api 20 Strep pour l'identification des streptocoques et des entérocoques.

En bref, le bon respect des procédures opérationnelles standard pour chaque type de système d'identification bactérienne doit être effectué pour effectuer une bonne identification bactérienne afin d'obtenir le meilleur score de probabilité qui est de 100%.

V. CONCLUSION

L'Api 20 Strep reste le meilleur système d'identification bactérienne pour identifier les streptocoques. Cependant, le test Bis-Plus-D peut être utilisé par les laboratoires d'analyses médicales, surtout si ces laboratoires n'ont pas besoin d'effectuer beaucoup de tests d'identification bactérienne. Les procédures opérationnelles standards pour chaque type de système d'identification bactérienne doivent être respectés pour obtenir un score de probabilité se rapprochant de 100%.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout le personnel du laboratoire du CHUJRB et tous les techniciens de laboratoire. De même, nous tenons à exprimer notre gratitude au directeur d'établissement de nous avoir autorisé à réaliser la présente étude.

REFERENCES

- [1] Lemaire C, Le Gallou B, Lanotte P, Mereghetti L, Pastuszka A. Distribution, Diversity and Roles of CRISPR-Cas Systems in Human and Animal Pathogenic Streptococci. *Front Microbiol* 2022;13:828031. doi: 10.3389/fmicb.2022.828031.
- [2] Rohde M, Cleary PP. Adhesion and invasion of *Streptococcus pyogenes* into host cells and clinical relevance of intracellular streptococci. 2022 Sep 4 [updated 2022 Oct 4]. In: Ferretti JJ, Stevens DL, Fischetti VA, editors. *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations* [Internet]. 2nd ed. Oklahoma City (OK): University of Oklahoma Health Sciences Center; 2022 Oct 8. Chapter 17.
- [3] Monticelli J, Knezevich A, Luzzati R, Di Bella S. Clinical management of non-faecium non-faecalis vancomycin-resistant enterococci infection. Focus on *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus/flavescens*. *J Infect Chemother* 2018;24(4):237-246. doi: 10.1016/j.jiac.2018.01.001
- [4] Álvarez-Artero E, Campo-Nuñez A, García-García I, García-Bravo M, Cores-Calvo O, Galindo-Pérez I, Pendones-Ulerio J, López-Bernus A, Belhassen-García M, Pardo-Lledías J. Urinary tract infection caused by *Enterococcus* spp.: Risk factors and mortality. An observational study. *Rev Clin Esp (Barc)*. 2021 Aug-Sep;221(7):375-383. doi: 10.1016/j.rceng.2020.09.004.
- [5] Archambaud C, Nunez N, da Silva RAG, Kline KA, Serror P. *Enterococcus faecalis*: an overlooked cell invader. *Microbiol Mol Biol Rev* 2024;88(3):e0006924. doi: 10.1128/membr.00069-24.
- [6] Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(5):308-20. doi: 10.1177/154411130401500506.
- [7] Wei Y, Palacios Araya D, Palmer KL. *Enterococcus faecium*: evolution, adaptation, pathogenesis and emerging therapeutics. *Nat Rev Microbiol* 2024;22(11):705-721. doi: 10.1038/s41579-024-01058-6.
- [8] Yang S, Meng X, Zhen Y, Baima Q, Wang Y, Jiang X, Xu Z. Strategies and mechanisms targeting *Enterococcus faecalis* biofilms associated with endodontic infections: a comprehensive review. *Front Cell Infect Microbiol* 2024;14:1433313. doi: 10.3389/fcimb.2024.1433313.
- [9] Chen JH, Ho PL, Kwan GS, She KK, Siu GK, et al. Identification bactérienne directe dans les hémocultures positives à l'aide de deux systèmes commerciaux de spectrométrie de masse à désorption laser, ionisation et temps de vol. *Journal de microbiologie clinique* 2013 ; 51 : 1733-1739.
- [10] Moon JY, Kim SJ, Moon MH, Chung BB et Choi MH. Estimation différentielle des œstrogènes isomères 2 et 4-méthoxylés

dans le sérum par désorption laser assistée par matrice, ionisation-spectrométrie de masse en tandem. Sciences analytiques, JSAC 2013 ; 29 :345-351.

[11] Patel, R., Spectrométrie de masse à temps de vol par désorption laser assistée par matrice, en microbiologie clinique. Maladies infectieuses cliniques, IDSA 2013 ;57 :564-572.

[12] Westblade LF, Jennemann R, Branda JA, Bythrow M, Ferraro MJ, et al. Étude multicentrique évaluant le système Vitek MS pour l'identification des levures médicalement importantes. Journal de microbiologie clinique 2013 ; 57 : 2267-2272.