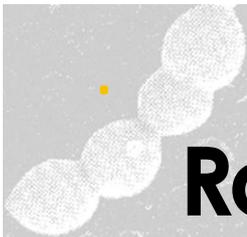


- Laboratoire de Microbiologie
- Hôpital Européen Georges Pompidou
- 20 rue Leblanc, 75 908 Paris Cedex 15
- Tel : 01 56 09 39 67
- Fax : 01 56 09 24 46
- <http://cnr-pneumo.com>



CNRP

Rapport d'activité 2013

Epidémiologie 2012

Emmanuelle VARON
Claire JANOIR
Laurent GUTMANN

Remerciements

Nous remercions vivement chacun de ceux qui ont permis la réalisation de ce travail :

Les Observatoires Régionaux du Pneumocoque, et particulièrement les coordinateurs régionaux :

Régine BARADUC, Nathalie BRIEU, Michel BRUN, Anne CARRICAJÓ, Hubert CHARDON, Julie CREMNITER, Jacques CROIZE, Marie-Claude DEMACHY, Thierry FOSSE, Alain GRAVET, Tahar HADOU, Farida HAMDAD, Marie KEMPF, Philippe LANOTTE, Sylvain MERMOND, Isabelle PATRY, André PECHINOT, Isabelle PELLOUX, Marie-Cécile PLOY, Josette RAYMOND, Alain ROS, Raymond RUIMY, Christine SEGONDS, Bruno SOULLIÉ, Didier TANDÉ, Michel VERGNAUD, Véronique VERNET-GARNIER et Frédéric WALLET.

Les correspondants qui nous ont adressé des souches responsables de méningite :

C. CHAPLAIN, J.P. CANNONE, F. GOURIET, M.D. KITZIS, J.C. N'GUYEN, B. PANGON, C. BARTIZEL, V. PERENNOU, I. MARQUET, B. ALUES PEREIRA, J.L. GAILLARD, et L. ROUDIÈRE.

L'Institut de Veille Sanitaire et particulièrement :

Bruno COIGNARD, Scarlett GEORGES, Agnès LEPOUTRE, Daniel LEVY-BRUHL, Sylvie MAUGAT et Christine SAURA.

ACTIV et particulièrement :

Stéphane BÉCHET, Martine BINGEN, Michel BOUCHERAT, Robert COHEN, Corinne LEVY, Manuela PEREIRA, Claire PRIEUR et Isabelle RAMAY.

A l'Hôpital Européen Georges Pompidou :

Edith DORIAN, Yann GUIVARCH, Guillaume MARIE et Diane MELI.

L'équipe du CNRP :

Assiya EL MNIAI, Claudia G-JERMIDI, Nadya HAMOUDA, Patricia MARCELINO et Aurélie ROSE.

Sommaire

L'essentiel de l'épidémiologie en 2012.....	6
Résumé de la surveillance de la résistance aux antibiotiques	6
Résumé de la surveillance des sérotypes.....	8
Activités	13
Expertise biologique	13
<i>Confirmation de l'identification.....</i>	13
<i>Sérotypage.....</i>	13
<i>Maintien, détention et diffusion de techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage</i>	13
<i>Participation à la mise au point, à l'évaluation et aux recommandations concernant les techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage</i>	14
<i>Contribution à l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux.....</i>	14
<i>Formation.....</i>	15
Contribution à la surveillance épidémiologique	17
<i>Composition du réseau de surveillance</i>	17
<i>Définition de l'échantillon de souches étudiées en 2013.....</i>	20
<i>Surveillance de la distribution des sérotypes</i>	22
<i>Fréquence du sérotype 6C</i>	25
<i>Évaluation du portage rhino-pharyngé de pneumocoque chez l'enfant</i>	27
<i>Surveillance de la résistance aux antibiotiques</i>	28
<i>Résistance globale aux antibiotiques</i>	28
<i>Résistance aux bêta-lactamines</i>	29
<i>Résistance aux bêta-lactamines dans les infections invasives en 2012.....</i>	33
<i>Résistance aux macrolides et apparentés</i>	34

Autres marqueurs de résistance	34
Résistances associées et multi-résistance.....	36
Résistance aux fluoroquinolones	37
Résistance aux antibiotiques et sérotypes	38
Typage moléculaire (MLST) des principaux sérotypes de remplacement	40
<i>Surveillance des infections à S. pneumoniae</i>	42
Méningites à <i>S. pneumoniae</i>	42
Bactériémies à <i>S. pneumoniae</i>	51
Pleuro-pneumopathies.....	58
Variations régionales de la sensibilité à la pénicilline et de la couverture sérotypique des vaccins conjugués pour les souches invasives	61
Données épidémiologiques de France ultra-marine - ORP de Nouvelle Calédonie	63
<i>Participation à des réseaux de surveillance</i>	65
Réseaux nationaux.....	65
Réseaux internationaux.....	65
Alerte	66
<i>Participation à l'investigation des phénomènes épidémiques</i>	66
Conseil	66
Perspectives 2012 à 2016	67
<i>Optimiser l'expertise microbiologique</i>	67
<i>Renforcer la surveillance épidémiologique en lien avec l'Institut de veille sanitaire..</i>	67
<i>Renforcer la participation aux réseaux de surveillance internationaux</i>	69
<i>Démarche qualité du laboratoire du CNRP</i>	69
<i>Collaboration de recherche en lien direct avec l'activité du CNRP</i>	69

Publications et communications depuis 2010 dans le cadre des missions du CNRP	71
<i>Publications nationales</i>	71
<i>Publications internationales</i>	71
<i>Communications nationales</i>	73
<i>Communications internationales</i>	74
<i>Conférences sur invitation</i>	76
 Annexe A.....	 77
 Organigramme du CNRP en 2013.....	 77
 Annexe B	 78
 Locaux et équipements	 78
<i>Infrastructure informatique du CNRP</i>	78
 Annexe C	 79
<i>Protocole d'étude du CNRP</i>	79
Sérotypage.....	79
Étude de la sensibilité aux antibiotiques.....	79
 Annexe D.....	 80
<i>Protocole de détection des mécanismes de résistance aux fluoroquinolones chez S. pneumoniae par la méthode de l'antibiogramme</i>	80
Antibiogramme par diffusion en gélose	80
Antibiotiques à tester.....	80
Souches de référence (fournies par le CNRP).....	80
Interprétation du phénotype observé (Cf. tableau II).	81

Annexe E.....	82
<i>Fiche de recueil 2013 du CNRP</i>	82
Annexe F.....	83
<i>Données transmises en 2012 par les microbiologistes participant aux Observatoires Régionaux du Pneumocoque</i>	83
Table des illustrations.....	84
<i>Figures</i>	84
<i>Tableaux</i>	87

Charte

Le Centre National de Référence a pour mission d'assurer l'expertise biologique, et de contribuer à la surveillance des infections à pneumocoques et de leur résistance aux antibiotiques. L'ensemble de ces activités doit permettre d'assurer un conseil technique d'expert et, en cas de phénomènes épidémiologiques inhabituels, d'alerter la Direction Générale de la Santé et l'Institut National de Veille Sanitaire (J. O., Arrêté du 29 novembre 2004, modifié par l'Arrêté du 26 décembre).

Les souches de pneumocoque qui sont confiées au CNRP sont la propriété du "microbiologiste correspondant". Dans le cas où une expertise complémentaire d'intérêt scientifique ou épidémiologique serait envisagée, celle-ci ne pourra être réalisée qu'avec la totale souscription du "microbiologiste correspondant", le choix du laboratoire expert lui revenant de droit.

Le CNRP tient à disposition les souches de référence de sa collection, ainsi que des souches médicales de phénotype et/ou de génotype bien caractérisés.

Pour remplir sa mission, le CNRP organise le recueil régulier de données cliniques et bactériologiques pertinentes à partir d'un réseau de laboratoires stable et représentatif :

- *de l'ensemble du territoire : surveillance des différentes régions*
- *des différentes structures sanitaires : Centres Hospitaliers Universitaires, Centres Hospitaliers Généraux, cliniques...*
- *de la diversité géographique et démographique : hôpitaux pédiatriques, services de longs séjours, maisons de retraite...*

Le CNRP, qui est associé à l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) participe, pour ce qui est des pneumocoques, à la méthodologie de la surveillance de la résistance, à la démarche qualité, et à l'analyse des résultats obtenus.

Le CNRP n'a pas pour objectif d'exploiter les données transmises par les correspondants du réseau à des fins de communication, ou de publication, mais de procéder à une synthèse des données générées par les correspondants pour informer les autorités sanitaires sur les caractéristiques épidémiologiques des infections pneumococciques.

Le CNRP participe à la formation des biologistes et des cliniciens, de Paris et de Province (publication de recommandations techniques, publications didactiques dans des revues médicales ou de biologie de langue française, stages pratiques).

Un rapport annuel est adressé aux autorités sanitaires.

Un conseil scientifique est organisé ; il est constitué du responsable du CNRP et de son adjoint, d'épidémiologistes de l'Institut National de Veille Sanitaire, de six membres représentant les microbiologistes du réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque, de cliniciens ayant un intérêt pour les infections pneumococciques (infectiologues, pédiatres...).

Le rôle du conseil scientifique est de :

- *conseiller le responsable du CNRP dans le choix et la mise en œuvre du programme d'activités*
- *veiller à l'harmonisation des activités du CNRP avec celles des autres structures nationales impliquées dans la surveillance des infections à pneumocoque.*

L'essentiel de l'épidémiologie en 2012

Résumé de la surveillance de la résistance aux antibiotiques

En 2012, plus de deux ans après l'introduction du vaccin conjugué 13-valent (PCV13) dans le calendrier vaccinal des enfants de moins de 5 ans, la proportion de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) dans les infections invasives (méningites et bactériémies) est de 22%. Ainsi, la baisse de la proportion de PSDP au sein de l'échantillon étudié chaque année (souches invasives les années paires, souches invasives et souches isolées d'otite moyenne aiguë les années impaires) amorcée depuis 2003 se poursuit en 2012 (Figure 1), chez les enfants et chez les adultes (Figure 2 et Figure 3, Tableau 1). Cette situation survient dans le contexte suivant :

- Après une diminution de la consommation hivernale d'antibiotiques de 26,5% entre 2000-2001 et 2006-2007 (Sabuncu *et al.*, Plos Medicine, 2009), une nouvelle hausse de la consommation des antibiotiques en ville a été enregistrée entre 2008 (28,0 DDJ/1000 hab./J) et 2012 (29,4 DDJ/1000 hab./J). (Évolution des consommations d'antibiotiques en France entre 2000 et 2012, ANSM 2013¹).
- Une couverture vaccinale du vaccin anti-pneumococcique conjugué élevée : la vaccination par le vaccin anti-pneumococcique conjugué heptavalent, introduite en France en 2003, a été recommandée pour tous les enfants de moins de 2 ans en 2006. Depuis 2010, le vaccin conjugué anti-pneumococcique 13-valent a remplacé le vaccin conjugué heptavalent. Le taux de couverture vaccinale a atteint 92,7 % en 2012 chez les 24–35 mois pour un schéma complet comportant deux doses et un rappel, chiffre en augmentation depuis 2008. (Martinot *et al.* Archives de Pédiatrie 2013).

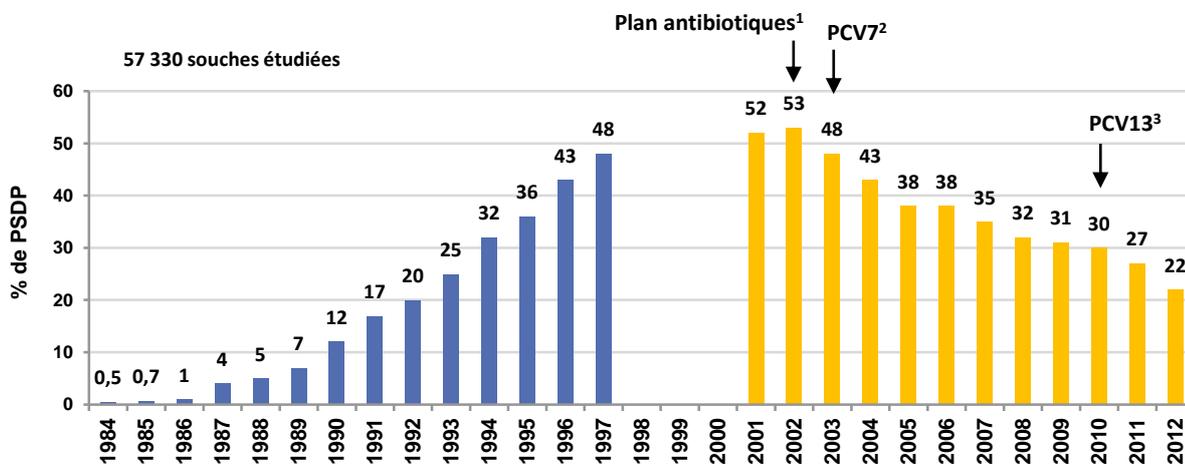


Figure 1 - *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) en France d'après les données du CNRP. (1984-1997 : P. Geslin; 2001-2012 : CNRP-ORP, E. Varon, L. Gutmann). ¹Plan national pour préserver l'efficacité des antibiotiques, nov. 2001 http://www.sante.gouv.fr/hm/actu/34_01.htm; ²Introduction du vaccin anti-pneumococcique conjugué heptavalent (PCV7) ; ³Introduction du vaccin anti-pneumococcique conjugué 13-valent (PCV13).

¹ <http://ansm.sante.fr/Mediatheque/Publications/Rapports-Syntheses-Medicaments>

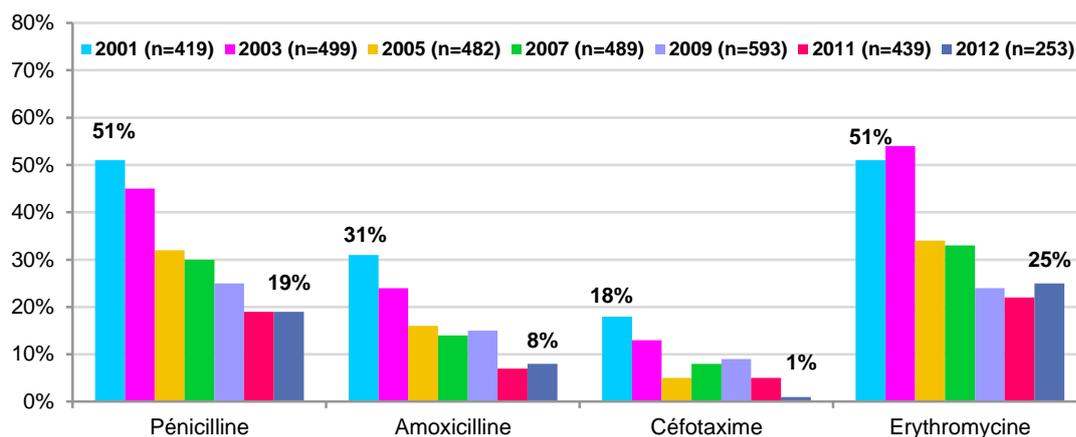


Figure 2 - Évolution de la résistance (I+R) aux bêta-lactamines et à l'érythromycine dans les **infections invasives** de l'enfant de 2001 à 2012.

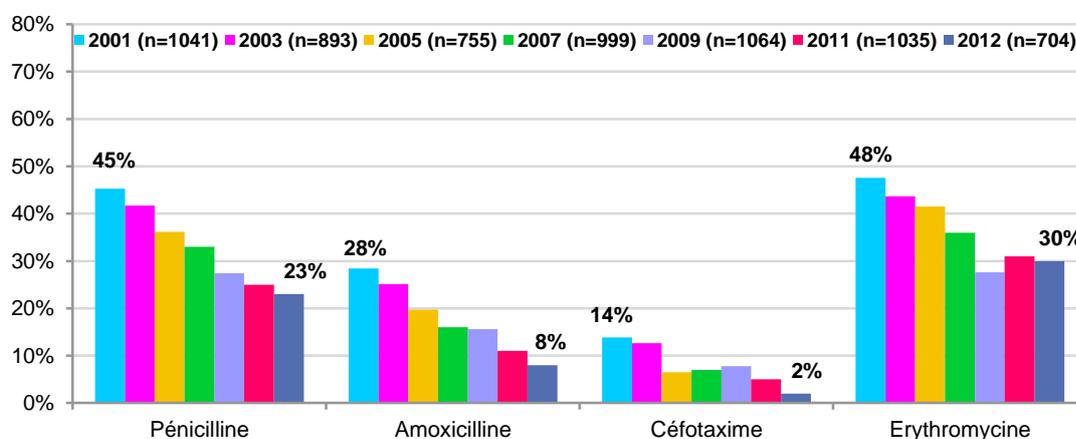


Figure 3 - Évolution de la résistance (I+R) aux bêta-lactamines et à l'érythromycine dans les **infections invasives** de l'adulte de 2001 à 2012.

Tableau 1 – Résumé de la surveillance de la **résistance aux antibiotiques** de *S. pneumoniae* en 2012

% I+R	Bactériémies (n=633)		Méningites (n=324)	
	Enfant (≤15 ans) (n=165)	Adulte (n=468)	Enfant (≤15 ans) (n=88)	Adulte (n=236)
Pénicilline	18%	21%	22%	27%
Amoxicilline	6%	7%	11%	10%
Céfotaxime	1%	2%	0%	1%
Ceftriaxone	1%	1%	2%	2%
Vancomycine	0%	0%	0%	0%
Érythromycine	25%	28%	25%	34%
Rifampicine	1%	1%	1%	3%
Cotrimoxazole	14%	10%	22%	10%
Fluoroquinolones*	0%	1%	0%	0,4%

Selon le CA-SFM 2012

*Souches de bas niveau de résistance (ParC/E mutée ou efflux) et de haut niveau de résistance (ParC/E+GyrA mutées).

Résumé de la surveillance des sérotypes

Depuis la période pré-vaccinale 2001-2002, l'incidence des infections invasives à *Streptococcus pneumoniae* a régulièrement diminué chez les enfants de moins de 2 ans, passant de 29,8 à 17,2 cas/100 000 en 2012 (-42%, $p < 10^{-4}$). Dans les autres groupes d'âge, après une tendance à la hausse jusqu'en 2008-2009 (dernières années de l'utilisation exclusive du PCV7), les infections invasives à pneumocoque ont significativement diminué entre 2008-2009 et 2012 ($p < 10^{-4}$).

L'incidence des infections invasives à pneumocoque par groupe de sérotypes a été estimée en appliquant les proportions de chaque groupe de sérotypes aux chiffres d'incidence calculés à partir des données du réseau EPIBAC de l'InVS². Entre 2001-2002 et 2012, la diminution d'incidence des infections invasives s'explique par une diminution significative des infections à sérotype vaccinal (PCV7 et sérotypes additionnels du PCV13). Sur la même période, une augmentation des infections à sérotypes non vaccinaux est observée, mais celle-ci n'efface pas le bénéfice lié à la diminution des infections à sérotypes vaccinaux (Figure 4).

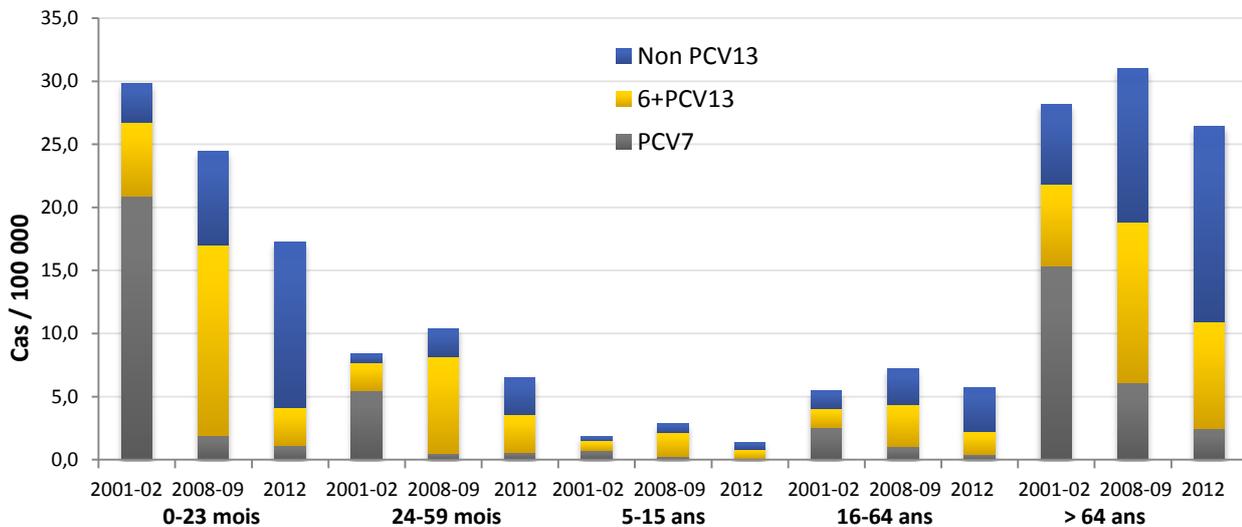


Figure 4 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque de sérotype vaccinal PCV7 (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F et 23F), 6+PCV13 (1, 3, 5, 6A, 7F et 19A,) ou non vaccinal (non PCV13) selon le groupe d'âge.

- Chez l'enfant de moins de 2 ans (Figure 5, Figure 35, Figure 47) :
 - Les sérotypes prédominants dans les infections invasives sont désormais des sérotypes non vaccinaux : on observe en particulier une augmentation des sérotypes 24F et 15A/B/C, alors que les infections à sérotype 12F sont en baisse par rapport à 2011.
 - Une baisse très importante des infections invasives liées au sérotype 19A (contenu dans le PCV13)
 - Une augmentation des infections à sérotype 19F, alors que les autres sérotypes contenus dans le PCV7 ont disparu.

² <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Infections-invasives-d-origine-bacterienne-Reseau-EPIBAC>

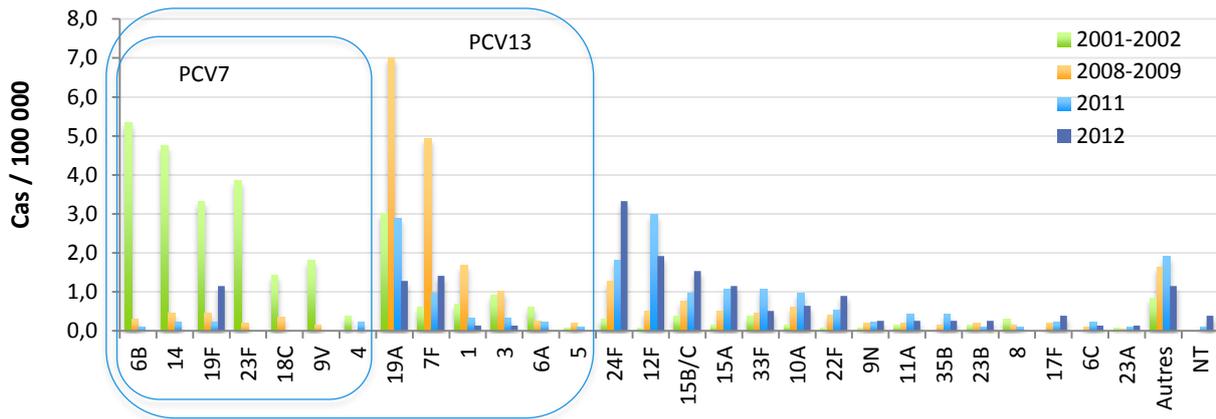


Figure 5 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez l'enfant âgé de 0 à 23 mois entre 2001-2002 et 2012.

- Chez l'enfant de 2 à 15 ans (Figure 6, Figure 7, Figure 36, Figure 37, Figure 48, Figure 49) :
 - La diminution d'incidence des infections invasives est liée à une importante diminution des infections liées aux 6 sérotypes additionnels du PCV13, en particulier les sérotypes 19A et 7F
 - Le sérotype 1 est également en net recul mais reste prédominant dans les bactériémies.
 - Le sérotype 12F, en deuxième position, est en diminution par rapport à 2011.

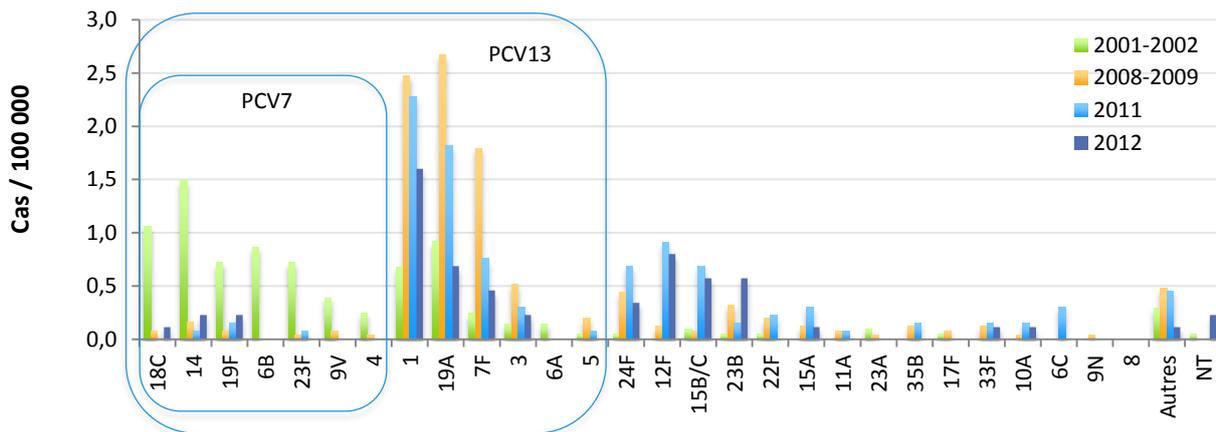


Figure 6 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez l'enfant âgé de 24-59 mois entre 2001-2002 et 2012.

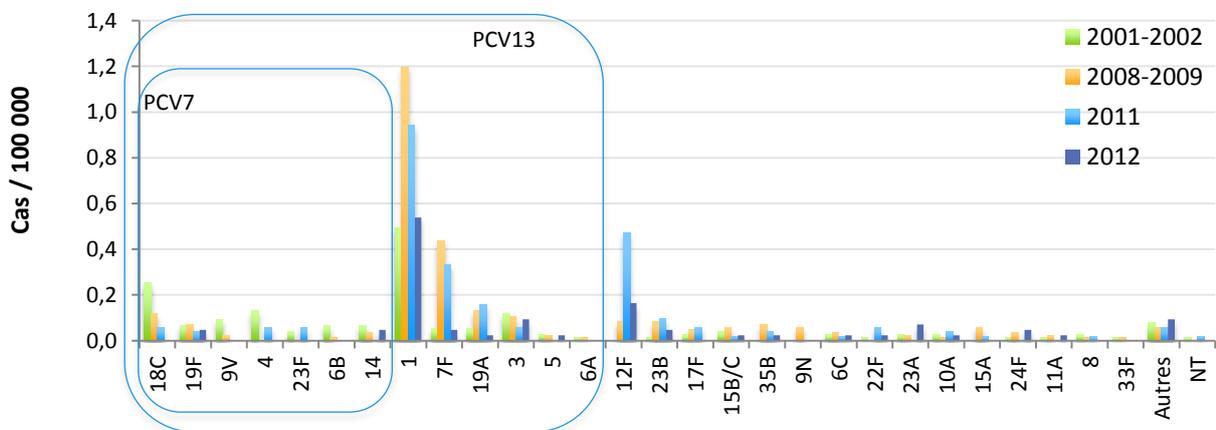


Figure 7 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez l'enfant âgé de 5 à 15 ans entre 2001-2002 et 2012.

● Chez l'adulte (Tableau 2, Figure 8, Figure 9, Figure 38, Figure 39, Figure 51, Figure 52) :

- L'effet indirect est net, et les infections invasives à sérotypes vaccinaux continuent de diminuer. Les sérotypes couverts par le PCV7 ne représentent plus que 8% des souches invasives. On note cependant comme chez l'enfant la persistance des infections liées au sérotype 19F. Les sérotypes prédominants dans cette population sont en 2012 le 19A, le 7F et le 3 parmi les sérotypes vaccinaux, et les sérotypes 22F et 12F parmi les non vaccinaux.

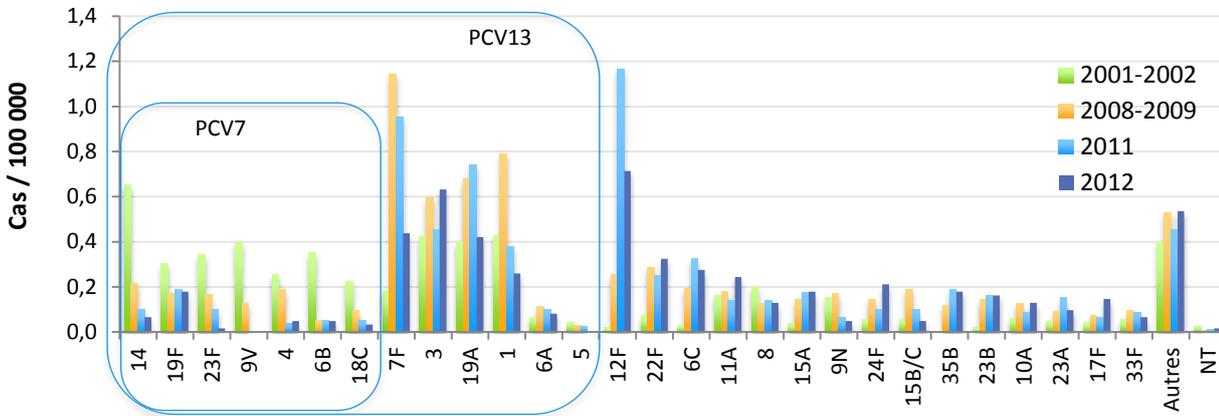


Figure 8 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez les adultes âgés de 16 à 64 ans entre 2001-2002 et 2012.

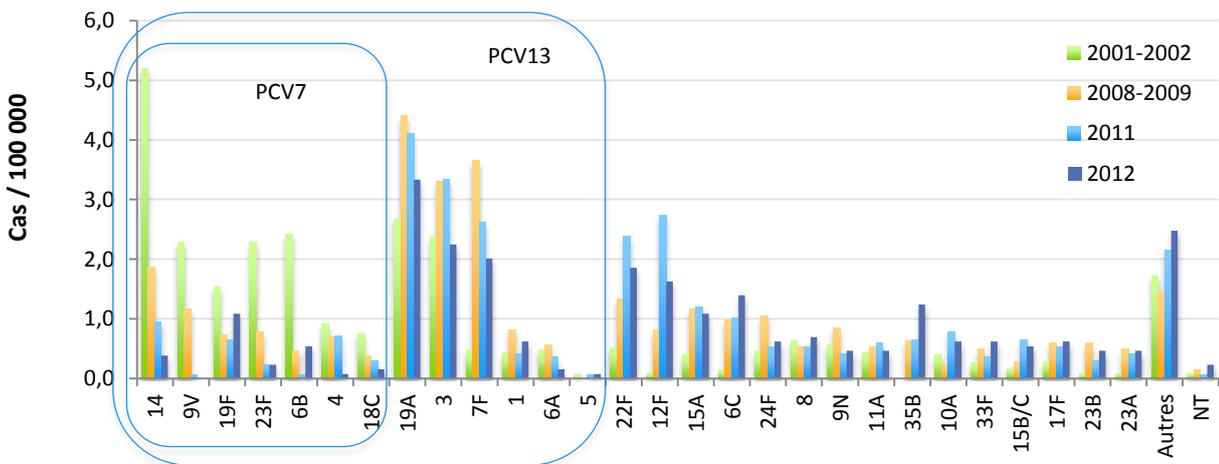


Figure 9 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez les adultes âgés de plus de 64 ans entre 2001-2002 et 2012.

Les données sur la distribution des sérotypes qui sont présentées dans les tableaux suivants (Tableau 2, Tableau 3, Tableau 4) doivent être mises en regard avec les données d'incidence (Figure 4, et Figure 5 à Figure 9).

Tableau 2 – Principaux sérotypes (fréquence ≥ 2%) isolés dans les infections invasives de l'enfant et de l'adulte en 2012.

Sérotype	Bactériémies (n=633)		Méningites (n=324)		Total (n=957)
	Enfant (≤15 ans) (n=165)	Adulte (n=468)	Enfant (≤15 ans) (n=88)	Adulte (n=236)	
12F [°]	9,7%	9,4%	14,8%	9,3%	9,9%
19A [*]	6,7%	11,3%	6,8%	6,8%	9,0%
3 [*]	2,4%	9,4%	4,5%	11,4%	8,3%
7F [*]	5,5%	8,5%	10,2%	5,9%	7,5%
1 [*]	21,8%	4,9%	2,3%	0,4%	6,5%
24F	11,5%	3,2%	13,6%	3,0%	5,5%
22F [°]	2,4%	7,1%	4,5%	4,7%	5,4%
19F [*]	4,8%	2,6%	5,7%	5,9%	4,1%
6C	0,0%	3,8%	2,3%	7,2%	3,9%
15A	3,6%	1,9%	4,5%	6,8%	3,7%
35B	0,6%	3,8%	2,3%	3,8%	3,1%

* Sérotype contenu dans le vaccin conjugué 13-valent et dans le vaccin polysidique 23-valent

° Sérotype contenu uniquement dans le vaccin polysidique 23-valent.

Tableau 3 – Fréquence des sérotypes des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline en 2012.

Sérotype	Bactériémies (n=126)		Méningites (n=82)		Total (n=208)
	Enfant (≤15 ans) (n=30)	Adulte (n=96)	Enfant (≤15 ans) (n=19)	Adulte (n=63)	
19A [†]	30,0%	38,5%	31,6%	20,6%	31,3%
19F [*]	20,0%	8,3%	26,3%	22,2%	15,9%
15A	13,3%	7,3%	15,8%	20,6%	13,0%
35B	3,3%	15,6%	5,3%	14,3%	12,5%
14 [*]	10,0%	6,3%	5,3%	4,8%	6,3%
24F	16,7%	3,1%	0,0%	1,6%	4,3%
23B	3,3%	1,0%	5,3%	4,8%	2,9%
6C	0,0%	1,0%	5,3%	3,2%	1,9%
6B [*]	0,0%	2,1%	0,0%	3,2%	1,9%
9A	0,0%	4,2%	0,0%	0,0%	1,9%
15C	0,0%	2,1%	0,0%	1,6%	1,4%
23F [*]	0,0%	2,1%	0,0%	1,6%	1,4%
NT	3,3%	0,0%	5,3%	0,0%	1,0%
29	0,0%	2,1%	0,0%	0,0%	1,0%
6A ^{**}	0,0%	2,1%	0,0%	0,0%	1,0%
23A	0,0%	2,1%	0,0%	0,0%	1,0%
7F [‡]	0,0%	0,0%	0,0%	1,6%	0,5%
22F	0,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,5%
11A ^{°§}	0,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,5%

* Sérotype contenu dans le vaccin conjugué 7-valent

† Sérotype contenu dans le vaccin conjugué 13-valent et dans le vaccin polysidique 23-valent,

** Sérotype contenu uniquement dans le vaccin conjugué 13-valent,

° Sérotype contenu uniquement dans le vaccin polysidique 23-valent.

§ Sérotype habituellement sensible aux bêta-lactamines

Tableau 4 – Évolution de la couverture sérotypique (%) des vaccins conjugués 7-valent (PCV7) et 13-valent (PCV13), et du vaccin polysidique 23-valent (PPV23) en fonction de l'âge dans les infections invasives (méningites et bactériémies) entre 2001 et 2012.

Couverture sérotypique (%)	Vaccin*	Enfants			Adultes	
		0-23 mois	24-59 mois	5-15 ans	16-49 ans	≥ 50 ans
2001	PCV7	66,1	62,9	33,3	41,8	50,8
	PCV13	89,1	88,6	83,3	74,8	75,3
	PPV23	93,0	89,5	90,5	82,8	86,6
2003	PCV7	64,3	56,1	33,6	40,2	51,7
	PCV13	89,6	93,5	85,8	71,5	77,0
	PPV23	92,6	96,3	92,0	84,4	88,7
2005	PCV7	44,3	47,7	28,6	39,4	41,0
	PCV13	83,3	88,3	82,7	71,4	70,2
	PPV23	90,5	94,5	94,0	83,1	82,3
2007	PCV7	16,4	16,4	18,9	24,3	28,6
	PCV13	73,3	73,3	79,3	67,2	65,3
	PPV23	82,8	84,3	85,6	79,5	83,6
2009	PCV7	5,8	1,3	5,6	11,1	14,5
	PCV13	71,2	78,4	76,5	61,0	57,7
	PPV23	82,7	85,6	86,4	77,3	75,4
2011	PCV7	4,0	3,1	8,2	6,4	9,6
	PCV13	29,1	56,6	64,9	47,2	46,9
	PPV23	65,1	76,0	89,6	77,7	76,2
2012	PCV7	6,1	8,5	6,8	7,7	8,4
	PCV13	23,7	55,9	59,3	40,2	40,4
	PPV23	58,5	79,7	78,0	75,1	68,2

*Sérotypes contenus dans chacun des vaccins conjugués :

PCV7 : 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F

PCV13 : 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F + 1, 3, 5, 6A, 7F, 19A

Sérotypes contenus dans le vaccin polysidique PPV23 : 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F et 33F.

Activités

Analyses et expertises effectuées dans le cadre des missions du CNRP en 2012

Expertise biologique

Confirmation de l'identification

L'identification des pneumocoques ne pose habituellement pas de problème. Cependant, conformément à sa mission, le CNRP répond à toute demande concernant l'identification, ou le sérotypage.

L'identification des souches atypiques est une tâche importante du CNRP. En effet, outre les tests phénotypiques que nous effectuons (aspect des colonies, sensibilité à l'optochine, lyse par les sels biliars et sérotypage), l'appartenance à l'espèce *Streptococcus pneumoniae* des souches atypiques (résistantes à l'optochine, non lysées par les sels biliars) et/ou non typables doit être vérifiée par des méthodes moléculaires.

La méthode utilisée en première intention consiste à mettre en évidence par PCR 3 gènes dont la présence conjointe est quasi-spécifique de *S. pneumoniae* :

- le gène codant pour l'autolysine principale (*lytA*)
- le gène de la pneumolysine (*ply*)
- le gène capsulaire *cpsA*

Dans les cas douteux (présence d'un seul ou 2 des 3 gènes précédemment cités), l'identification est précisée par MLST (Multi Locus Sequence Typing).

Sérotypage

Le **sérotypage** est une des principales activités du CNRP. En 2013, **2300 souches ont été sérotypées, dont 993 souches isolées en 2012 dans le cadre de l'étude épidémiologique** du réseau de surveillance de *S. pneumoniae* (Tableau 5). Le sérotypage (Annexe C) est réalisé dans la majorité des cas à l'aide d'antisérums fournis par le Statens Serum Institut (Copenhague, Danemark), et permet de déterminer 91 sérotypes, incluant le sérotype 6C. Les souches ne réagissant avec aucun des antisérums sont déclarées "non typables".

Les techniques utilisées au CNRP sont :

- l'agglutination sur lame, à l'aide de latex sensibilisés (en routine)
- le gonflement capsulaire ou « Quellung » (en cas d'agglutinations douteuses, discordances),

Pour les prélèvements à culture négative, nous réalisons le sérotypage par PCR multiplexes. (cf § Participation à la mise au point, à l'évaluation et aux recommandations concernant les techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage).

Depuis 2010, le CNRP participe au contrôle de qualité européen organisé par l'ECDC dans le cadre du projet européen « Invasive Bacterial Diseases Surveillance in the European Union ».

Maintien, détention et diffusion de techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage

Le CNRP tient à disposition les souches de référence de sa collection, ainsi que des souches cliniques de phénotype et/ou de génotype bien caractérisés dont elle s'enrichit chaque année.

Chaque année, certaines de ces souches sont transmises à la demande et à titre gracieux.

Régulièrement, une sélection de souches est diffusée à l'ensemble des correspondants du réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque, pour servir de contrôle de qualité (interne ou externe) à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, ou au sérotypage, ou encore à des fins pédagogiques lors d'études spécifiques. Des souches de référence (R6, souche sauvage, et deux souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines, ATCC49619 et CNRP966) sont utilisées comme contrôle de qualité interne pour la détermination des CMI de bêta-lactamines.

Participation à la mise au point, à l'évaluation et aux recommandations concernant les techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage

Sérotypage par PCR : Cette technique de sérotypage a été adaptée du protocole proposé par le CDC et est disponible au CNRP depuis 2010. Elle a l'avantage de permettre la détermination de sérotypes à partir de prélèvements dont les cultures sont négatives (antibiothérapie, ...). L'approche consiste à amplifier de courtes régions du locus capsulaire spécifiques de types ou de groupes (Brito *et al.* J Clin Microbiol. 2003;41:2378-84 ; Pai *et al.* J Clin Microbiol. 2006;44:124-31). Elle a cependant des inconvénients. Elle est fastidieuse car met en œuvre jusqu'à 8 PCR multiplexes séquentielles. De plus, à ce jour, l'éventail des amorces ne permet de déterminer que les sérogroupes ou sérotypes suivants, sans pouvoir discriminer certains d'entre eux : 1, 2, 3, 4, 5, 6A/B, 6C, 7A/F, 7B/7C/40, 8, 9A/V, 9L/N, 10A, 10C/10F/33C, 11A/D, 12A/12F/44/46, 13, 14, 15A/F, 15B/C, 16F, 17F, 18A/B/C/F, 19A, 19F, 20, 21, 22A/F, 23A, 23B, 23F, 24A/B/F, 25F/38, 31, 33A/33F/37, 35A/35C/42, 35B, 35F/47F et 39 (*Streptococcus* Laboratory Protocols - NCIRD/DBD/RDB - Centers for Disease Control and Prevention). Elle a été mise à profit, par exemple, sur une centaine d'extraits d'ADN obtenus à partir de liquides pleuraux pour le typage de pneumocoques responsables de pleurésies purulentes.

Multi Locus Sequence Typing (MLST) : depuis 2002 - 2003, le CNRP réalise la technique de typage moléculaire par séquençage d'un panel de 7 gènes représentatifs et conservés de *Streptococcus pneumoniae* ou MLST (<http://spneumoniae.mlst.net/>). Cette technique permet :

- d'affiner l'investigation des cas groupés, dans le cas d'épidémies liées à certains clones largement répandus (cas du sérotype 9V retrouvé dans les deux épidémies investiguées en 2002, du sérotype 1 en 2008, du sérotype 19A au début de l'année 2012).
- de déterminer le sérotype voire le sérotype directement à partir du prélèvement lorsque le sérotypage par PCR ne permet pas de conclure. Cette technique a été mise à profit pour caractériser le pathogène responsable d'empyème chez des sujets vaccinés.
- de caractériser les clones circulants et de repérer, entre autre, d'éventuels échanges capsulaires chez *S. pneumoniae*, dans le cadre par exemple du suivi du vaccin conjugué anti-pneumococcique. Les résultats obtenus pour les principaux sérotypes de remplacement retrouvés dans les infections invasives ou en portage sont présentés dans le Tableau 21.

Contribution à l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

Nouvelles recommandations Françaises pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques : Le CNRP participe activement à l'élaboration des recommandations pour la réalisation et l'interprétation des antibiogrammes (Emmanuelle VARON fait partie du CA-SFM depuis 2003). À partir de 2014, le CA-SFM a décidé d'adhérer aux recommandations européennes EUCAST. Ces nouvelles recommandations seront prochainement disponibles sur le site de la SFM.

Les laboratoires disposent à l'heure actuelle de moyens fiables, simples et rapides pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la pénicilline et de différentes bêta-lactamines à chaque fois que cela est nécessaire (E-test® ou MICE test®). Le CNRP répond à toute demande d'étude de la sensibilité de souches aux bêta-lactamines et aux autres antibiotiques, par la détermination des CMI selon les méthodes standardisées recommandées par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Formation

Le CNRP participe à la formation de techniciens, de biologistes et de cliniciens, de Paris, de Province et de l'étranger :

- Stages de formation de une ou plusieurs semaines (Travaux pratiques : Étude des souches atypiques, antibiogramme, détermination des CMI par dilution en milieu gélosé, sérotypage) pour biologistes et techniciens.
- Publication de recommandations techniques : Cf. les recommandations du CA-SFM³, Guide de l'ONERBA et rapports d'activité annuels de l'ONERBA⁴.
- Enseignement :
 - Universitaire (différents DIU, M2 et M2Pro, DESC d'Infectiologie, DESC de vaccinologie),
 - Hospitalier
 - Cours de Bactériologie Médicale de l'Institut Pasteur.
- Formation Médicale Continue
 - Organisation et animation de sessions interactives en partenariat avec la SFM et la SPILF
 - Journées « Pneumocoques » (ORP)
- Publications didactiques dans des revues médicales ou de biologie de langue française (cf. liste des communications et publications).
- Organisation de congrès
 - Infectiologie : Emmanuelle Varon est membre du Conseil Scientifique des Journées Nationales d'Infectiologie (JNI), congrès national annuel de la Société Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF).

L'ensemble des activités réalisées au Centre National de Référence des Pneumocoques en 2013 est résumé dans le Tableau 5.

³ <http://www.sfm-microbiologie.org>

⁴ <http://www.onerba.org>

Tableau 5 – Activité du CNR des Pneumocoques en 2013

Activité	Étude	Souches ou prélèvements étudiés (n)
Recherche de <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Moraxella catarrhalis</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> à partir de prélèvements rhino-pharyngés	Epidémiologie du portage ¹	486
Sérotypage	ORP ²	993
	Autres correspondants	557
	Epidémiologie du portage	750
	Total	2300
Conservation		789
Étude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme) : oxacilline, macrolides, lincosamides, synergistines, kétolide, vancomycine, tétracycline, chloramphénicol, cotrimoxazole, rifampicine, fosfomycine, aminosides, fluoroquinolones.	ORP & Études	1495
Étude de la sensibilité aux antibiotiques (CMI)		
Pénicilline	ORP & Études	955
Amoxicilline	ORP & Études	723
Ampicilline	ORP & Études	440
Céfotaxime	ORP & Études	756
Ceftriaxone	ORP & Études	668
Vancomycine	ORP & Études	250
Érythromycine	Epidémiologie du portage & Études	384
Péfloxacin	ORP	20
Norfloxacin	ORP	20
Ciprofloxacine	ORP	20
Sparfloxacine	ORP	20
Lévofloxacine	ORP & Études	270
Moxifloxacine	ORP	170
Biologie moléculaire		
Extraction		147
PCR simplex	Dans le cadre de la mission du CNR ou de projets de recherche : recherche de	68
PCR multiplexes	gènes spécifiques dans des produits	53
Migration - Analyse des fragments	pathologiques, identification des	644
PCR - hybridation	souches atypiques, sérotypage par PCR	38
Typage moléculaire par MLST (7 gènes)	multiplexes, étude de la résistance aux	
Extraction	antibiotiques.	23
PCR		161
Séquences (Sens et antisens)		322
MLST analysés		94
Formation	Technique d'identification, sérotypage : accueil d'une technicienne stagiaire (une semaine).	

¹Epidémiologie des souches de pneumocoque isolées du rhino-pharynx chez l'enfant ;²ORP : souches adressées par les ORP.

Contribution à la surveillance épidémiologique

L'objectif du CNRP est de contribuer à l'obtention de données régulières et fiables concernant la résistance des pneumocoques aux antibiotiques d'intérêt médical et les infections pneumococciques. Ces données pourront ensuite être comparées aux données internationales (Projet de l'ECDC en cours, réseaux EARS-net, et IBD-labnet...).

Composition du réseau de surveillance

Pour pouvoir apprécier les tendances en fonction du temps, le CNRP a organisé un recueil de données cliniques et bactériologiques régulier et standardisé (Annexe C et Annexe F) à partir d'un réseau de laboratoires stable et représentatif (Tableau 6 et Tableau 7) :

- de l'ensemble du territoire : surveillance des différentes régions de France regroupées en 23 observatoires
- des différentes structures sanitaires : Centres Hospitaliers Universitaires, Centres Hospitaliers Généraux, cliniques...

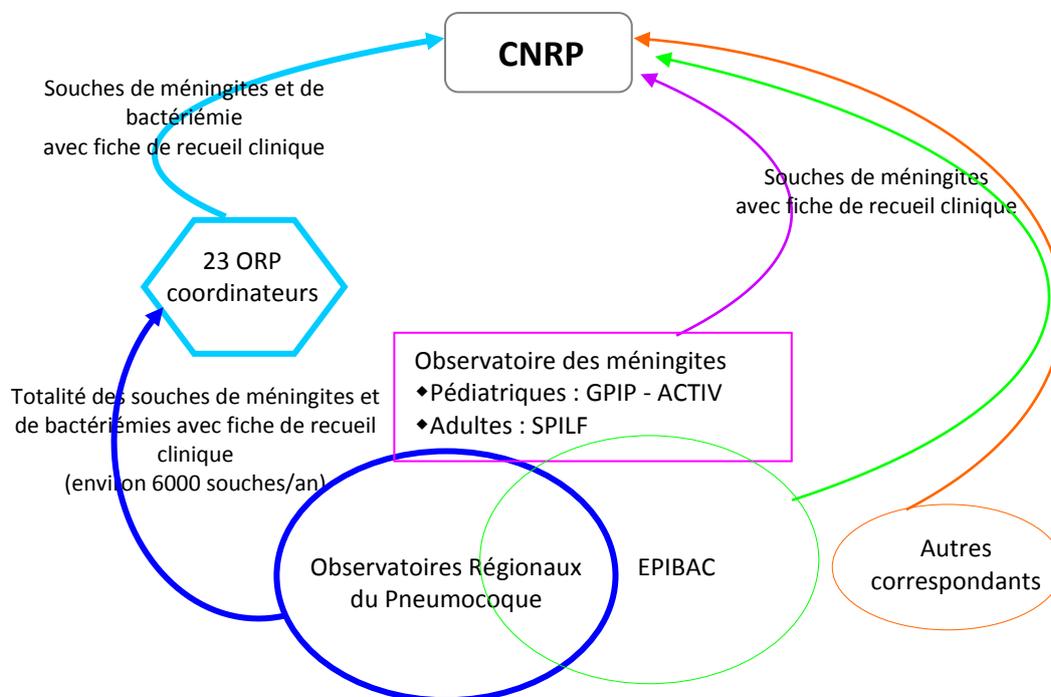


Figure 10 – Réseau de surveillance des pneumocoques : modalités de recueil centralisé des données sur les infections pneumococciques en France (souches et fiches de renseignements cliniques et bactériologiques).

Ainsi en 2012, le réseau de surveillance de *Streptococcus pneumoniae* se compose de 23 « Observatoires Régionaux du Pneumocoque » (ORP) (Tableau 7), auxquels participent 361 laboratoires dont :

- 300 (83%) laboratoires publics
- 61 (17%) laboratoires privés (LABM)

Ceux-ci desservent,

- 431 établissements de santé
- 4 318 726 entrées totales en médecine

soit **une couverture de 70%** (Tableau 6). La couverture des ORP par région est illustrée par la Figure 11 (chaque losange représente un ORP).

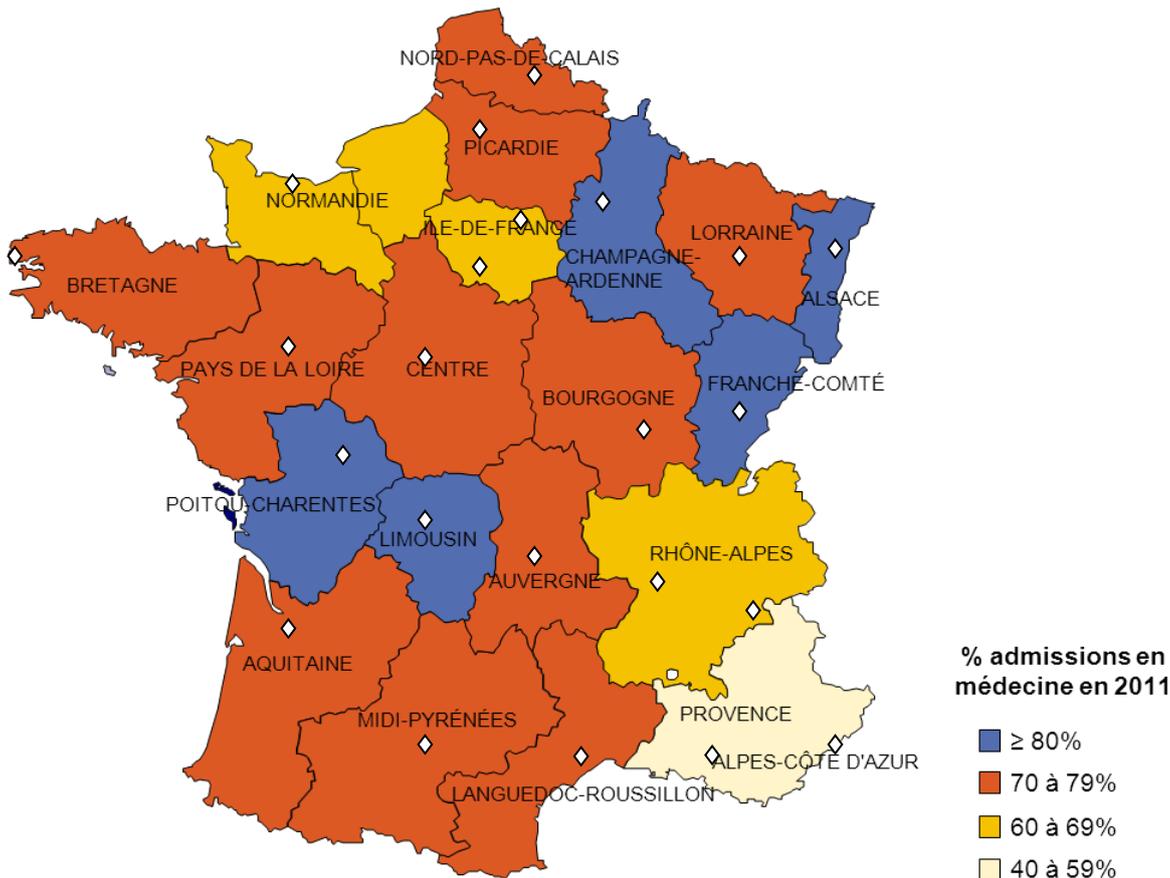


Figure 11 – Réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque : couverture par région en France métropolitaine en 2012.

Tableau 6 – Couverture du réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque de 2003 à 2011.

		2003	2005	2007	2009	2011
Laboratoires (n)	publics	299	290	306	321	300
	privés	104	116	124	79	61
Établissements de santé couverts (n)	CHU, CHG, Cliniques,...	497	448	468	489	431
	Réseau ORP	2 948 867	2 952 727	4 117 827	4 013 259	4 318 726
Admissions en médecine (n)*	France métropolitaine	4 694 860	4 782 564	5 111 481	5 521 765	6 175 064
	Couverture du réseau	62,8%	61,7%	80,6%	72,7%	69,9%

*Données SAE, <http://www.sae-diffusion.sante.gouv.fr/>.

Pour ce qui concerne le recueil des cas de méningites, l'ensemble des laboratoires est invité à participer, en particulier les laboratoires hospitaliers universitaires et non universitaires (Tableau 9), qui en raison de leur expérience et de leur motivation, participent aux réseaux suivants :

- EPIBAC (Institut de Veille Sanitaire)
- Observatoire des Méningites Bactériennes du nouveau-né et de l'enfant (GPIP-ACTIV)
- Observatoire COMBAT des méningites Bactériennes de l'Adulte (SPILF).

Une étude capture-recapture à 3 sources conduite en 2004 a permis d'estimer le nombre de méningites à pneumocoques survenu en 2001 et 2002 chez l'enfant et ainsi la sensibilité des trois réseaux impliqués dans la surveillance des méningites pédiatriques : EPIBAC, GPIP-ACTIV et ORP-CNRP. La sensibilité du réseau ORP-CNRP à détecter les méningites de l'enfant était respectivement de 64% et 53% en 2001 et 2002 et de 58% pour la période 2001-2002 (Perrocheau *et al.*, BEH 02-03 2006).

La couverture de ce réseau prend en compte la diversité démographique (hôpitaux pédiatriques, services de longs séjours, maisons de retraite).

Tableau 7 – Réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP) en 2012.

ORP	Coordinateur
ORP Alsace	Dr A. GRAVET
ORP Aquitaine	Dr B. SOULLIÉ
ORP Arc Alpin	Dr J. CROIZE, Dr. I PELLOUX
ORP Auvergne	Dr R. BARADUC
ORP Bourgogne	Dr A. PECHINOT
ORP Bretagne	Dr D. TANDÉ
ORP Centre	Dr P. LANOTTE
ORP Champagne-Ardenne	Dr V. VERNET-GARNIER
ORP Côte Azur	Dr T. FOSSE, Dr R. RUIMY
ORP Franche-Comté	Dr I. PATRY
ORP Ile de France-Est	Dr M.C. DEMACHY
ORP Languedoc-Roussillon	Dr M. BRUN
ORP Limousin	Dr M.C. PLOY
ORP Lorraine	Dr T. HADOU
ORP Midi-Pyrénées	Dr C. SEGONDS
ORP Nord-Pas de Calais	Dr F. WALLET
ORP Normandie	Dr M. VERGNAUD
ORP Paris-Ile de France Ouest	Dr J. RAYMOND
ORP Pays de La Loire	Dr M. KEMPF
ORP Picardie	Dr F. HAMDAD
ORP Poitou-Charentes	Dr J. CREMNITER
ORP Provence	Dr H. CHARDON, Dr N. BRIEU
ORP Rhône-Forez	Dr A. ROS, Dr A. CARRICAJO
ORP Nouvelle-Calédonie	Dr S. MERMOND

Définition de l'échantillon de souches étudiées en 2013

Étant donné la fréquence très élevée d'isolement des pneumocoques dans les laboratoires de microbiologie, notre effort porte depuis 2001, sur l'estimation de l'incidence des méningites et des infections pneumococciques sévères, encore appelées « invasives », par le recensement des cas d'isolement de souches de prélèvements d'interprétation univoque (liquides céphalo-rachidiens, hémocultures).

Le CNRP a pris en charge l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogrammes) ainsi que la détermination complète des sérotypes pour l'ensemble des souches transmises en 2012. Les CMI de bêta-lactamines ont été déterminées pour toutes les souches de sensibilité diminuée à la pénicilline ainsi que pour un échantillon de souches sensibles (Tableau 5). Les CMI de fluoroquinolones ont été déterminées pour les souches détectées résistantes par le test de norfloxacine.

L'étude épidémiologique porte sur un échantillon composé de :

- Toutes les souches isolées de méningites sur le territoire français, chez l'adulte et chez l'enfant
- Toutes les souches isolées d'hémocultures chez l'enfant ≤15 ans
- Un échantillon (17%) de souches isolées d'hémocultures chez l'adulte
- Toutes les souches isolées de liquide pleural

Il s'agit de souches non redondantes, doublons de prélèvements exclus. Pour un malade donné, un deuxième isolat de pneumocoque est pris en compte si le délai entre les deux prélèvements est supérieur à 30 jours.

Le nombre de souches effectivement transmises au CNRP est indiqué dans le Tableau 8.

La surveillance épidémiologique a porté sur 993 souches isolées **au cours de l'année 2012** en France métropolitaine parmi les 1010 souches de *S. pneumoniae* adressées au CNRP (Tableau 8). La différence est représentée par 17 souches (1,7%), dont la subculture est restée négative.

Les données surveillance de l'ORP ultra-marin de Nouvelle-Calédonie sont rassemblées dans un chapitre spécifique.

Tableau 8 - Origine des souches de *S. pneumoniae* isolées en 2012 effectivement adressées et étudiées au CNRP (dont le nombre de souches subculture négative indiqué entre parenthèses).

ORP	Hémocultures		LCR		Liquides pleuraux		Total
	≤15 ans	>15 ans	≤15 ans	>15 ans	≤15 ans	>15 ans	
Alsace	3	36	4	5	-	2	50
Aquitaine	4	-	6	13	1	2	26
Arc Alpin	11	31	5	6	-	4	57
Auvergne	6	38 (3)	-	4	-	-	48 (4)
Bourgogne	3	16 (4)	5	2	-	3	29 (4)
Bretagne	3	33 (1)	7	5	1	-	49 (1)
Centre	13	16	3 (1)	17	1	2	52 (1)
Champagne-Ardenne	4	15	1	6	-	2	28
Côte d'Azur	1	20 (1)	1	11	-	2	35 (1)
Franche-Comté	3	14	1	5	-	1	24
Ile de France-Est	18	13	3	12	-	2	48
Languedoc-Roussillon	8	25	3	9	1	-	46
Limousin	3	22	-	-	-	-	25
Lorraine	9	34	1	8	-	-	52
Midi-Pyrénées	11	35	3	14	-	2	65
Nord-Pas de Calais	13	29	8	25 (1)	-	2	77 (1)
Normandie	15	17	3	19	2	3	59
Paris-Ile de France - Ouest	4	6	12	10 (1)	-	-	32 (1)
Pays de La Loire	12 (2)	33	5 (1)	22 (1)	-	2	74 (4)

ORP	Hémocultures		LCR		Liquides pleuraux		Total
	≤15 ans	>15 ans	≤15 ans	>15 ans	≤15 ans	>15 ans	
Picardie	4	14	4	11	-	-	33
Poitou-Charentes	4	19 (1)	1	7	-	-	31 (1)
Provence	5	17	1	6	-	1	30
Rhône-Forez	13	-	3	4	-	-	20
Autre (Méningites)	-	-	7	13	-	-	20
France métropolitaine	170 (2)	483 (10)	87 (2)	234 (3)	6	30	1010 (17)
Nouvelle-Calédonie	4	19	-	3	-	-	26
Total général	175 (2)	502 (10)	86 (2)	237 (3)	6	30	1036 (17)

Le nombre de souches adressées par des correspondants ne participant habituellement pas aux ORP et nous ayant envoyé une ou plusieurs souche(s) de pneumocoque isolée(s) de méningites en 2012 est indiqué dans le Tableau 9.

Tableau 9 – Correspondants ne participant pas aux ORP, et ayant adressé au moins une souche invasive de *S. pneumoniae* isolée de méningite dans le cadre de l'étude épidémiologique en 2012.

Laboratoire	Correspondant	Souches adressées (n)
Hôpital Delafontaine, Saint Denis	Dr. C. CHAPLAIN	5
C.H. Lens	Dr. J.P. CANNONE	4
C.H.U. La Timone, Marseille	Dr. F. GOURIET	2
C.H. Saint Joseph, Paris	Dr. M.D. KITZIS, Dr. J.C. N'GUYEN	2
C.H. André Mignot, Le Chesnay	Dr B. PANGON	1
C.H.I. Rambouillet	Dr. C. BARTIZEL	1
C.H.G. Bastia	Dr. V. PERENNOU	1
LABM, Lievin	Dr. I. MARQUET	1
Laboratoire Novescia, Wissous	Dr. B. ALUES PEREIRA	1
C.H.U. Raymond Poincaré, Garches	Dr. J.L. GAILLARD	1
C.H.I Frejus	Dr. L. ROUDIÈRE	1
Total		20

Surveillance de la distribution des sérotypes

En 2013, 993 souches ont été sérotypées dans le cadre de l'étude épidémiologique 2012 (France métropolitaine).

Remarque

La fréquence relative des différents sérotypes et l'analyse de leur distribution a été réalisée :

- Globalement pour l'ensemble des groupes d'âge, par année d'étude entre 2001-2002 et 2012 (Figure 12).
- Après stratification par groupe d'âge :
 - Enfants ≤ 15 ans (Figure 13)
 - Adultes > 15 ans (Figure 14)
- Pour l'année 2012, après stratification par type de prélèvement (hémoculture et LCR)
 - Globalement (Figure 15)
 - En fonction de l'âge :
 - Enfants ≤ 15 ans (Figure 16)
 - Adultes > 15 ans (Figure 17)

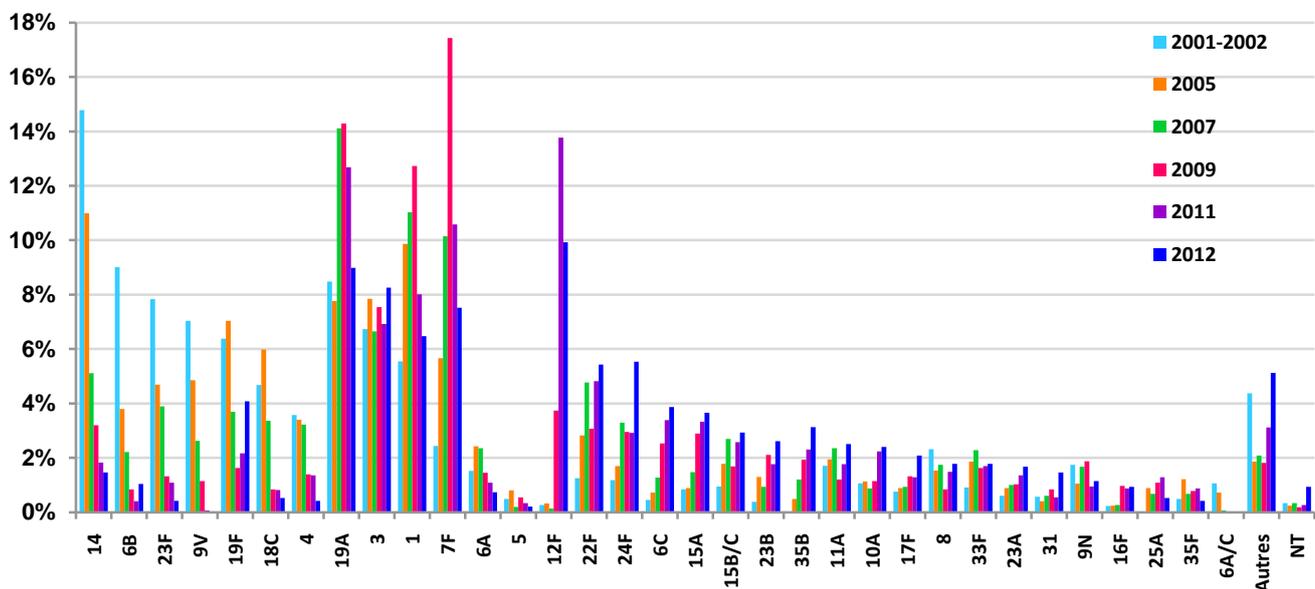


Figure 12 – Distribution comparée des sérotypes des souches invasives (Hémoculture, LCR) de *S. pneumoniae* quel que soit l'âge en 2001-2002 (n=2631), 2005 (n=1237), 2007 (n=1488), 2009 (n=1658), en 2011 (n=1474) et en 2012 (n=957).

- Globalement (Figure 12), le sérotype 12F, bien qu'en diminution par rapport à 2011, est prédominant dans les infections invasives, devant les sérotypes 19A, 3, 7F et 1, tous en baisse à l'exception du sérotype 3. Neuf souches (0,9%) étaient non typables (NT) en 2012.
- La fréquence respective de ces sérotypes varie selon l'âge (Figure 13 et Figure 14)
 - Chez l'enfant (≤ 15 ans) trois sérotypes dominent : le sérotype 1, le sérotype 24F, en nette progression dans les méningites et les bactériémies, et le sérotype 12F.
 - Chez l'adulte (> 15 ans), la diversité des sérotypes est plus importante. Les trois sérotypes majoritaires dans les infections invasives restent le 3, le 19A, et le 12F. Viennent ensuite les sérotypes 7F, 22F, 6C et 15A.
- La fréquence respective de ces sérotypes varie avec la nature du prélèvement (Figure 15 à Figure 17).
 - Dans les hémocultures, près d'un tiers des souches invasives sont des souches de sérotypes 19A, 12F et 1, ce dernier n'étant que rarement isolé de méningites (<1%).
 - Dans les méningites, deux sérotypes non vaccinaux prédominent chez l'enfant : les sérotypes 12F et 24F. Chez l'adulte, ce sont les sérotypes 3, 12F, 6C et 15A. Curieusement, on constate la persistance de cas liés au sérotype 19F chez l'enfant comme chez l'adulte, alors que les autres sérotypes couverts par le PCV7 ne sont quasiment plus retrouvés.

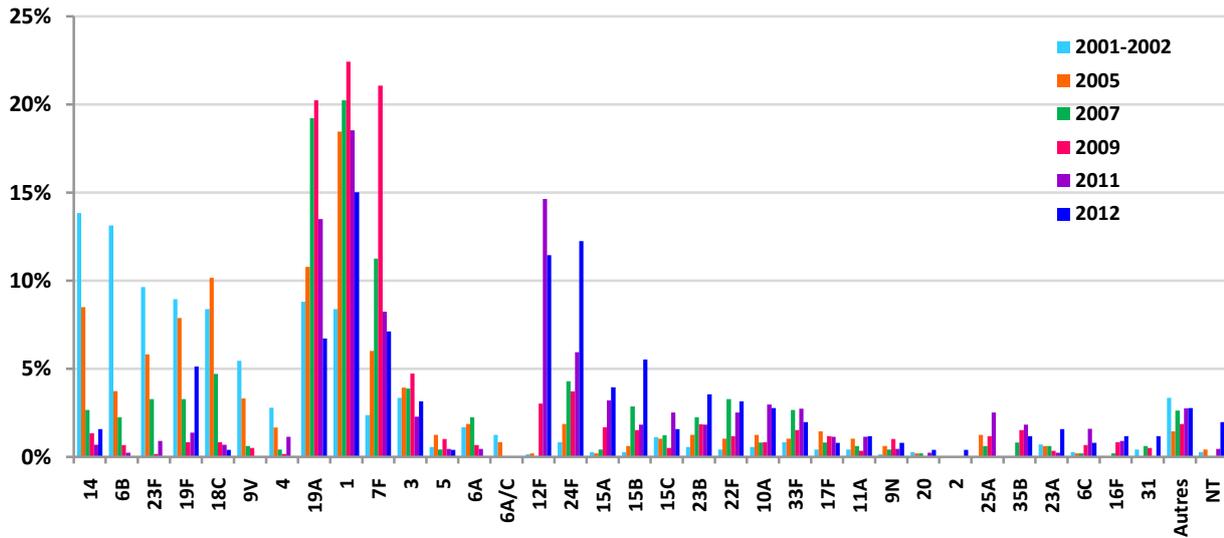


Figure 13 – Distribution comparée des sérotypes des souches invasives (Hémoculture, LCR) de *S. pneumoniae* de l'enfant (≤ 15 ans) en 2001-2002 (n=715), 2005 (n=482), 2007 (n=489), 2009 (n=593), en 2011 (n=437) et en 2012 (n=253).

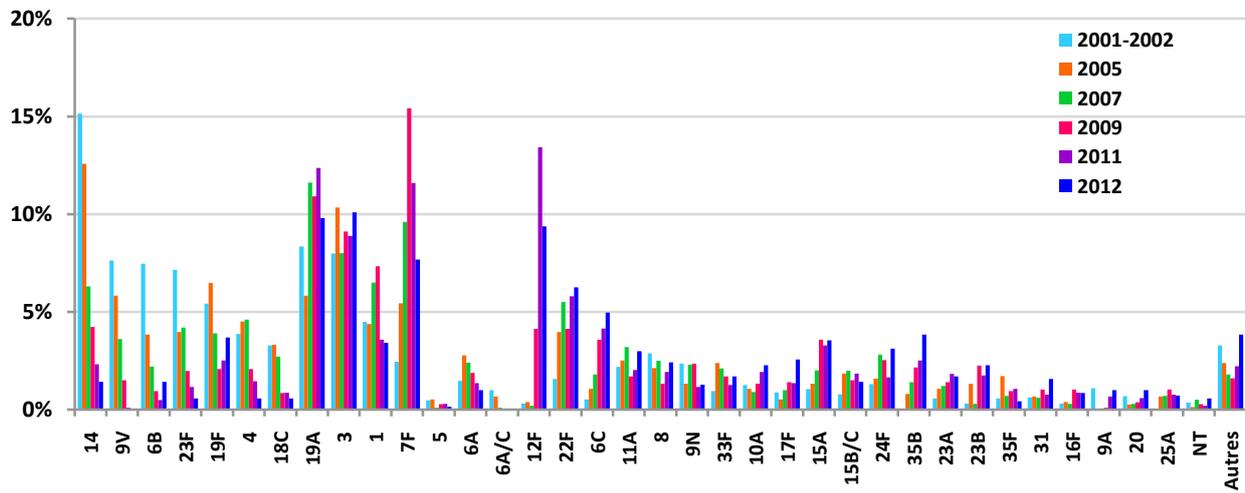


Figure 14 – Distribution comparée des sérotypes des souches invasives (Hémoculture, LCR) de *S. pneumoniae* de l'adulte en 2001-2002 (n=1916), 2005 (n=755), 2007 (n=999), 2009 (n=1064), en 2011 (n=1035) et en 2012 (n=704).

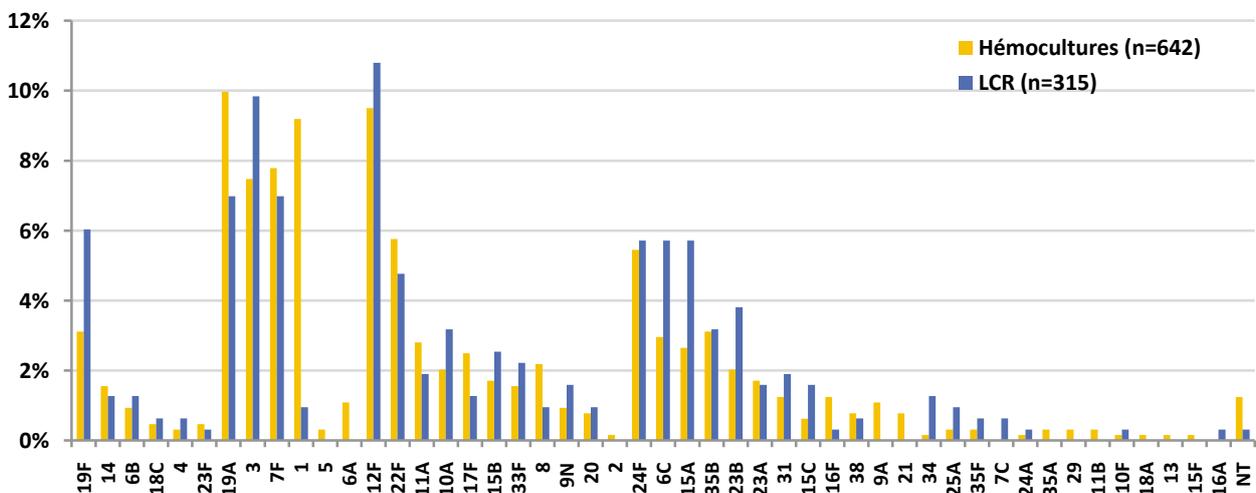


Figure 15- Distribution des sérotypes de 957 souches de *S. pneumoniae* isolées d'hémoculture ou de LCR en 2012, quel que soit l'âge.

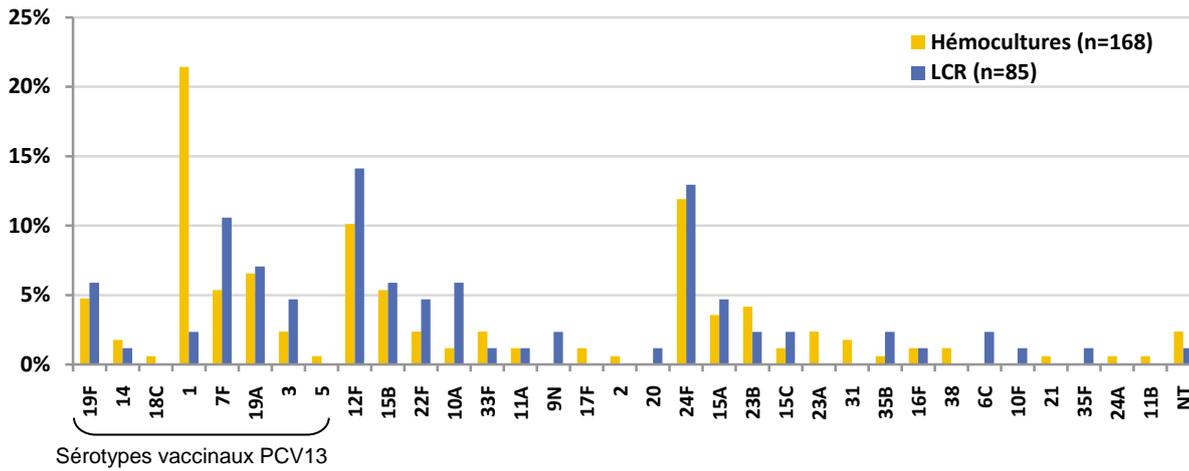


Figure 16 – Distribution des sérotypes de 253 souches isolées d'hémoculture ou de LCR en 2012 chez l'enfant (≤ 15 ans).

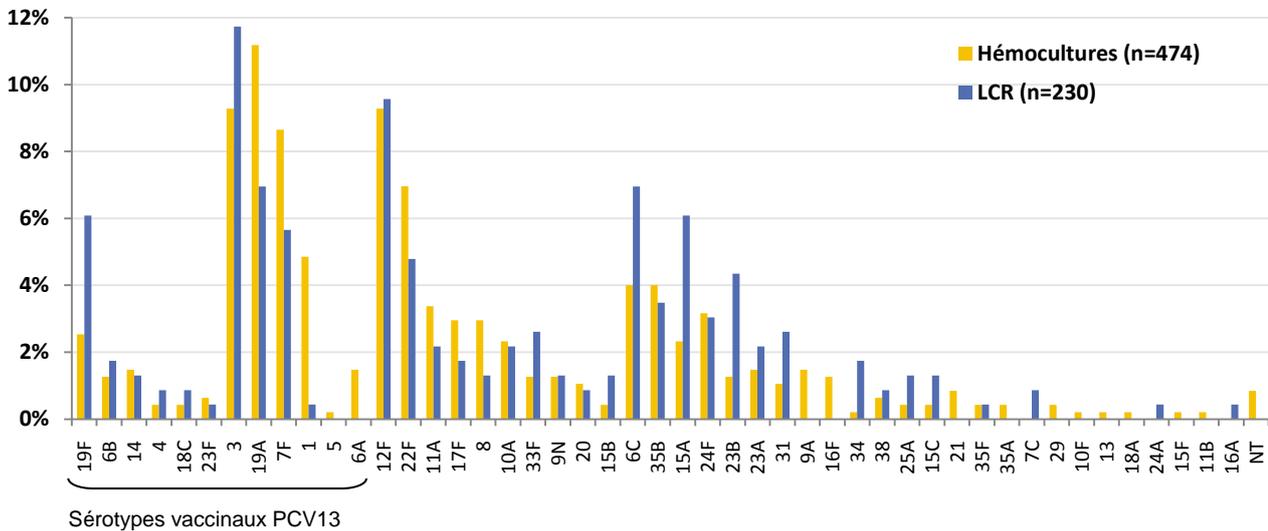


Figure 17 - Distribution des sérotypes des 704 souches isolées d'hémoculture ou de LCR en 2012 chez l'adulte (> 15 ans).

Fréquence du sérotype 6C

Le sérotype 6C (cf. § Expertise biologique - sérotypage) est devenu depuis 2009 le principal sérotype du sérogroupe 6. Il est significativement plus souvent isolé dans les infections invasives à pneumocoques de l'adulte (Tableau 10). En 2012, on observe une diminution du nombre des infections invasives liées à ce sérotype (sauf chez les adultes de plus de 64 ans), qui pourrait s'expliquer par un effet indirect du PCV13, en raison de l'immunogénicité croisée induite par le sérotype 6A vis-à-vis du 6C.

L'épidémiologie des souches de pneumocoque de sérotype 6C isolées d'infections invasives et de portage rhino-pharyngé fait l'objet d'un article publié dans la revue PlosOne⁵.

Tableau 10 - Nombre de souches invasives de *S. pneumoniae* du sérogroupe 6 selon le groupe d'âge.

Age	Sérotype du groupe 6	2003	2007	2009	2011	2012
<24 mois	6A	10	8	3	2	-
	6C	1	1	1	2	1
	6B	36	5	3	1	-
2-15 ans	6A	2	3	1	0	-
	6C	0	0	3	5	1
	6B	7	6	1	0	-
16-64 ans	6A	9	10	9	8	5
	6C	9	9	17	26	17
	6B	17	14	1	4	3
>64 ans	6A	11	14	11	6	2
	6C	2	9	21	17	18
	6B	20	8	9	1	7
Total		124	87	80	72	54

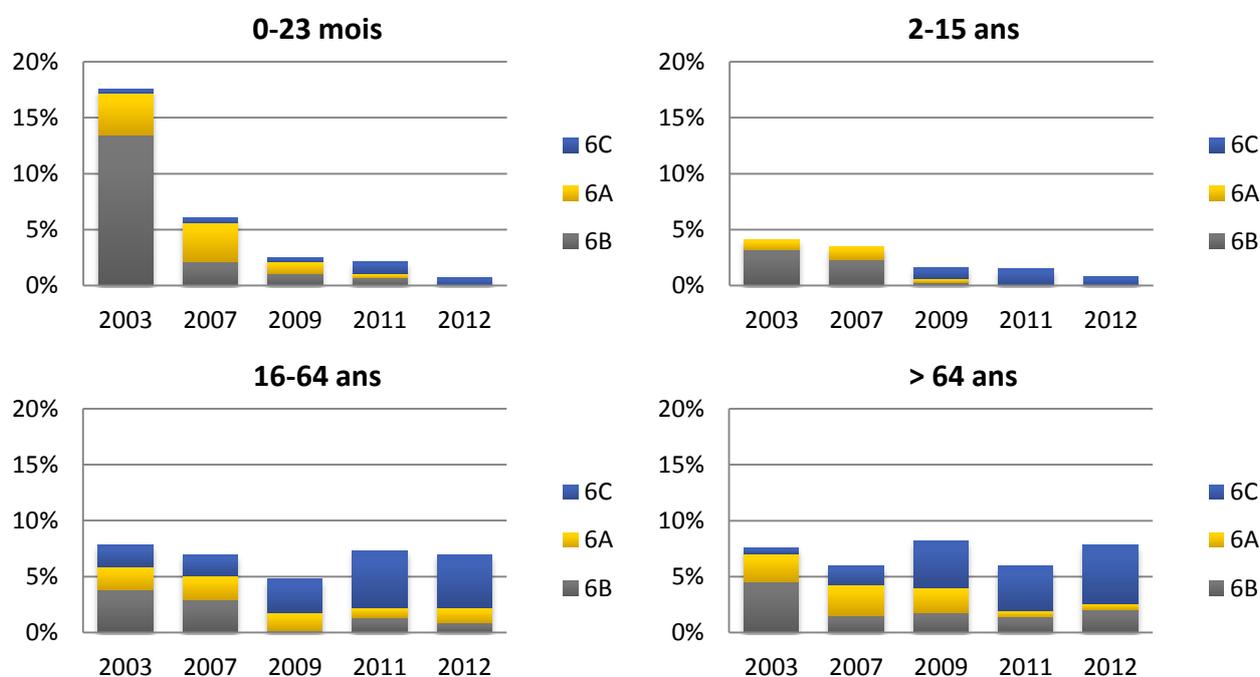


Figure 18 - Évolution de 2003 à 2012 de la distribution des sérotypes 6B, 6A et 6C parmi les souches invasives selon le groupe d'âge

⁵ Janoir et al. PLoS One. 2014 Mar 6;9(3):e90935. doi: 10.1371/journal.pone.0090935. eCollection 2014.

Surveillance des sérotypes dans le cadre de la vaccination anti-pneumococcique, évaluation de la couverture sérotypique

La surveillance épidémiologique des sérotypes de portage et d'infections a permis d'évaluer l'impact du vaccin conjugué anti-pneumococcique heptavalent (valences 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F et 23F) introduit dans le calendrier vaccinal en 2003, puis l'impact du vaccin conjugué 13-valent (valences 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F et 23F) qui a remplacé le vaccin heptavalent depuis juin 2010.

Par son activité de sérotypage des souches invasives (méningites et bactériémies) et des souches non invasives (OMA et/ou prélèvements respiratoires selon les années), le CNRP contribue à l'évaluation de la couverture « sérotypique » (% souches ayant un sérotype contenu dans le vaccin) pour les vaccins conjugués heptavalent et 13-valent, ainsi que pour le vaccin polysidique 23-valent (valences 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F et 33F) (Figure 19, Figure 20, Tableau 11).

La couverture sérotypique du vaccin conjugué PCV7 pour les souches « invasives » est de 7 % chez les enfants, et d'un peu plus de 8% chez l'adulte.

Les sérotypes couverts par le PCV13 représentent 24% des infections invasives de l'enfant de moins de 2 ans et 40% de celles de l'adulte (Figure 19, Figure 20). En 2012, la couverture sérotypique du vaccin conjugué 13-valent dans la population étudiée est plus élevée pour les souches isolées de bactériémies (43%) que pour celles isolées de méningites (34%) (Tableau 11).

Dans la population adulte (> 15 ans), la couverture sérotypique du vaccin polysidique 23-valent est de 63% pour les souches isolées de méningites, et de 73% pour les souches de bactériémies.

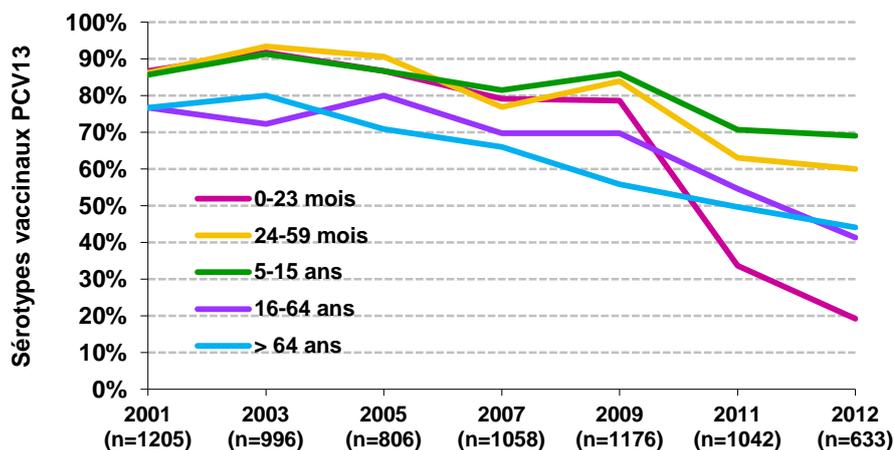


Figure 19 – Évolution de la couverture sérotypique du vaccin conjugué 13-valent (PCV13) dans les bactériémies entre 2001 et 2012 en fonction du groupe d'âge.

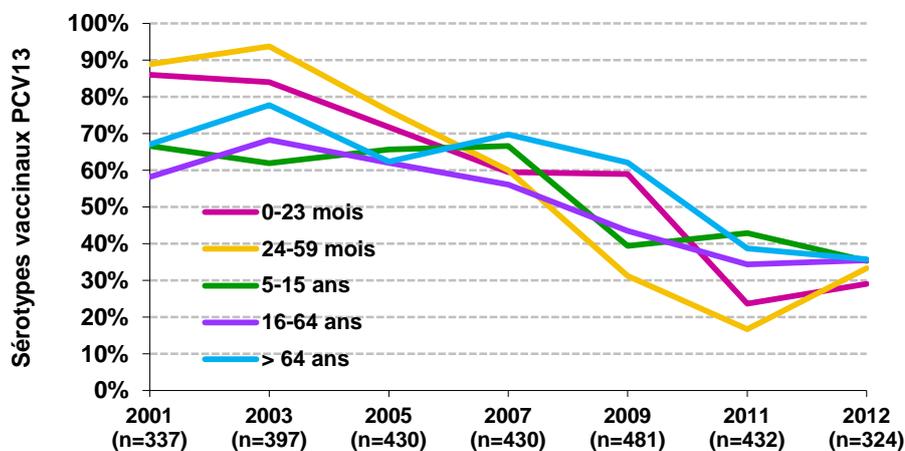


Figure 20 – Évolution de la couverture sérotypique du vaccin conjugué 13-valent (PCV13) dans les méningites entre 2001 et 2012 en fonction du groupe d'âge.

Tableau 11 – Couverture sérotypique des vaccins **conjugués heptavalent (PCV7)** et **13-valent (PCV13)**, et du vaccin **23-valent (PPV23)** pour les souches « invasives » (méningites et bactériémies) chez l'enfant et l'adulte, en 2012.

Couverture sérotypique								
Groupe d'âge	Méningites				Bactériémies			
	n	PCV7	PCV13	PPV23	n	PCV7	PCV13	PPV23
0-23 mois	62	6,5%	29,0%	64,5%*	73	6,9%	19,2%	53,4%*
24-59 mois	9	11,1%	33,3%	88,9%	50	8,0%	60,0%	78,0%
5-15 ans	17	5,9%	35,3%	70,6%	42	7,1%	69,1%	81,0%
16-64 ans	138	8,0%	35,5%	65,2%	221	5,9%	41,2%	76,0%
>64 ans	98	15,3%	35,7%	60,2%	247	7,7%	44,1%	73,7%
Total	324	9,9%	34,3%	64,5%	633	7,0%	43,1%	73,0%

*PPV23 non indiqué avant l'âge de 2 ans.

Évaluation du portage rhino-pharyngé de pneumocoque chez l'enfant

L'activité de sérotypage des souches isolées de portage rhino-pharyngé chez l'enfant de 6 à 24 mois dans le cadre d'études, est un complément indispensable à la surveillance des sérotypes en circulation dans la population. En effet, la surveillance des sérotypes isolés d'OMA (par paracentèse) est insuffisante car elle reflète essentiellement les sérotypes responsables des OMA en échecs de traitement, seule situation où une paracentèse est recommandée en France.

Depuis Septembre 2002, le CNRP participe à l'évaluation de l'impact du vaccin conjugué anti-pneumococcique heptavalent, puis 13-valent depuis juin 2010, sur le portage rhino-pharyngé du pneumocoque au cours des OMA de l'enfant entre 6 et 24 mois. Pour la période 2012-2013 dans une population où plus de 97% des enfants sont vaccinés, les sérotypes contenus dans le vaccin 13-valent représentent 12% des pneumocoques de colonisation, alors que la proportion d'enfants porteurs de pneumocoques a peu diminué (62% en 2012-2013 vs. 71% en 2002-2003). Cinq sérotypes non vaccinaux de remplacement dépassent les 8% en 2012 : les sérotypes 15B/C, 15A, 35B, 23B et 11A, en hausse par rapport à la période 2011-2012, à l'exception des sérotypes 15A et 11A (Figure 21). Parmi ces sérotypes prédominants, les sérotypes 15A et 35B sont majoritairement de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines.

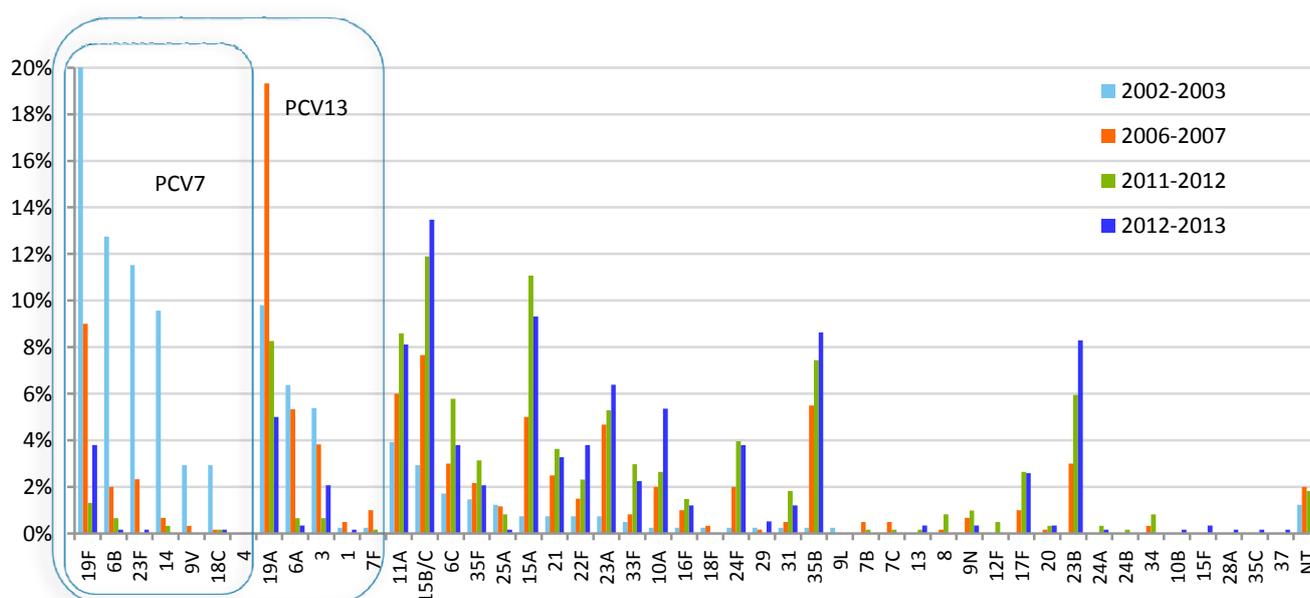


Figure 21 - Distribution des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées du rhino-pharynx au cours d'OMA chez des enfants âgés de 6 à 24 mois en 2002-2003 (n=410), 2006-2007 (n=600), 2011-2012 (n=605) et en 2012-2013 (n=581), quel que soit leur statut vaccinal.

Surveillance de la résistance aux antibiotiques

Le CNRP réalise l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (Annexe A). Un choix judicieux d'antibiotiques permet de détecter au moyen de l'antibiogramme (méthode des disques) les mécanismes de résistance connus. Cette étude est complétée par la détermination de la CMI de la pénicilline, de l'amoxicilline, du céfotaxime et de la ceftriaxone pour les souches dépistées de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines. La CMI des fluoroquinolones considérées comme actives sur le pneumocoque, lévofloxacine et moxifloxacine, est déterminée pour les souches de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones détectées par l'antibiogramme (norfloxacine résistantes). (Résistance globale aux antibiotiques, Tableau 12)

Résistance globale aux antibiotiques

En 2012, cette surveillance permet d'estimer la fréquence de la résistance pour les souches isolées d'infections invasives : méningites et bactériémies accompagnant ou non une pneumonie, et ayant conduit à une hospitalisation. Pour l'analyse des tendances, se reporter aux chapitres spécifiques.

Remarque : les données concernant les souches isolées de liquides pleuraux ne font pas partie, *sensu stricto*, de l'échantillon étudié chaque année, et sont présentées dans un chapitre spécifique.

Tableau 12 – Sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. pneumoniae* isolées en 2012.

Antibiotique	Valeurs critiques		Souches (n)	%S	%I	%R
	S	R				
Pénicilline	≤ 0,06 mg/L	> 2 mg/L	957	78,3	21,7	0
Amoxicilline	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	957	92,0	7,8	0,2
Céfotaxime	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	957	98,6	1,4	0
Ceftriaxone	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	896	98,3	1,7	0
Lévofloxacine	≤ 2 mg/L	-	932	99,9	-	0,1
Moxifloxacine	≤ 0,5 mg/L	-	932	99,9	-	0,1
Érythromycine	≥ 26 mm	< 24 mm	957	71,5	1,3	27,2
Lincomycine	≥ 21 mm	< 17 mm	931	79,2	3,6	17,2
Pristinamycine	≥ 19 mm	-	952	100	-	0
Télithromycine	≥ 24 mm	< 21 mm	925	99,6	0,1	0,3
Cotrimoxazole	≥ 19 mm	< 16 mm	931	88,1	3,2	8,7
Rifampicine	≥ 29 mm	< 24 mm	944	98,7	1,3	0
Chloramphénicol	≥ 23 mm	-	946	94,8	-	5,2
Tétracycline	≥ 23 mm	< 21 mm	951	75,6	0,5	23,9
Fosfomycine	≥ 14 mm	-	933	99,1	-	0,9
Kanamycine	≥ 14 mm	< 10 mm	931	91,1	-	8,9
Gentamicine	≥ 17 mm	< 11 mm	957	100	-	0
Vancomycine	≥ 17 mm	-	957	100	-	0

Selon le CA-SFM 2012.

Résistance aux bêta-lactamines

A. Résultats globaux

En 2012, 21,7% des souches étudiées (isolées d'hémocultures et de LCR) sont de sensibilité diminuée à la pénicilline (CMI > 0,064 mg/L). Selon la définition proposée par le CA-SFM et EUCAST, aucune souche résistante à la pénicilline (CMI > 2 mg/L) n'a été isolée. Pour l'amoxicilline et le céfotaxime, les souches de sensibilité diminuée (CMI > 0,5 mg/L) représentent respectivement 8,0% et 1,4% ; cette proportion est en nette diminution par rapport aux années précédentes. Les souches résistantes à l'amoxicilline (CMI > 2 mg/L) sont très rares (0,2%), et aucune souche n'était résistante au céfotaxime et à la ceftriaxone.

La distribution des CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime des souches de pneumocoques isolées en 2012 d'infections invasives (méningites et bactériémies) est indiquée en Figure 22.

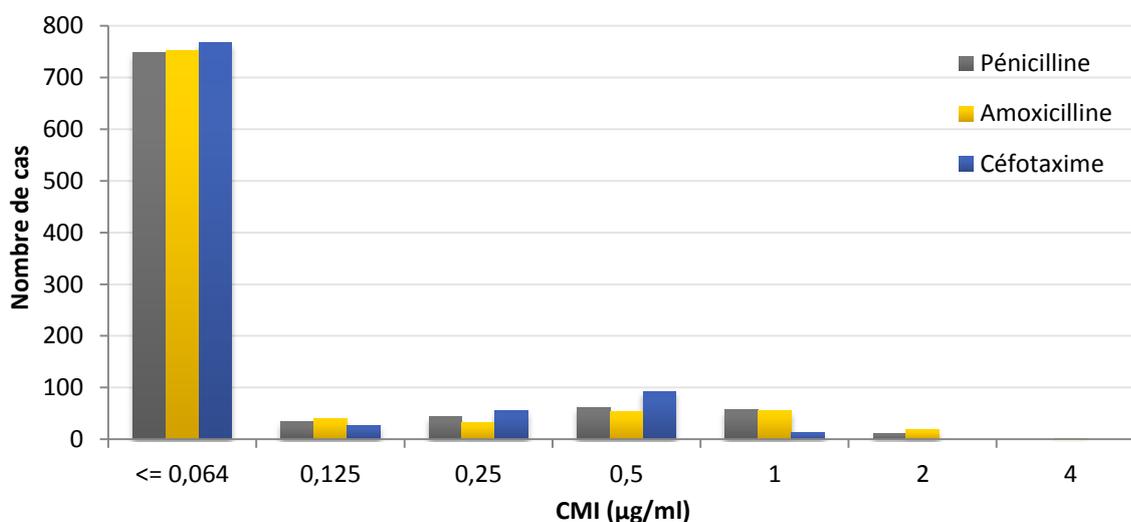


Figure 22 - Distribution des souches invasives de pneumocoques isolées en 2012 en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime (n=957).

Les CMI les plus élevées atteignent 2 mg/L pour la pénicilline, 4 mg/L pour l'amoxicilline, et 1 mg/L pour le céfotaxime et la ceftriaxone. Les caractéristiques des souches les plus résistantes sont rassemblées dans le Tableau 13.

Tableau 13 – Description des souches les plus résistantes aux bêta-lactamines (n=11).

Age	Sérotype	Site d'isolement	Région	Péni*	CMI (mg/L)				Résistance(s) associée(s)*
					AMX	CTX	CRO		
2 mois	19A	Hémoculture	Centre	2	1	1	1	E-T-K	
4 mois	15A	Hémoculture	Champagne-Ardennes	2	1	1	-	E-T-Co	
27 ans	35B	Hémoculture	Alsace	2	1	1	0,5	E-T-K-Ch	
57 ans	14	Hémoculture	Nord-Pas de Calais	1	4	1	0,5	Co	
62 ans	19A	Hémoculture	Midi-Pyrénées	1	1	1	1	E-T-K	
71 ans	19A	LCR	Normandie	2	2	1	-	E-T	
75 ans	23F	Hémoculture	Côte d'Azur	2	2	1	1	E-T-Co-Ch	
77 ans	14	LCR	Auvergne	2	2	1	1	Fo	
82 ans	14	Hémoculture	Lorraine	1	1	1	1	E-T-Co-Tel	
83 ans	19F	Hémoculture	Côte d'Azur	2	1	1	0,5	E-T	
92 ans	15A	LCR	Côte d'Azur	1	1	1	0,5	E-T-Co	

*Péni, pénicilline ; AMX, amoxicilline ; CTX, céfotaxime ; CRO, ceftriaxone ; E, érythromycine ; T, tétracycline ; K, kanamycine ; Co, cotrimoxazole ; Ch, chloramphénicol ; Fo, fosfomycine ; Tel, téli-thromycine.

Les caractéristiques des rares souches isolées de méningite ayant une CMI de céphalosporine injectable de 3^{ème} génération plus élevée que la CMI de pénicilline G sont décrites dans le Tableau 14.

Tableau 14 - Description des souches isolées de méningites pour lesquelles la CMI de céfotaxime ou de ceftriaxone est plus élevée que celle de la pénicilline ou de l'amoxicilline (n=17).

Age	Sérotype	Site d'isolement	Région	Péni*	CMI (mg/L)			Résistance(s) Associée(s)*
					AMX	CTX	CRO	
2 mois	10A	LCR	Picardie	0,032	0,032	0,125	0,125	E
14 ans	23B	LCR	Pays de la Loire	0,25	0,25	0,25	0,5	-
33 ans	19A	LCR	Ile-de-France Est	0,125	0,125	0,25	0,25	E-T-K
35 ans	15A	LCR	Normandie	0,25	0,125	0,5	-	E-T
41 ans	19A	LCR	Languedoc-Roussillon	0,125	0,125	0,25	0,25	E-T
41 ans	15A	LCR	Normandie	0,25	0,25	0,5	0,25	E-T
47 ans	3	LCR	Pays de la Loire	0,016	0,016	0,032	0,064	-
47 ans	19A	LCR	Côte d'Azur	0,008	0,008	0,064	0,032	E-T-Fo
64 ans	15A	LCR	Paris-Ile de France-Ouest	0,25	0,25	0,5	0,5	E-T-K
65 ans	15A	LCR	Picardie	0,25	0,25	0,25	0,5	E-T
67 ans	3	LCR	Nord-Pas de Calais	0,032	0,032	0,125	0,125	-
69 ans	19F	LCR	Centre	0,125	0,125	0,125	0,25	E-Tel
70 ans	15A	LCR	Paris-Ile de France-Ouest	0,125	0,125	0,25	0,25	E-T-K
81 ans	15A	LCR	Aquitaine	0,125	0,125	0,25	0,5	E-K
84 ans	19A	LCR	Aquitaine	0,064	0,064	0,25	0,25	E-T
84 ans	15A	LCR	Ile-de-France Est	0,125	0,125	0,25	0,25	E-T-K
86 ans	19F	LCR	Alsace	0,125	0,064	0,125	0,25	E-T-K

*Péni, pénicilline ; AMX, amoxicilline ; CTX, céfotaxime ; CRO, Ceftriaxone ; E, érythromycine ; Te, tétracycline ; K, kanamycine ; Fo, fosfomycine ; Tel, Télithromycine.

B. Chez l'enfant (≤ 15 ans)

Parmi les souches isolées chez l'enfant (méningites et bactériémies), le taux de sensibilité diminuée (I+R) a diminué très fortement pour l'ensemble des bêta-lactamines. En 2012, le taux de sensibilité diminuée est de 19,4% pour la pénicilline, 7,5% pour l'amoxicilline et 0,8% pour le céfotaxime (Tableau 15, Figure 2). **Aucune souche résistante aux bêta-lactamines n'a été isolée d'une infection invasive de l'enfant.**

Tableau 15 - Sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'enfant en 2012.

Antibiotique	Valeurs critiques		Souches (n)	%S	%I	%R
	S	R				
Pénicilline	$\leq 0,06$ mg/L	> 2 mg/L	253	80,6	19,4	0
Amoxicilline	$\leq 0,5$ mg/L	> 2 mg/L	253	92,5	7,5	0
Céfotaxime	$\leq 0,5$ mg/L	> 2 mg/L	253	99,2	0,8	0
Ceftriaxone	$\leq 0,5$ mg/L	> 2 mg/L	238	98,3	1,7	0
Lévofoxacine	≤ 2 mg/L	-	236	100	-	0
Moxifloxacine	$\leq 0,5$ mg/L	-	236	100	-	0
Érythromycine	≥ 26 mm	< 24 mm	253	75,1	2,8	22,1
Lincomycine	≥ 21 mm	< 17 mm	235	83,0	3,0	14,0
Pristinamycine	≥ 19 mm	-	249	100	-	0
Télithromycine	≥ 24 mm	< 21 mm	235	100	0	0
Cotrimoxazole	≥ 19 mm	< 16 mm	235	83,0	4,7	12,3
Rifampicine	≥ 29 mm	< 24 mm	240	98,7	1,3	0
Chloramphénicol	≥ 23 mm	-	246	96,3	-	3,7
Tétracycline	≥ 23 mm	< 21 mm	248	79,8	0,8	19,4
Fosfomycine	≥ 14 mm	-	241	99,2	-	0,8
Kanamycine	≥ 14 mm	< 10 mm	235	92,8	-	7,2
Gentamicine	≥ 17 mm	< 11 mm	957	100	-	0
Vancomycine	≥ 17 mm	-	957	100	-	0

Selon le CA-SFM 2012.

Dans les méningites de l'enfant, la CMI₅₀ est à 0,016 mg/L et la CMI₉₀ est à 0,5 mg/L.

C. Chez l'adulte

Chez l'adulte, on observe les mêmes tendances que chez l'enfant. Le taux de sensibilité diminuée (I+R) aux bêta-lactamines continue de diminuer parmi les souches invasives. En 2012, il est de 22,6% pour la pénicilline, 7,9% pour l'amoxicilline, et 1,6% pour le céfotaxime (Tableau 16, Figure 3). Seules 0,3% des souches sont résistantes à l'amoxicilline.

Tableau 16 - Sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'adulte en 2012.

Antibiotique	Valeurs critiques		Souches (n)	%S	%I	%R
	S	R				
Pénicilline	≤ 0,06 mg/L	> 2 mg/L	704	77,4	22,6	0
Amoxicilline	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	704	91,8	7,9	0,3
Céfotaxime	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	704	98,4	1,6	0
Ceftriaxone	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	658	98,3	1,7	0
Lévofloxacine	≤ 2 mg/L	-	696	99,9	-	0,1
Moxifloxacine	≤ 0,5 mg/L	-	696	99,9	-	0,1
Érythromycine	≥ 26 mm	< 24 mm	704	70,2	0,8	29,0
Lincomycine	≥ 21 mm	< 17 mm	696	77,9	3,9	18,2
Pristinamycine	≥ 19 mm	-	703	100	-	0
Télithromycine	≥ 24 mm	< 21 mm	690	98,5	0,1	0,4
Cotrimoxazole	≥ 19 mm	< 16 mm	696	89,8	2,7	7,5
Rifampicine	≥ 29 mm	< 24 mm	704	98,7	1,3	0
Chloramphénicol	≥ 23 mm	-	700	94,3	-	5,7
Tétracycline	≥ 23 mm	< 21 mm	703	74,1	0,4	25,5
Fosfomycine	≥ 14 mm	-	692	99,1	-	0,9
Kanamycine	≥ 14 mm	< 10 mm	696	90,5	0	9,5
Gentamicine	≥ 17 mm	< 11 mm	957	100	-	0
Vancomycine	≥ 17 mm	-	957	100	-	0

Selon le CA-SFM 2012.

Dans les méningites de l'adulte, la CMI₅₀ est à 0,016 mg/L et la CMI₉₀ est à 0,5 mg/L.

Résistance aux bêta-lactamines dans les infections invasives en 2012

En 2012, que l'on considère les souches isolées de méningites ou de bactériémies, la proportion de souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines est peu différente chez l'adulte et chez l'enfant (Tableau 17).

Tableau 17 – Sensibilité aux bêta-lactamines des souches de pneumocoques isolées de méningites et de bactériémies chez l'enfant (≤ 15 ans) et chez l'adulte, selon le CA-SFM 2012.

% de souches par catégorie	Méningites		Bactériémies	
	Enfant (n=88)	Adulte (n=236)	Enfant (n=165)	Adulte (n=468)
CMI de Pénicilline				
S ($\leq 0,064$ mg/L)	78,4	73,3	81,8	79,5
I	21,6	26,7	18,2	20,5
R (> 2 mg/L)	0,0	0,0	0,0	0,0
I+R ($> 0,064$ mg/L)	21,6	26,7	18,2	20,5
CMI d'Amoxicilline				
S ($\leq 0,5$ mg/L)	88,6	89,8	94,5	92,8
I	11,4	10,2	5,5	6,8
R (> 2 mg/L)	0,0	0,0	0,0	0,4
I+R ($> 0,5$ mg/L)	11,4	10,2	5,5	7,2
CMI de Céfotaxime				
S ($\leq 0,5$ mg/L)	100,0	98,3	98,8	98,3
I	0,0	1,3	1,2	1,7
R (> 2 mg/L)	0,0	0,0	0,0	0,0
I+R ($> 0,5$ mg/L)	0,0	1,3	1,2	1,7

En 2012, la seule souche résistante à l'amoxicilline (CMI = 4 mg/L) a été isolée d'une hémoculture chez un adulte. En ce qui concerne les céphalosporines de troisième génération recommandées en 1ère intention dans le traitement des méningites, plus de 98% des souches sont sensibles au céfotaxime chez l'enfant et chez l'adulte, et aucune souche résistante n'a été isolée.

Le Tableau 18 permet de comparer la fréquence des souches invasives de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines par classe d'âge, chez l'enfant.

Tableau 18 – Sensibilité aux bêta-lactamines des souches invasives chez l'enfant, par groupe d'âge et type d'infection.

Age	Méningites (n=88)			Bactériémies (n=165)			
	PEN*	AMX	CTX	PEN	AMX	CTX	
0-23 mois	n	62		73			
	S	49 (79%)	53 (85%)	62 (100%)	55 (75%)	68 (93%)	71 (97%)
	I	13 (21%)	9 (15%)	0	18 (25%)	5 (7%)	2 (3%)
	R	0	0	0	0	0	0
24-59 mois	n	9		50			
	S	8 (88%)	8 (89%)	9 (100%)	41 (82%)	47 (94%)	50 (100%)
	I	1 (11%)	1 (11%)	0	9 (18%)	3 (6%)	0
	R	0	0	0	0	0	0
5-15 ans	n	17		42			
	S	12 (71%)	17 (100%)	17 (100%)	39 (93%)	41 (98%)	42 (100%)
	I	5 (29%)	0	0	3 (7%)	1 (2%)	0
	R	0	0	0	0	0	0

*Péni, pénicilline ; AMX, amoxicilline ; CTX, céfotaxime.

Résistance aux macrolides et apparentés

En 2012, le taux de résistance (I+R) aux macrolides des souches invasives de pneumocoque s'établit à 28,5% (24,9% chez l'enfant, 29,8% chez l'adulte, Figure 2 et Figure 3).

Il s'agit dans la majorité des cas d'une résistance de type MLS_B (qui touche l'ensemble des Macrolides Lincosamides et Streptogramine B). La résistance par efflux (phénotype M, qui n'affecte que les macrolides en C14 et C15) concerne moins de 5% des souches résistantes à l'érythromycine en 2012.

La résistance aux macrolides reste la résistance la plus souvent associée à la résistance aux bêta-lactamines : parmi les souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines, 79,3% sont résistantes aux macrolides (83,7% chez l'enfant, 78,0% chez l'adulte).

Aucune souche résistante à la pristinamycine n'a été isolée en 2012.

La sensibilité à la télithromycine a été étudiée sur 925 souches, dont 271 (29,3%) étaient résistantes à l'érythromycine. En 2012, 4 souches (0,4%) présentent une résistance à la télithromycine (Tableau 12 et Tableau 16). Ces souches sont résistantes aux macrolides avec un phénotype MLS_B.

Autres marqueurs de résistance

La fréquence de la résistance à l'érythromycine, à la tétracycline, au cotrimoxazole, à la kanamycine et au chloramphénicol dans les infections invasives est indiquée en fonction du type de prélèvement pour l'enfant (Figure 23) et pour l'adulte (Figure 24). La résistance à l'érythromycine, à la tétracycline et au cotrimoxazole, sont les marqueurs les plus fréquents, quel que soit l'âge et le type de prélèvement. Cette situation est liée à la présence d'éléments mobiles porteurs de gènes de résistance présents chez *S. pneumoniae*, les transposons Tn1545, Tn916 ou apparentés. Alors que le chloramphénicol est un marqueur indépendant, les 4 autres marqueurs sont liés car les gènes de résistance à ces antibiotiques sont souvent sur un même transposon et peuvent ainsi être co-sélectionnés et transmis ensemble (cf. chapitre Résistances associées et multi-résistance ci-dessous).

La diminution de la proportion de souches résistantes à ces différents marqueurs est observée depuis 2001, mais de façon plus marquée chez l'enfant (Figure 25, Figure 26)

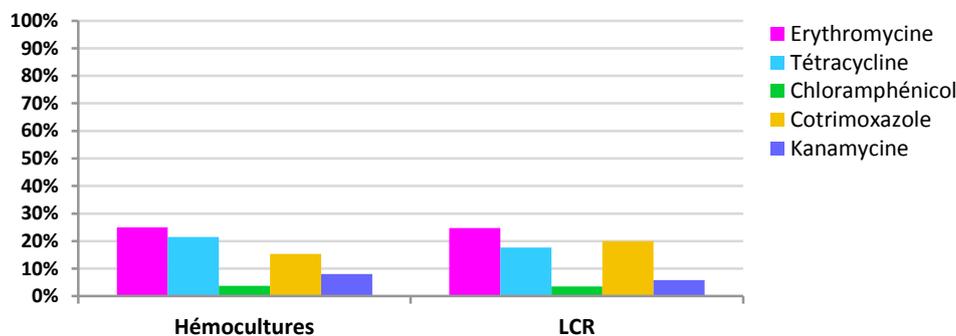


Figure 23 – Fréquence des principaux marqueurs de résistance (% I+R) chez l'enfant en fonction du site d'isolement (n=253), selon le CA-SFM 2012.

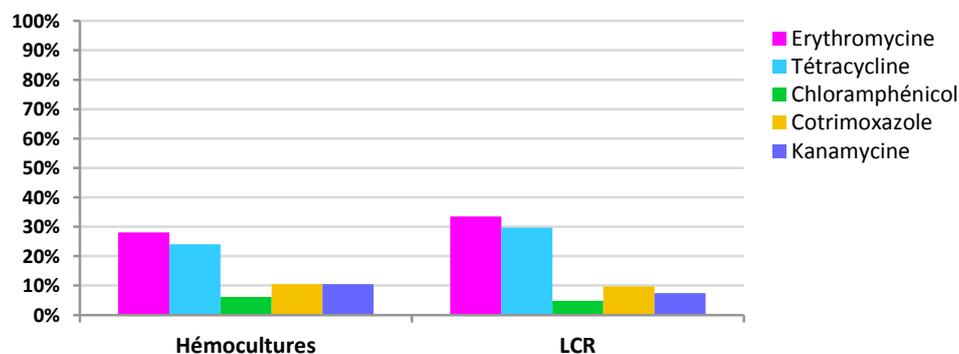


Figure 24 - Fréquence des principaux marqueurs de résistance (% I+R) chez l'adulte en fonction du site d'isolement (n=704), selon le CA-SFM 2012.

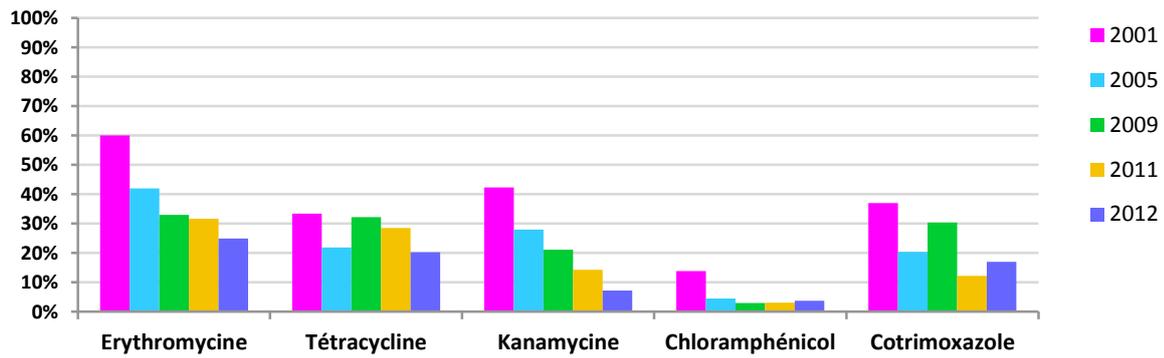


Figure 25 - Evolution des principaux marqueurs de résistance (% I+R) chez l'enfant (CA-SFM 2012).

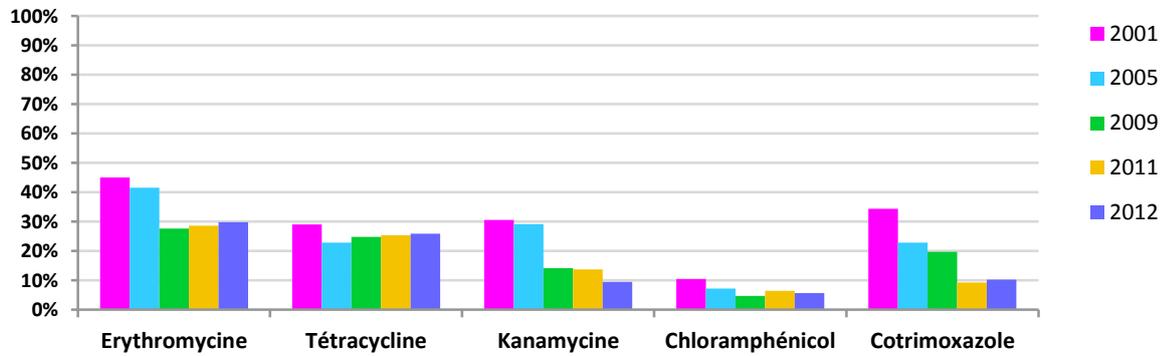


Figure 26 - Evolution des principaux marqueurs de résistance (% I+R) chez l'adulte (CA-SFM 2012).

Résistances associées et multi-résistance

La fréquence des souches cumulant la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques est indiquée dans le Tableau 19. Sur les 930 souches pour lesquelles les six marqueurs (pénicilline, érythromycine, tétracycline, cotrimoxazole, kanamycine et chloramphénicol) ont été étudiés, 534 soit 57% (vs. 41% en 2003) n'ont aucun marqueur de résistance.

Les souches ayant un ou deux marqueurs de résistance représentent 23% (n=212) de l'ensemble (vs. 16% en 2003) et 54% des souches non sensibles (vs. 27% en 2003). Les résistances associant une diminution de sensibilité aux bêta-lactamines et la résistance à l'érythromycine (phénotype PE, n=7), ou la résistance au cotrimoxazole (phénotype PCo, n=7) sont en fort recul par rapport aux années précédentes.

La multi-résistance, définie chez le pneumocoque par la résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques, concerne 20% (n=184) de l'ensemble des souches étudiées et 46% des souches non sauvages (vs. 73% en 2003). La quasi-totalité des souches multi-résistantes (89%, n=164) sont à la fois de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines et résistantes aux macrolides ; ce taux est stable depuis 2003.

Tableau 19 - Multi-résistance et principaux phénotypes de résistance à 6 marqueurs (930 souches étudiées).

Marqueur(s) (n)	Phénotype ^o	Enfant	Adulte	Total	Principaux sérotypes*
1	P	6	27	33	35B
	E	13	25	38	33F, 12F
	Co	22	23	45	24F
	Ch	2	3	5	12F
	Te	1	4	5	-
	K	-	-	-	-
2	ET	6	38	44	6C
	TCh	3	15	18	12F
	PE	2	5	7	-
	PCo	1	6	7	23B
	ECo	2	5	7	NT
	Divers Péni-S	-	2	2	-
	Divers Péni-R	-	1	1	-
Total 1 ou 2 marqueurs de résistance		58	154	212	
3	PET	19	44	63	19A, 19F, 15A, 24F
	PEK	4	4	8	15A, 14
	PECo	1	4	5	-
	TCoch	4	4	8	12F
	ETCh	-	6	6	3
	Divers Péni-S	1	9	10	-
	Divers Péni-R	-	3	3	-
4	PETK	8	35	43	19A, 15A
	PETCo	3	7	10	15A
	Divers	2	6	8	-
5	PETCoK	5	8	13	19A
	PETKCh	-	5	5	35B
	Divers	-	2	2	-
6	PETCoChK	-	-	-	-
Total > 3 marqueurs de résistance		47	137	184	

^oP, pénicilline ; E, érythromycine ; Co, cotrimoxazole ; T, tétracycline ; Ch, chloramphénicol ; K, kanamycine.

*Le sérotype prédominant dans chaque phénotype est indiqué en couleur.

Résistance aux fluoroquinolones

Parmi les souches invasives isolées en 2012, une seule souche isolée chez l'adulte présentait une résistance aux fluoroquinolones anti-pneumococciques indiquées dans les infections respiratoires (lévofloxacine et moxifloxacine). Cependant, parmi les souches classées sensibles (CMI de lévofloxacine ≤ 2 mg/L, CMI de moxifloxacine $\leq 0,5$ mg/L), il existe des souches ayant acquis un mécanisme de résistance. Il s'agit soit d'un efflux actif, soit d'une mutation dans la topoisomérase IV, une des deux cibles des fluoroquinolones. Ces mécanismes peuvent représenter une étape préalable à la sélection, en cours de traitement, de mutants de plus haut niveau de résistance. Ces mutants sont alors résistants à la lévofloxacine et la moxifloxacine, la résistance devenant effective quand il existe une mutation dans la seconde cible, la gyrase. C'est la raison pour laquelle la détection des différents mécanismes de résistance aux fluoroquinolones par l'antibiogramme (cf. protocole en Annexe D) est recommandée en France depuis 2004 (Ca-SFM).

Sur les 957 souches de l'échantillon 2012, 7 (0,7%) souches, toutes isolées chez l'adulte, expriment une résistance aux fluoroquinolones. Pour 4 d'entre elles, il existe au moins une résistance associée (Tableau 20).

Tableau 20 – Caractéristiques des souches ayant un mécanisme de résistance aux fluoroquinolones en 2012.

Phénotype	Age	Sérotype	Site d'isolement	Région	CMI (mg/L)					Résistance(s) associée(s)*
					PEF*	NOR	CIP	LVX	MFX	
Sauvage	-	-	-	-	8	4	1	1	0,12	-
Efflux	74 ans	15A	Hémoculture	Normandie	16	16	2	1	0,125	P-E-T-K
ParC/E	39 ans	16F	Hémoculture	Midi-Pyrénées	32	32	4	2	0,25	-
ParC/E	57 ans	6C	LCR	Picardie	64	16	4	2	0,25	E-T
ParC/E	66 ans	23B	Hémoculture	Bretagne	64	32	4	2	0,25	-
ParC/E	67 ans	11A	Hémoculture	Lorraine	16	32	8	2	0,25	-
ParC/E	68 ans	19A	Hémoculture	Franche-Comté	32	16	2	2	0,25	P-E-T
ParC+GyrA	70 ans	35B	Hémoculture	Alsace	128	64	32	16	4	P-E-T-K-Ch

*PEF, péfloxacin ; NOR, norfloxacine ; CIP, ciprofloxacine ; LVX, lévofloxacine ; MFX, moxifloxacine ; P, pénicilline ; E, érythromycine ; T, tétracycline ; K, kanamycine ; Ch, chloramphénicol.

Résistance aux antibiotiques et sérotypes

La sensibilité à la pénicilline des sérotypes des souches invasives isolées en 2012 est indiquée en Figure 27. Les sérotypes 19A, 19F, 15A, 35B, 14, et 23F sont le plus souvent de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines, et seule une faible proportion de ces souches a conservé sa sensibilité naturelle. Ainsi en 2012, 76% des souches de sérotype 19A sont de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines. Environ un tiers des souches de sérotype 24F, 23B, 6B, 15C et 9A expriment une résistance aux bêta-lactamines. Les souches les plus résistantes aux bêta-lactamines ont un sérotype 19A, 19F, 15A, 35B, 14, et 23F. A l'inverse, les autres sérotypes sont presque toujours sensibles à la pénicilline, les plus fréquents étant les 12F, 3, 7F, 1, et 22F. Si ces sérotypes sont responsables d'infections invasives qui évoluent par vagues d'ampleur variable, ils sont rarement retrouvés dans le rhino-pharynx des porteurs sains car leur durée de portage est courte (Figure 21 et Figure 27). Par conséquent, ils sont très peu exposés à la pression antibiotique.

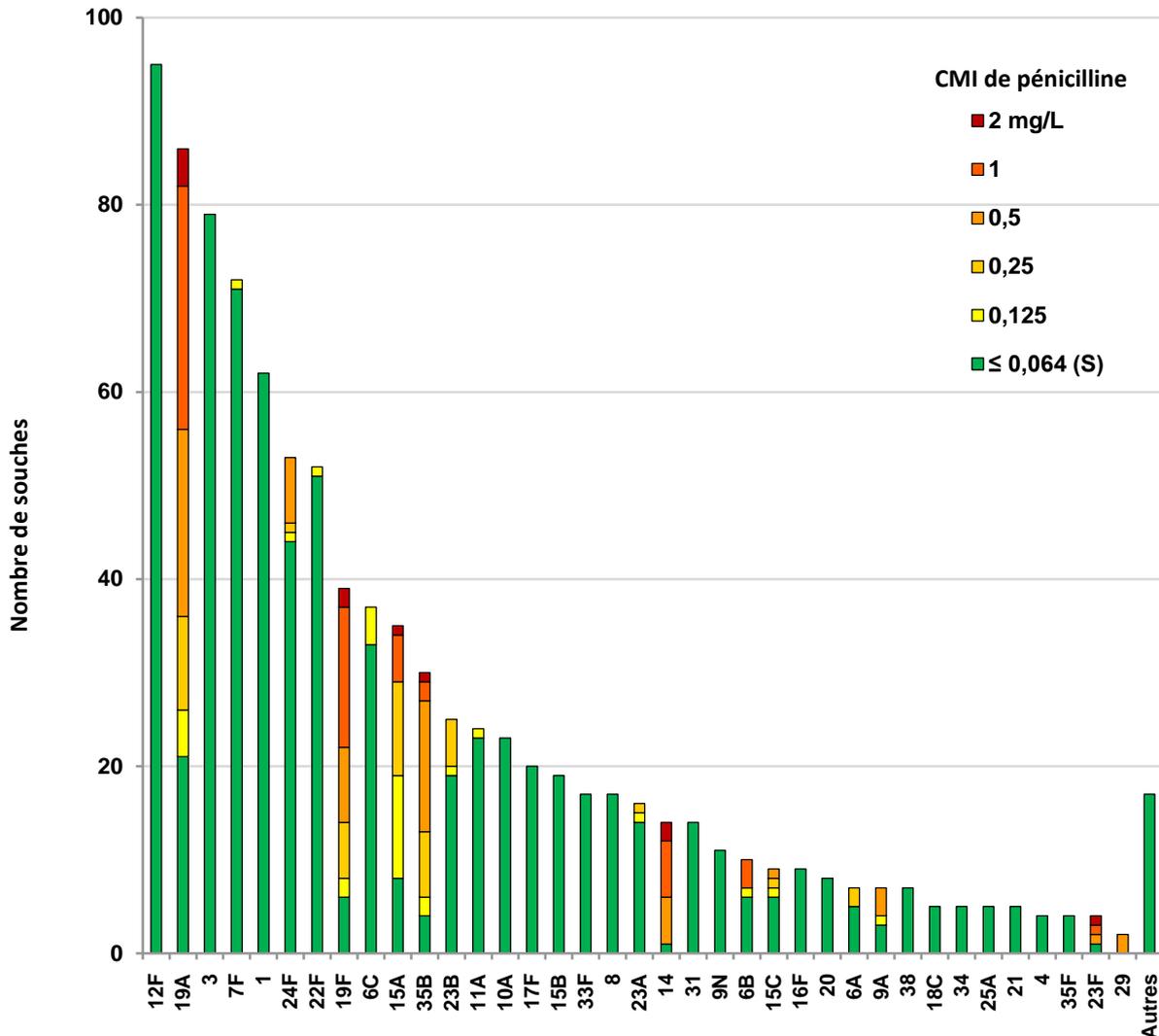


Figure 27 - Sensibilité à la pénicilline des sérotypes de *S. pneumoniae* (n=957) isolés en 2012.

En 2012, la part représentée par les souches de sérotype 19A dans les infections invasives continue à diminuer (9% vs. 13% en 2011 tous âges confondus, 8% vs. 17% chez l'enfant de moins de 5 ans) mais ce sérotype représente encore 31% (65/208) des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline (34% chez l'enfant de moins de 5 ans). Leur CMI de pénicilline n'excède pas 2 mg/L en 2012 (Figure 28).

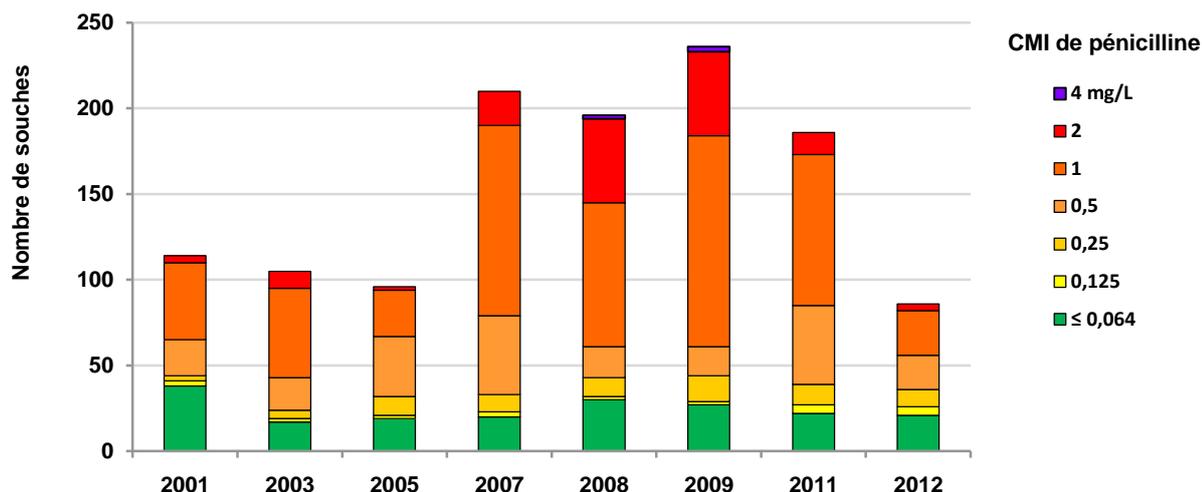


Figure 28 – Évolution de la sensibilité à la pénicilline des souches invasives de *S. pneumoniae* de sérotype 19A entre 2001 et 2012.

Le restant des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline correspond surtout aux sérotypes non vaccinaux 15A et 35B (Figure 27). Par ailleurs, les souches de sérotype 33F, constamment sensibles aux bêta-lactamines, et les souches de sérotype 6C et 15A, sont pour plus de 80% d'entre elles, résistantes à l'érythromycine (Figure 29). Ces souches de sérotypes non vaccinaux qui possèdent des gènes de résistance aux antibiotiques, pourraient être les candidats au remplacement des sérotypes du PCV13. Leur part augmente lentement mais régulièrement chaque année (Figure 12 et Figure 21).

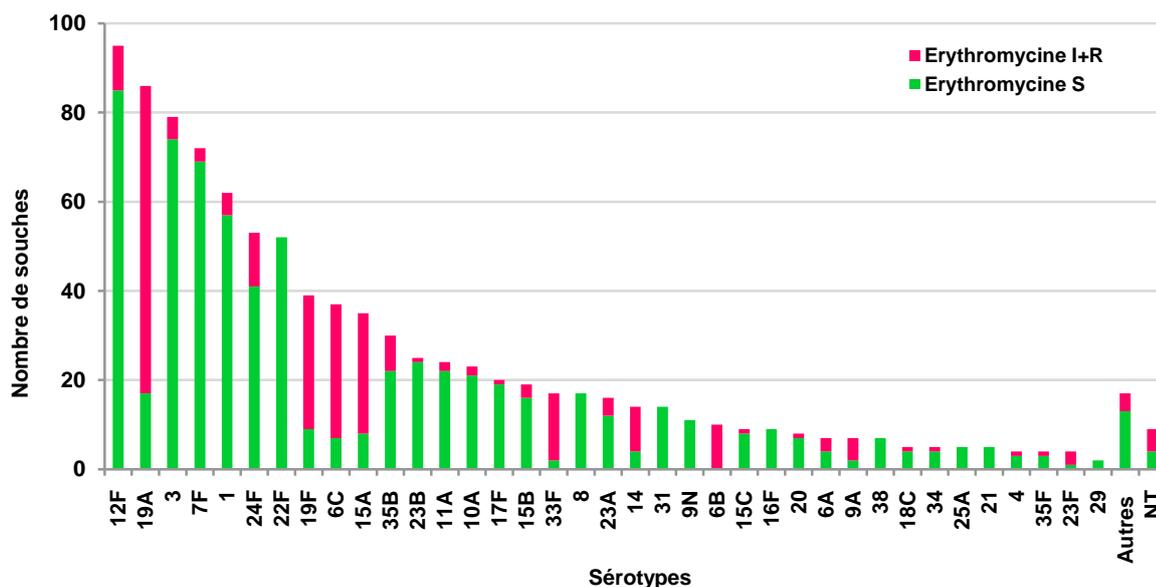


Figure 29 - Sensibilité à l'érythromycine des sérotypes de *S. pneumoniae* (n=957) isolés en 2012.

Typage moléculaire (MLST) des principaux sérotypes de remplacement

L'étude du profil génétique au moyen du MLST est faite chaque année pour déterminer quels sont les clones circulants en France et mettre en évidence d'éventuels échanges capsulaires pour expliquer l'émergence de la résistance aux antibiotiques, en particulier parmi les sérotypes de remplacement dont la durée de portage est mal connue. L'étude de l'impact du vaccin conjugué anti-pneumococcique sur le portage rhino-pharyngé du pneumocoque au cours des OMA de l'enfant entre 6 et 24 mois, a révélé l'émergence des sérotypes 15A/B/C, 6C, 11A, 35B qui apparaissent ainsi comme de « bons colonisateurs » (Figure 21). Ces mêmes sérotypes sont retrouvés à l'origine des infections invasives, ainsi que les sérotypes suivants en progression récente : 12F, 22F et 24F. Les « sequence-type » (ST) correspondant à ces sérotypes ainsi que les complexes clonaux (CC) auxquels ils appartiennent sont indiqués dans le Tableau 21.

Ces résultats mettent en évidence :

- Une appartenance à des clones distincts pour les souches de sérotype 11A sensibles à la pénicilline (CC62) et celles qui sont de sensibilité diminuée (CC156, CC1010)
- Contrairement à ce qui a été observé avec le sérotype 7F, l'émergence du sérotype 12F semble liée à l'expansion de plusieurs complexes clonaux, majoritairement CC989 et CC218.
- Les souches de sérotype 15A appartiennent le plus souvent au clone ST63.
- Les souches de sérotype 15B/C appartiennent à des complexes clonaux plus divers, et distincts de ceux comprenant les souches de sérotype 15A.
- Les populations de souches de sérotypes 22F (sensible aux antibiotiques), 24F et 35B (de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines) apparaissent clonales, représentées le plus souvent respectivement par le ST433, ST230 et ST558. Il est intéressant de noter que le ST230 comprend aussi des souches de sérotype 19A, 19F et 14. Ainsi les souches de 24F pourraient résulter d'échange capsulaire avec ces dernières.

Tableau 21 – Complexes clonaux (CC) et « sequence-types » (ST) des principaux sérotypes invasifs.

Sérotype	CC	ST	Sensibilité à la pénicilline		Nombre de souches
			CMI ≤ 0,06 mg/L	CMI > 0,06 mg/L	
11A	1010	1010 _{SLV}		1	1
		5170		1	1
	156	156		5	5
		166		3	3
		2684		1	1
		6521		2	2
		838		1	1
		408		2	2
	62	513		1	1
		62		9	1
62 _{SLV1}			2	2	
62 _{SLV2}			1	1	
		8070	2	2	
Total 11A			16	16	32
12F	4833	4004 _{SLV}	1		1
	218	218	4		4
		220	6		6
	3774	3524	2	2	4
		3524 _{DLV}	1		1
	989	989	11		11
		6839 _{SLV}	1		1
		989 _{SLV}	1		1
Singletons	8060	8		8	
		3776 _{SLV}	1		1
Total 12F			36	2	38
15A	156	156		1	1
		2105		5	5
	63	2675		2	2
		2678		1	1
		4561		1	1

Sérotype	CC	ST	Sensibilité à la pénicilline		Nombre de souches
			CMI≤0,06 mg/L	CMI>0,06 mg/L	
		5172		1	1
	63	63	1	46	47
		63 _{SLV}		1	1
		8019		1	1
		861		5	5
	-	8062	2		2
Total 15A			3	64	67
	193	193 _{SLV}	1		1
	1262	1262	1	2	3
		8711		1	1
	156	156		10	10
		8021		1	1
		193	4		4
		197		1	1
	177	2110	1		1
		3863	1	1	2
	199	199	1		1
		411	1		1
15B/C		1706		1	1
		1835		1	1
		2671		3	3
	346	2681		1	1
		275		3	3
		346		19	19
		3557		1	1
		4848		1	1
	63	2097		1	1
	81	2679		1	1
		2606	1		1
	-	4046	1		1
	Singleton	3096		1	1
Total 15B/C			12	53	65
	81	81 _{SLV}	1		1
22F	433	433	16	1	17
		433 _{SLV}	1		1
		5860	1		1
Total 22F			17	1	18
	156	162	2		2
	2208	2208	1		1
		230		14	14
24F	230	4253		5	5
		6227		1	1
	72	72	5		5
		72 _{SLV}	1		1
	Singleton	8017		1	1
Total 24F			9	21	30
	3369	1588		1	1
	452	452	1		1
		5171		1	1
		558	1	68	69
35B	558	558 _{SLV1}		1	1
		558 _{SLV2}		1	1
		558 _{SLV3}		1	1
		558 _{SLV4}		1	1
	Singleton	2690	1		1
Total 35B			3	74	77

*SLV, single locus variant.

Surveillance des infections à *S. pneumoniae*

Depuis 2001, notre effort s'est poursuivi pour estimer au mieux l'incidence par sérotype des infections pneumococciques sévères, encore appelées « invasives », par le recensement des cas d'isolement de souches de prélèvements d'interprétation univoque (liquides céphalo-rachidiens, hémocultures). Le nombre des cas enregistrés au CNRP nous permet d'estimer, sur la base des données d'incidence du réseau EPIBAC (InVS), l'incidence des différents sérotypes impliqués dans ces infections, et ainsi d'évaluer l'impact de la vaccination par le vaccin conjugué heptavalent et le nouveau conjugué 13-valent.

L'ensemble des laboratoires est invité à participer au recueil des cas de méningites, en particulier les laboratoires hospitaliers universitaires et non universitaires participant au réseau EPIBAC (Institut de Veille Sanitaire), à l'Observatoire des Méningites Bactériennes du nouveau-né et de l'enfant (GPIP-ACTIV), ceci en raison de leur expérience et de leur motivation à participer à des réseaux de surveillance.

Méningites à *S. pneumoniae*

En 2012, en France métropolitaine, 329 cas de méningite ont été signalés au CNRP, dont 309 (94%) cas signalés par les ORP et 20 par les correspondants ne participant pas au réseau des ORP. L'étude a porté sur 324 souches viables, dont 88 souches de pneumocoque isolées chez l'enfant, et sur 236 souches isolées chez l'adulte (> 15 ans).

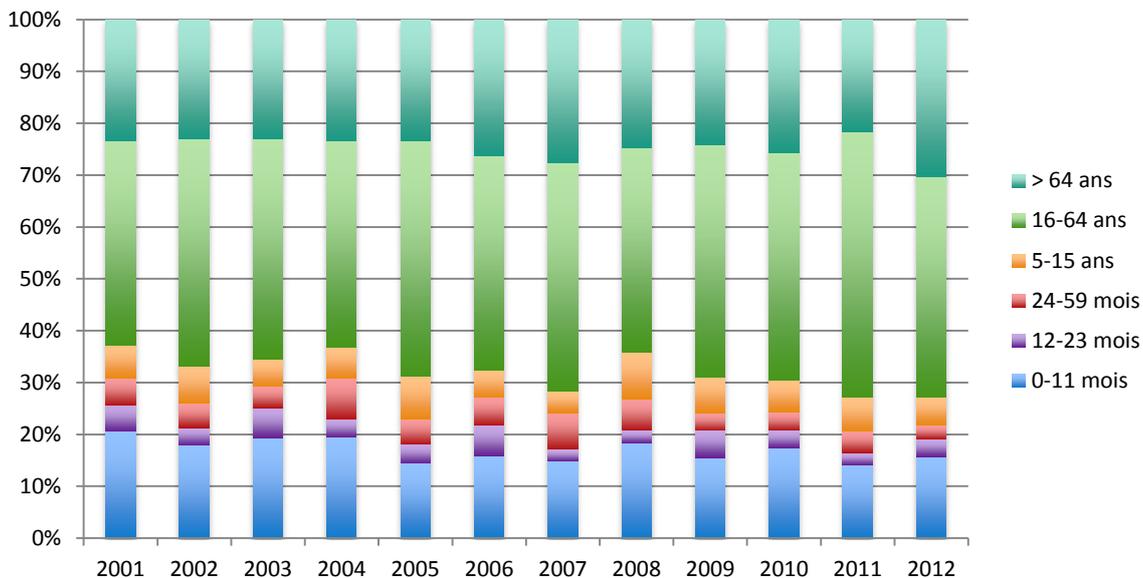


Figure 30 – Évolution du nombre de souches de méningites étudiées par groupe d'âge entre 2001 et 2012.

D'après les dernières données du réseau EPIBAC de l'InVS⁶, l'incidence globale des méningites à *S. pneumoniae* a significativement diminué de 1,0 à 0,8 cas / 100 000 entre 2008-2009, dernières années d'utilisation exclusive du PCV7, et 2012 (-20%, p=0,002).

Chez les enfants âgés de moins de 2 ans, l'incidence des méningites est passée de 5,1 à 4,4 cas / 100 000 entre 2011 et 2012, et est significativement inférieure à ce qu'elle était à la période pré-vaccinale (8,0 cas /100 000 en 2001-2002).

⁶ <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Infections-invasives-d-origine-bacterienne-Reseau-EPIBAC>

Répartition géographique

La répartition géographique des 324 cas de méningite à *S. pneumoniae* en 2012 est indiquée en Figure 31. En moyenne, 16 cas de méningite (vs. 22 cas en 2011) ont été rapportés par région en 2012 (médiane = 14), les extrêmes allant de 0 en Limousin à 48 en Ile-de France.

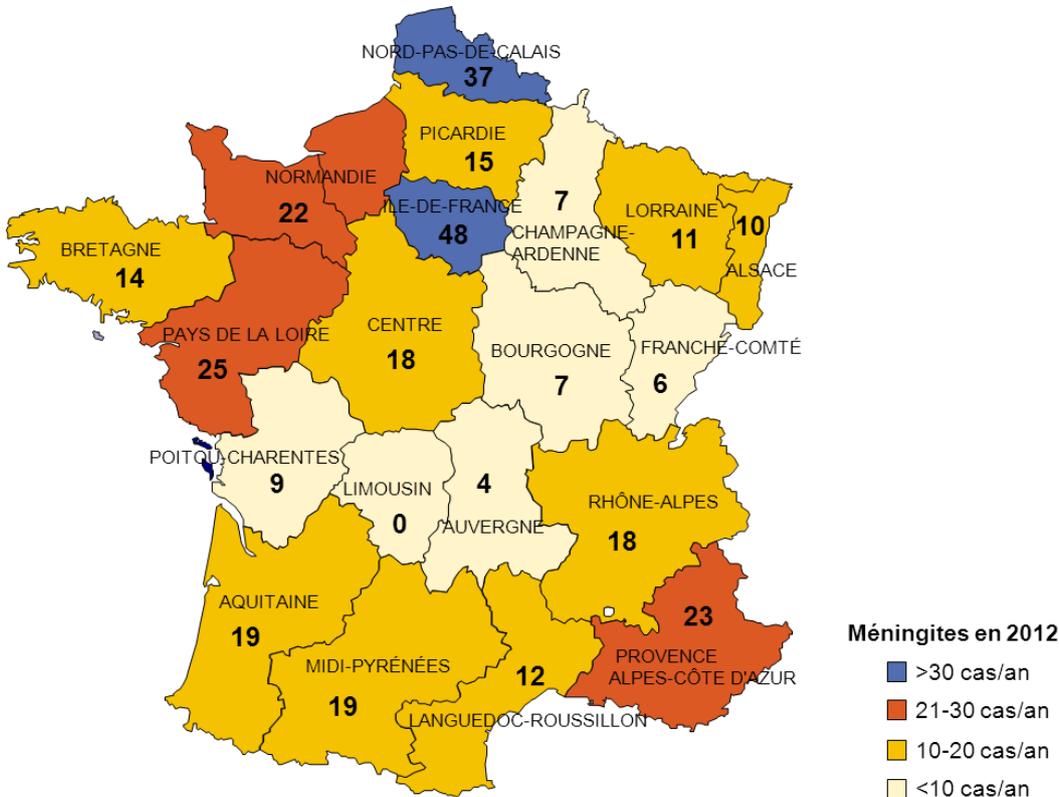


Figure 31 – Répartition régionale des méningites à pneumocoque signalées au CNRP en 2012 (n=324).

Dans 315 cas, la souche de pneumocoque a été isolée dans le LCR et dans 9 cas à partir d'une hémoculture.

Distribution temporelle

La Figure 32 permet d'analyser la répartition mensuelle des cas cumulés de méningite à pneumocoque de 2001 à 2012. C'est durant les mois de décembre, janvier, février et mars qu'est enregistré le plus grand nombre de cas.

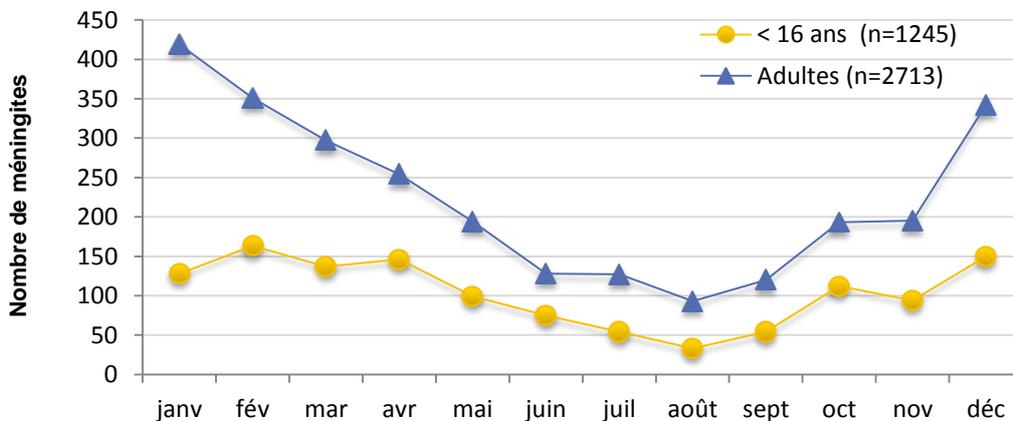


Figure 32 - Fréquence mensuelle des méningites à pneumocoque en France de 2001 à 2012.

Répartition par classe d'âge

Les méningites à pneumocoque sont observées à tous les âges, mais concernent surtout les très jeunes enfants de moins de 6 mois, ainsi que les adultes à partir de 50 ans (Figure 33, Figure 34).

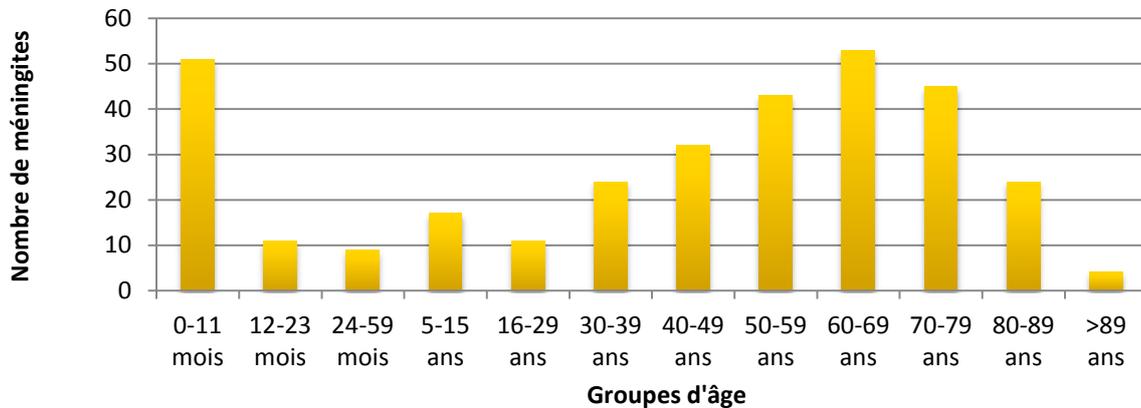


Figure 33 – Fréquence des méningites à pneumocoque en 2012 (n=324) en fonction de l'âge.

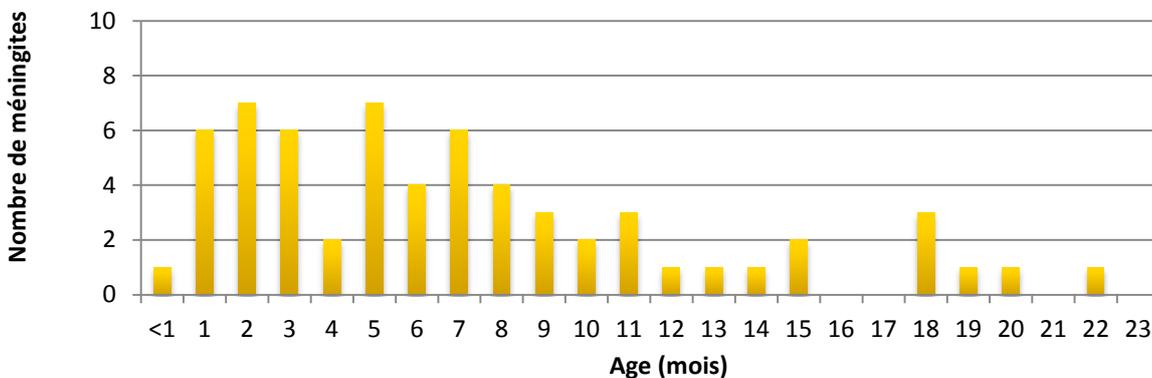


Figure 34 – Fréquence des méningites à pneumocoque en fonction de l'âge chez les enfants de moins de 2 ans (n=62).

Surveillance des sérotypes

Dans toutes les tranches d'âge, on assiste à une diminution des méningites à pneumocoque de sérotypes vaccinaux compensée partiellement par une augmentation des méningites à pneumocoques de sérotypes non vaccinaux (Figure 4).

Chez les enfants de moins de 2 ans, les sérotypes vaccinaux PCV7 ont tous disparu, sauf le 19F, et les 6 sérotypes additionnels inclus dans le PCV13 sont globalement en nette diminution. En 2012, deux sérotypes non vaccinaux prédominent : le 24F et 12F, tous deux sensibles aux bêta-lactamines. Cependant leur dynamique d'évolution est différente : le 12F semble se stabiliser alors que le sérotype 24F progresse (19,4% en 2012 vs. 8,6% en 2011). Viennent ensuite les sérotypes 15A, souvent de sensibilité diminuée à la pénicilline et 15B/C.

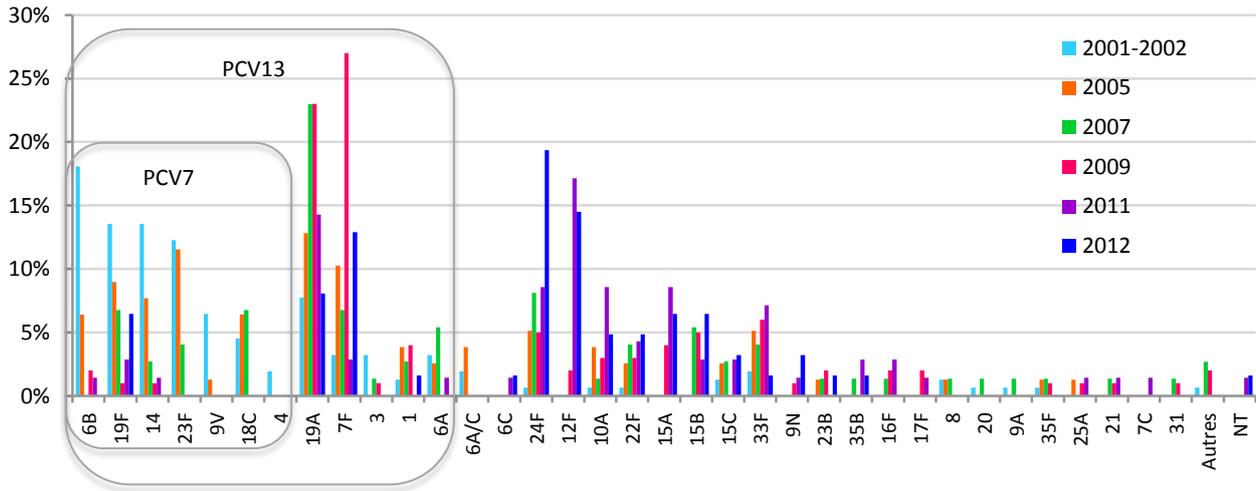


Figure 35 – Distribution comparée des sérotypes de *S. pneumoniae* isolés de méningites chez l'enfant de moins de 2 ans en 2001-2002 (n=155), 2005 (n=78), 2007 (n=74), 2009 (n=100), en 2011 (n=70) et en 2012 (n=62).

Pour les enfants de 2 à 15 ans, l'évolution de la fréquence de chaque sérotype est indiquée sur la Figure 36 et la Figure 37.

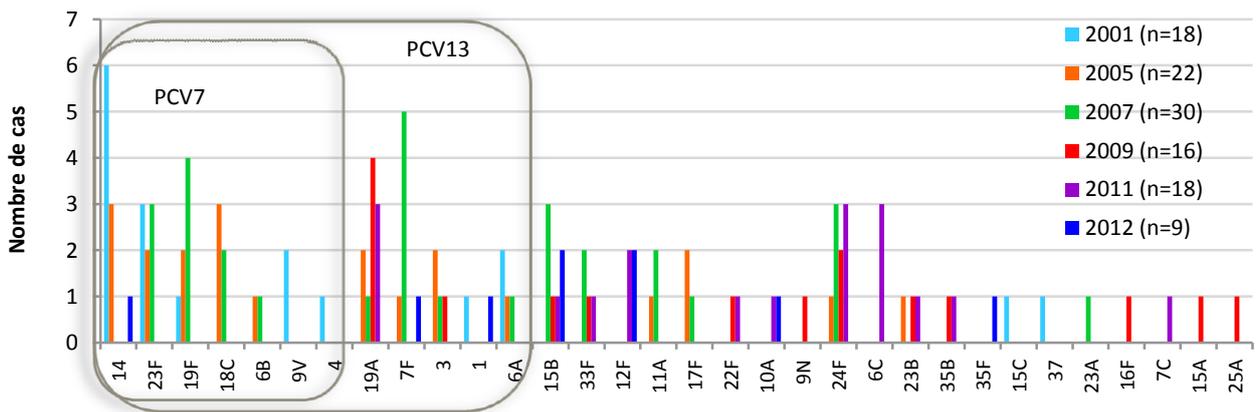


Figure 36 - Fréquence des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites chez l'enfant de 24 à 59 mois entre 2001 et 2012.

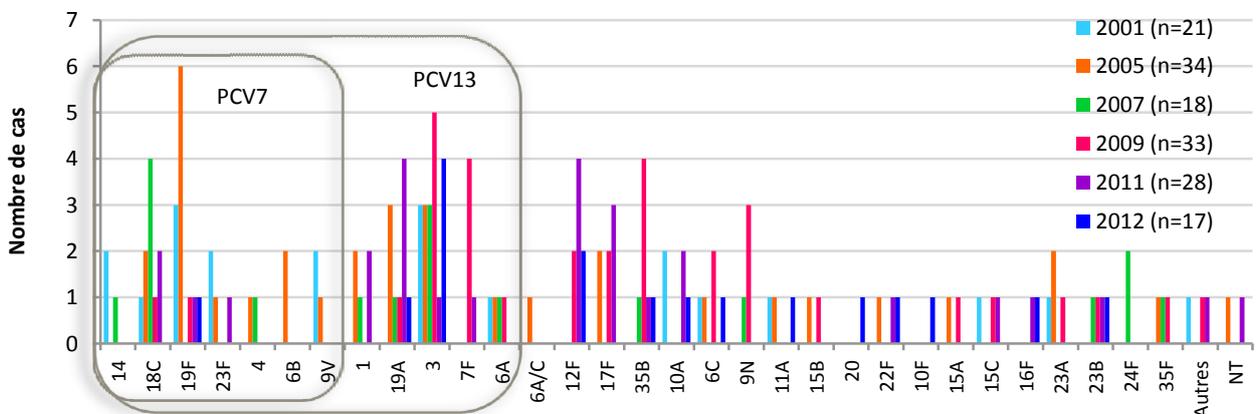


Figure 37 - Fréquence des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites chez l'enfant de 5 à 15 ans entre 2001 et 2012.

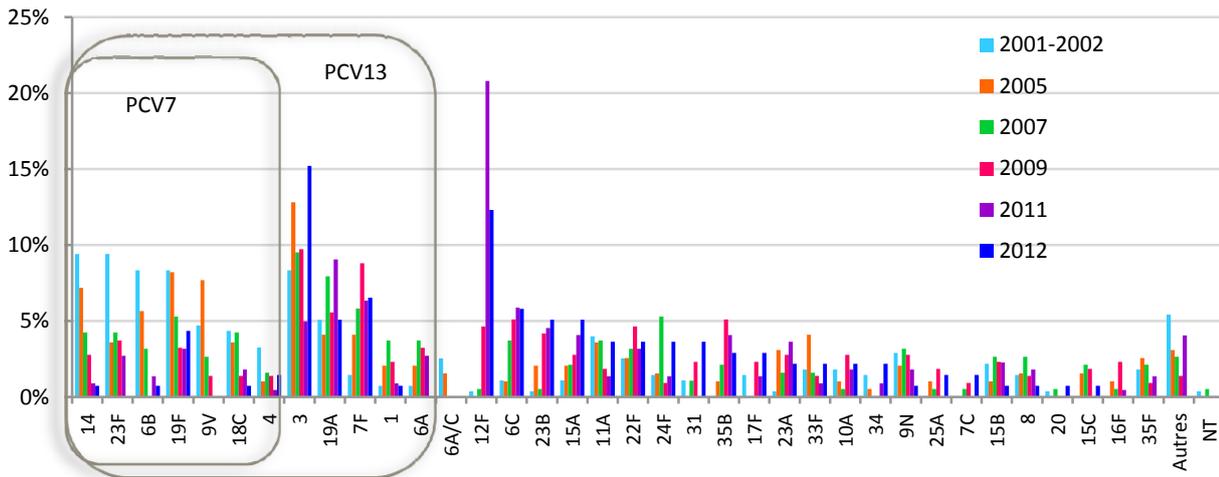


Figure 38 – Fréquence des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites chez l'adulte de 16 à 64 ans en 2001-2002 (n=276), 2005 (n=195), 2007 (n=189), 2009 (n=216), en 2011 (n=221) et en 2012 (n=138).

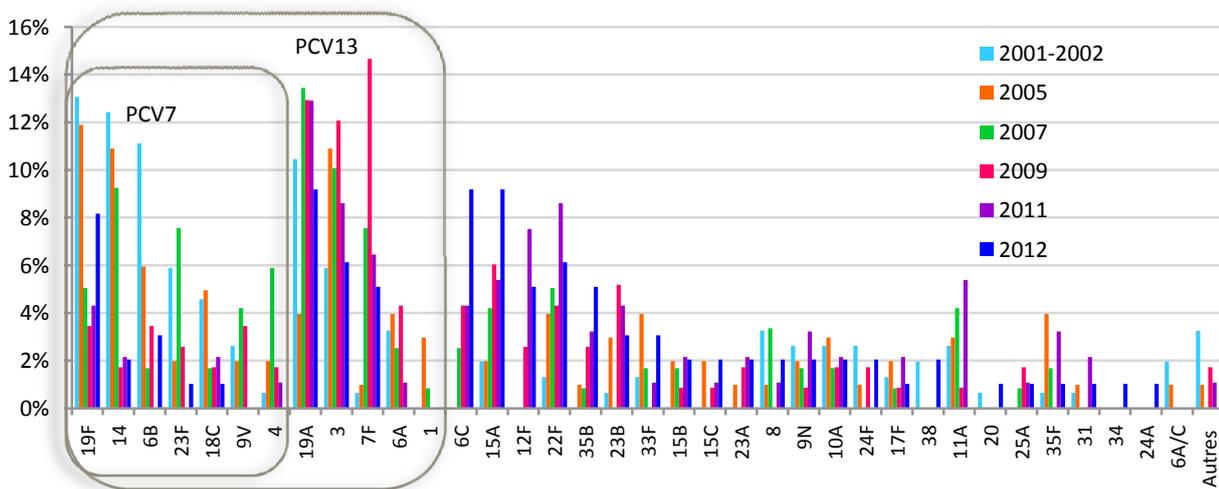


Figure 39 – Distribution comparée des sérotypes de *S. pneumoniae* isolés de méningites chez l'adulte > 64 ans en 2001-2002 (n=151), 2005 (n=101), 2007 (n=119), 2009 (n=116), en 2011 (n=93) et en 2012 (n=98).

Chez l'adulte (> 15 ans), les méningites à sérotypes vaccinaux PCV7 sont en baisse à l'exception des méningites à sérotype 19F principalement chez les adultes de plus de 64 ans (Figure 38 et Figure 39).

En ce qui concerne la prévalence des 6 sérotypes vaccinaux additionnels PCV13, leur baisse globale masque des disparités : le sérotype 3 a augmenté chez les 16-64 ans entre 2011 et 2012 (15,2% en 2012 vs. 5,0% en 2011), alors qu'il est en baisse chez les adultes de plus de 64 ans, tout comme les sérotypes 19A, 7F et 6A.

Parmi les sérotypes non vaccinaux, le sérotype 12F (non contenu dans le PCV13, mais contenu dans le polysidique 23-valent), en baisse, reste prédominant entre 15 et 64 ans alors que les sérotypes 6C et 15A prédominent dans les méningites des adultes de plus de 64 ans.

Activité comparée des bêta-lactamines

La distribution des souches de méningites en fonction de leurs CMI de bêta-lactamines est présentée sur la Figure 40.

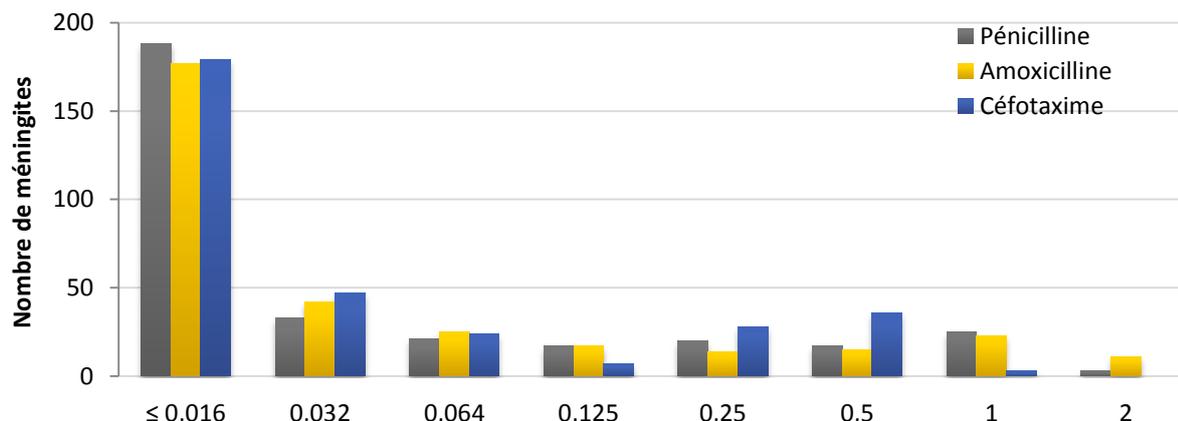


Figure 40 – Distribution des souches isolées de méningites (n=324) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.

Le nombre de souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines continue de diminuer de façon significative en 2012 (Tableau 22). Le pourcentage de souches de sensibilité diminuée à l'amoxicilline est également en baisse (10,5% vs. 11,0% en 2011), et aucune souche résistante à cette molécule n'a été isolée de méningite en 2012. En ce qui concerne les céphalosporines injectables de 3^{ème} génération recommandées en première intention dans le traitement des méningites bactériennes, moins de 1% des souches avaient une sensibilité diminuée vis à vis du céfotaxime et 2,3% (7/298) vis-à-vis de la ceftriaxone ; aucune souche résistante à ces molécules (CMI > 2 mg/L) n'a été isolée.

Tableau 22 – Évolution de la sensibilité aux bêta-lactamines des souches de *S. pneumoniae* responsables de méningites entre 2001 et 2012.

Année	n (%)								
	Pénicilline			Amoxicilline			Céfotaxime		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
2001 (n=339)	171 (50)	166 (49)	2 (0,6)	241 (71)	90 (27)	8 (2)	291 (86)	47 (14)	1 (0)
2002 (n=323)	177 (55)	145 (45)	1 (0,3)	249 (77)	70 (22)	4 (1)	288 (89)	35 (11)	0
2003 (n=393)	227 (58)	164 (42)	2 (0,5)	308 (78)	82 (21)	3 (1)	358 (91)	34 (9)	1 (0)
2004 (n=318)	193 (61)	123 (39)	1 (0,3)	258 (81)	59 (19)	1 (0)	310 (97)	8 (3)	0
2005 (n=430)	276 (64)	154 (36)	0	357 (83)	71 (17)	2 (0)	406 (94)	24 (6)	0
2006 (n=321)	213 (66)	106 (33)	2 (0,6)	266 (83)	51 (16)	4 (1)	309 (96)	12 (4)	0
2007 (n=430)	278 (65)	152 (36)	0	363 (84)	61 (14)	6 (1)	402 (93)	27 (6)	1 (0)
2008 (n=380)	262 (69)	117 (31)	1 (0,3)	320 (84)	57 (15)	3 (1)	348 (92)	31 (8)	1 (0)
2009 (n=481)	335 (70)	146 (30)	0	395 (82)	83 (17)	3 (1)	445 (93)	36 (7)	0
2010 (n=394)	261 (66)	133 (34)	0	327 (83)	65 (16)	2 (1)	367 (93)	25 (6)	2 (1)
2011 (n=432)	319 (74)	105 (33)	8 (3)	385 (89)	46 (11)	1 (0)	410 (95)	21 (5)	1 (0)
2012 (n=324)	242 (75)	82 (25)	0	290 (90)	34 (10)	0	321 (99)	3 (1)	0
p*	< 10 ⁻⁴			< 10 ⁻⁴			< 10 ⁻⁴		

Selon le CA-SFM 2012.

*chi2 de tendance (Mantel-Haenszel) S vs. I+R.

Les souches plus résistantes au céfotaxime qu'à l'amoxicilline (deux dilutions d'écart) représentent 2% des souches de méningites en 2012 (vs. 1% en 2011) (Figure 41, bulles orange).

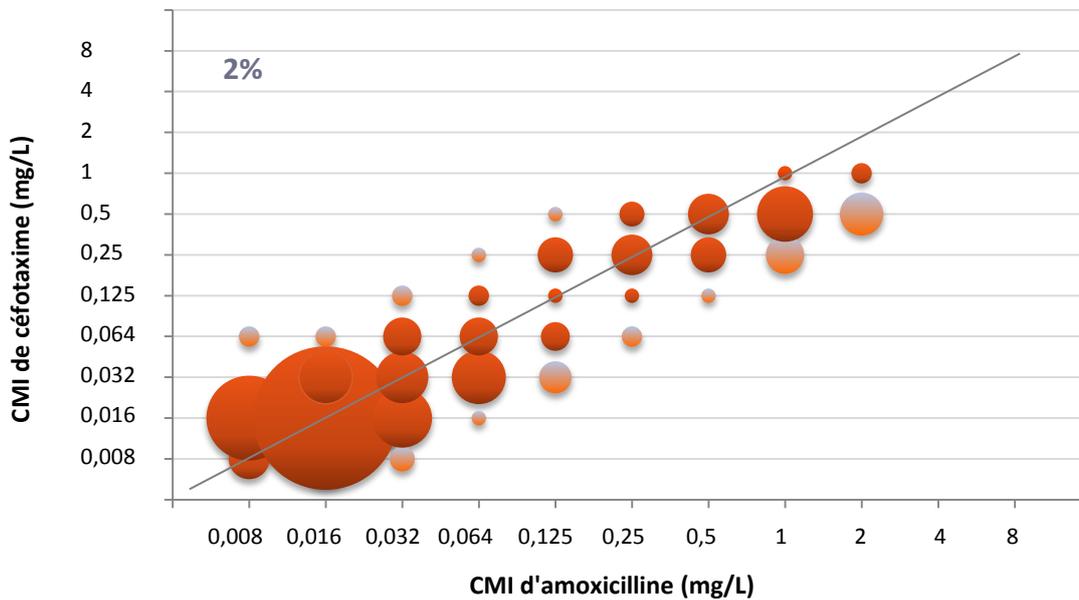


Figure 41 - Comparaison de la sensibilité à l'amoxicilline et au céfotaxime des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites (n=324). Les bulles orange indiquent les souches ayant une CMI de céfotaxime supérieure d'au moins deux dilutions à la CMI d'amoxicilline.

Nous avons aussi étudié la sensibilité à la ceftriaxone, autre céphalosporine injectable de 3^{ème} génération recommandée dans le traitement des méningites à pneumocoque. Ces deux bêta-lactamines ont une activité globalement comparable, mais parmi les souches isolées de méningites présentant une CMI à l'une ou l'autre supérieure à 0,064 mg/L (classée de sensibilité diminuée dans ce type d'infection), 17 et 1 souches présentaient respectivement un écart de CMI de 1 et 2 dilutions en faveur du céfotaxime ; à l'inverse, 3 souches présentaient un écart de CMI de 1 dilution en faveur de la ceftriaxone.

Résistance aux bêta-lactamines des sérotypes isolés de méningites

La sensibilité de chaque sérotype à la pénicilline et au céfotaxime est présentée de la Figure 42 à la Figure 43 pour l'enfant, et de la Figure 44 à la Figure 45 pour l'adulte.

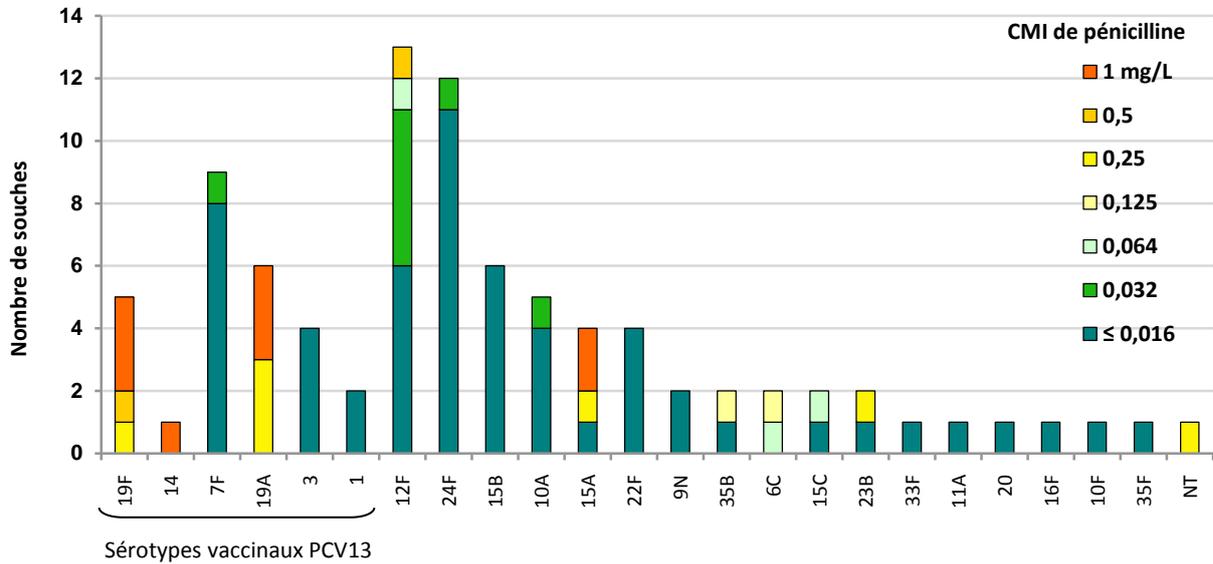


Figure 42 – Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de méningite chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=88).

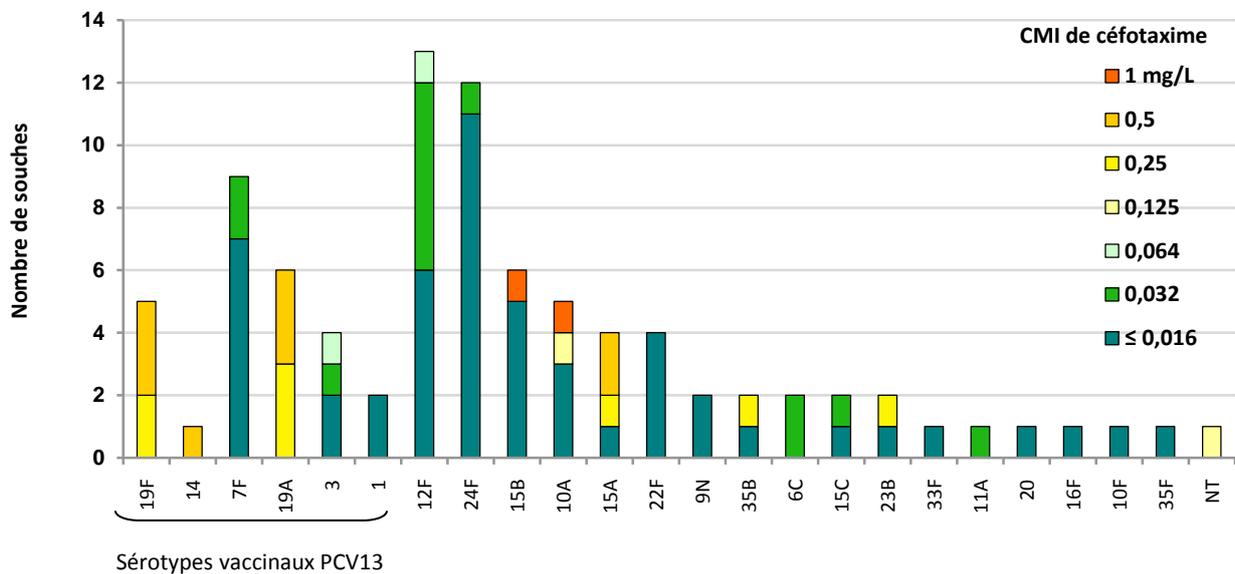


Figure 43 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de méningite chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=88).

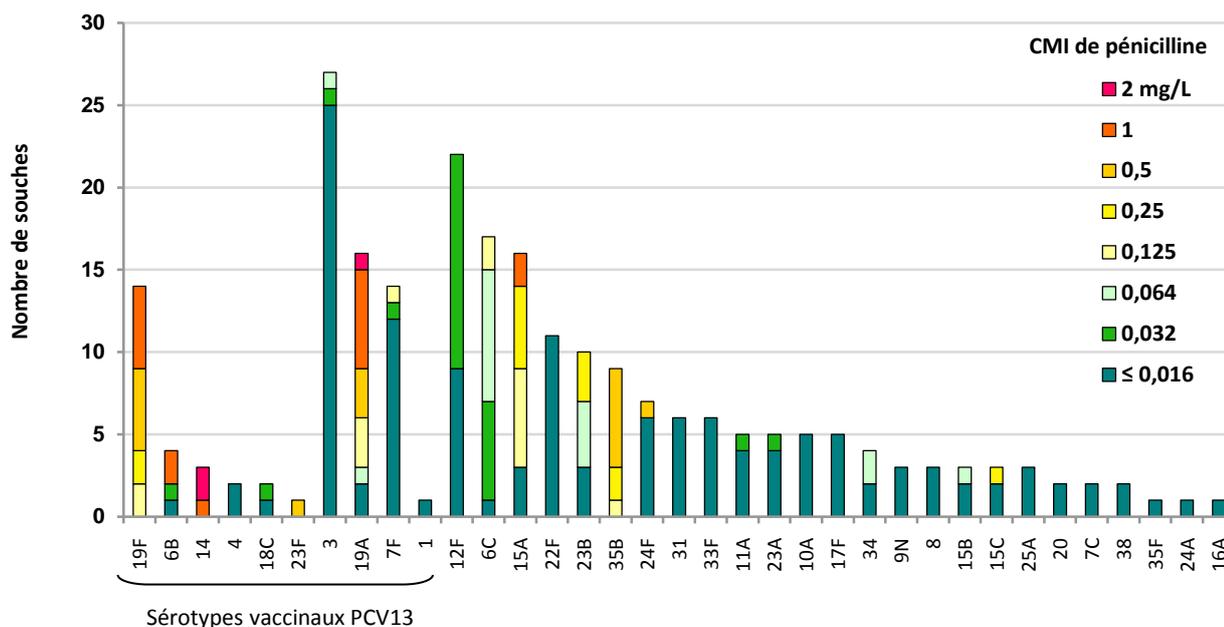


Figure 44 - Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de méningites chez l'adulte (> 15 ans) (n=236).

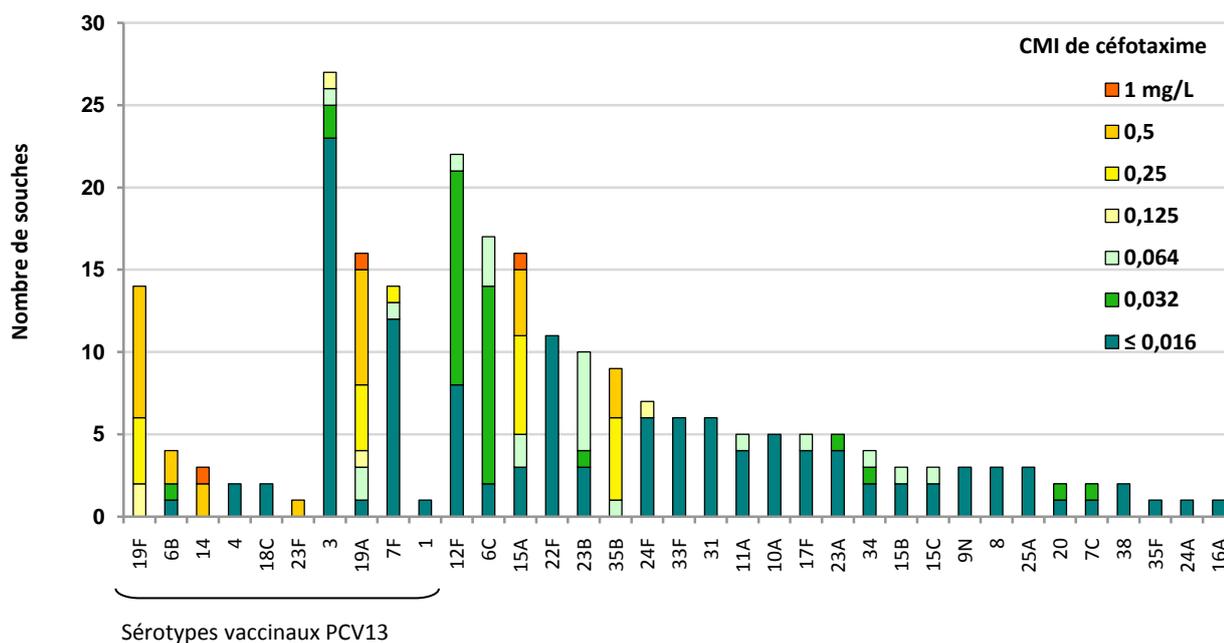


Figure 45 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de méningites chez l'adulte (> 15 ans) (n=236).

Bactériémies à *S. pneumoniae*

En 2012, l'étude a porté sur 633 souches isolées d'hémocultures au cours de pneumonies ou de bactériémies sans porte d'entrée précisée (165 chez l'enfant et 468 chez l'adulte).

Répartition par classe d'âge chez l'enfant

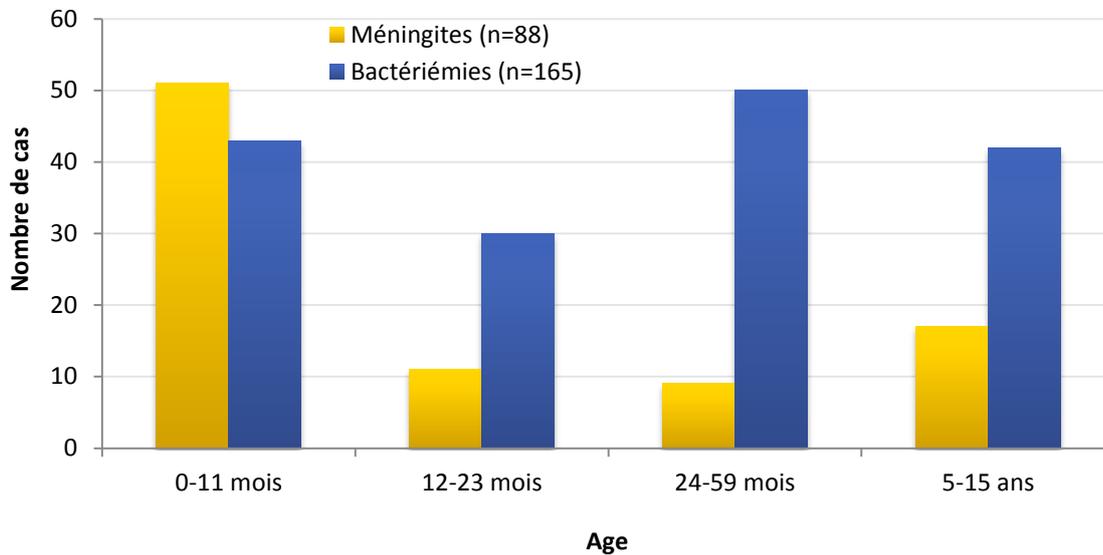


Figure 46 – Fréquence comparée des bactériémies et des méningites à pneumocoque par classe d'âge chez l'enfant.

Surveillance des sérotypes

D'après les données de l'InVS (réseau EPIBAC)⁷, chez les enfants de moins de deux ans on observe une diminution de l'incidence des bactériémies de 21,8/100 000 à 12,9/100 000 (-41%, $p < 10^{-4}$) entre la période pré-vaccinale 2001-2002 et 2012. Tous âges confondus, l'incidence des bactériémies à pneumocoques a diminué entre 2008-2009 et 2012 de 10,2 à 8,3 cas / 100 000 (-18 %, $p < 10^{-4}$).

- Chez les enfants de moins de 2 ans, population cible du PCV13, le sérotype 19A s'effondre et ne représente plus que 7% des souches isolées de bactériémies (vs. 16% en 2011), et l'ensemble des sérotypes vaccinaux PCV13 représentent moins de 20% des souches dans cette tranche d'âge. Les sérotypes prédominants sont désormais deux sérotypes non vaccinaux :
 - le sérotype 24F, en nette progression par rapport à 2011 (19,2% en 2012 vs. 10,6% en 2011),
 - le sérotype 12F, qui est cependant en baisse (8,2% en 2012 vs. 15,4% en 2011).
 - On note également la progression des sérotypes non vaccinaux 15A/B/C (Figure 47).
- Chez les enfants de 24 à 59 mois, les principaux sérotypes isolés de bactériémies en 2012 sont, par ordre de fréquence, les sérotypes 1 (26%), 19A (12%), 12F et 23B (10% chacun) (Figure 48).
- Chez l'enfant de 5 à 15 ans, le sérotype 1, en nette diminution depuis 2009, reste prédominant (55% des souches isolées de bactériémies en 2012), devant le sérotype 12F (12% des souches isolées) (Figure 49).

⁷ <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Infections-invasives-d-origine-bacterienne-Reseau-EPIBAC>

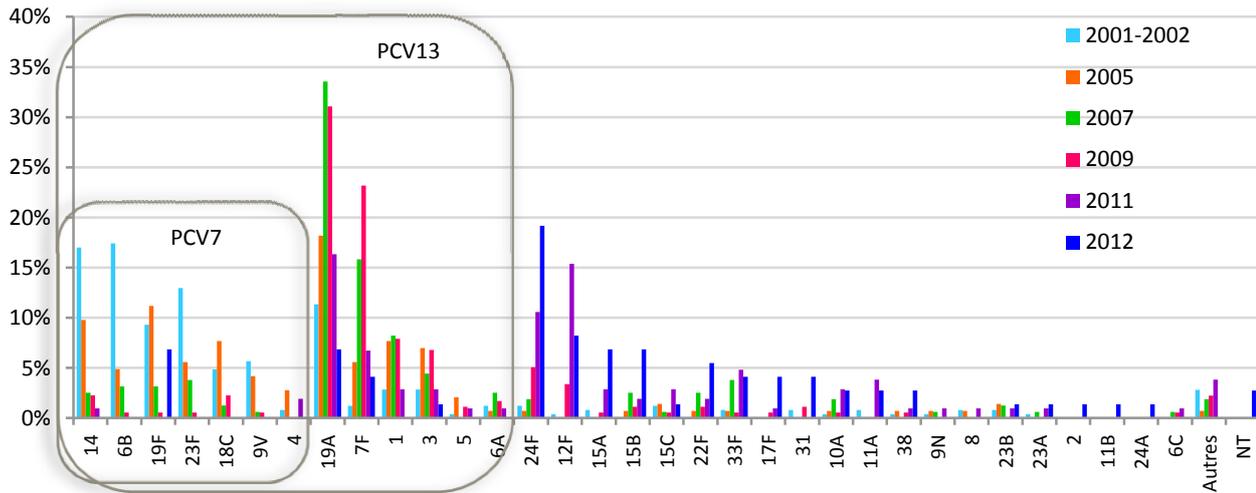


Figure 47 – Distribution comparée des sérotypes de *S. pneumoniae* isolés de bactériémies chez l'enfant de moins de 2 ans en 2001-2002 (n=247), 2005 (n=143), 2007 (n=158), 2009 (n=177), 2011 (n=104) et en 2012 (n=73).

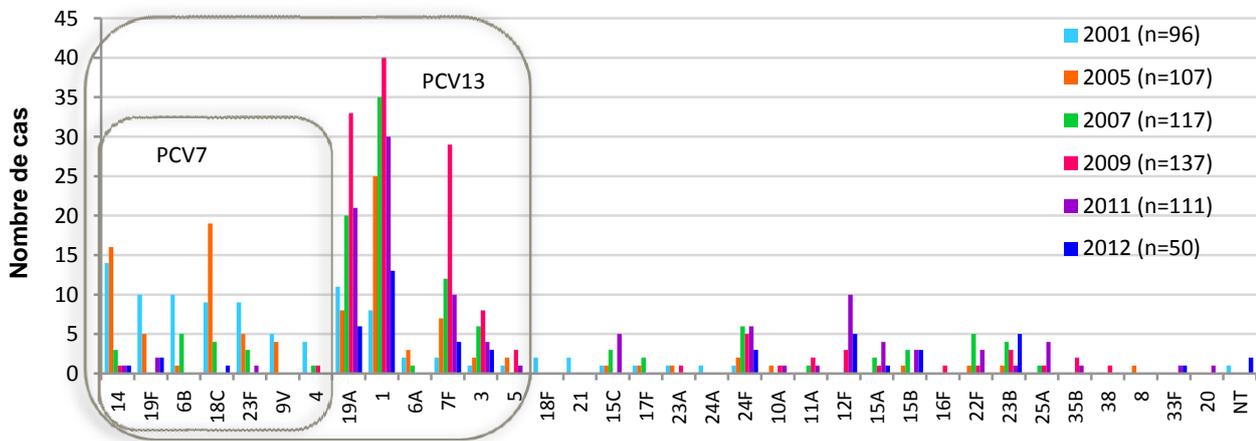


Figure 48- Fréquence des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées de bactériémies chez l'enfant de 24 à 59 mois entre 2001 et 2012.

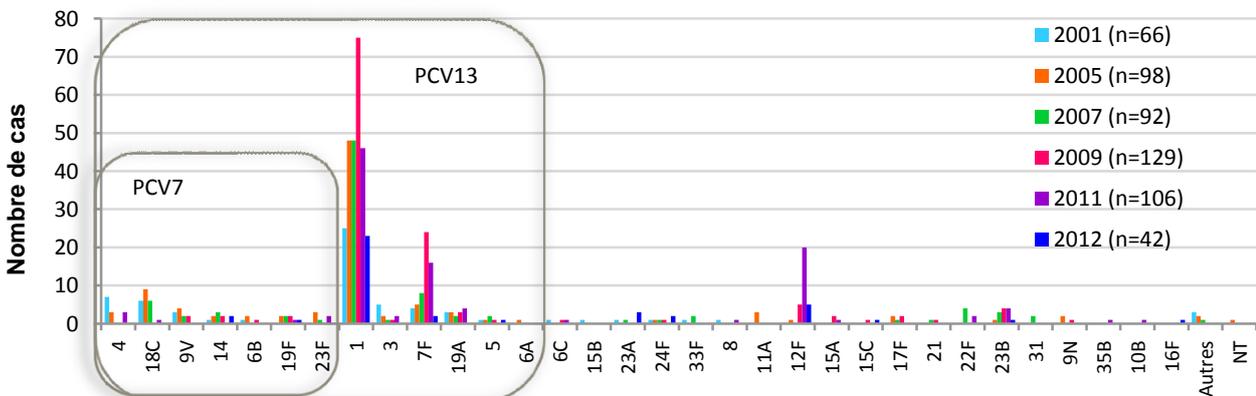


Figure 49 – Fréquence des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées de bactériémies chez l'enfant de 5 à 15 ans entre 2001 et 2012.

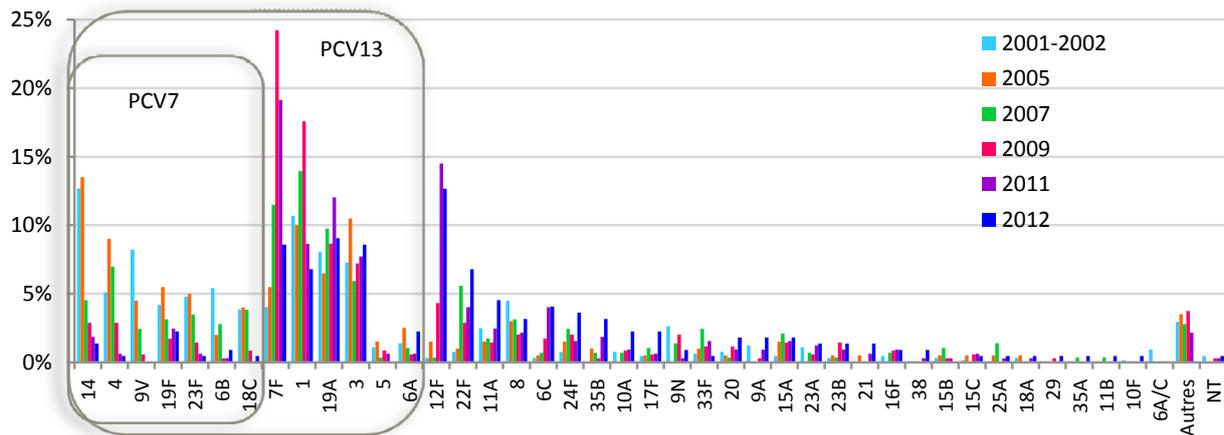


Figure 50 - Distribution comparée des sérotypes de *S. pneumoniae* isolés de bactériémies chez l'adulte âgé de 16 à 64 ans en 2001-2002 (n=646), 2005 (n=200), 2007 (n=287), 2009 (n=347), 2011 (n=324) et en 2012 (n=221).

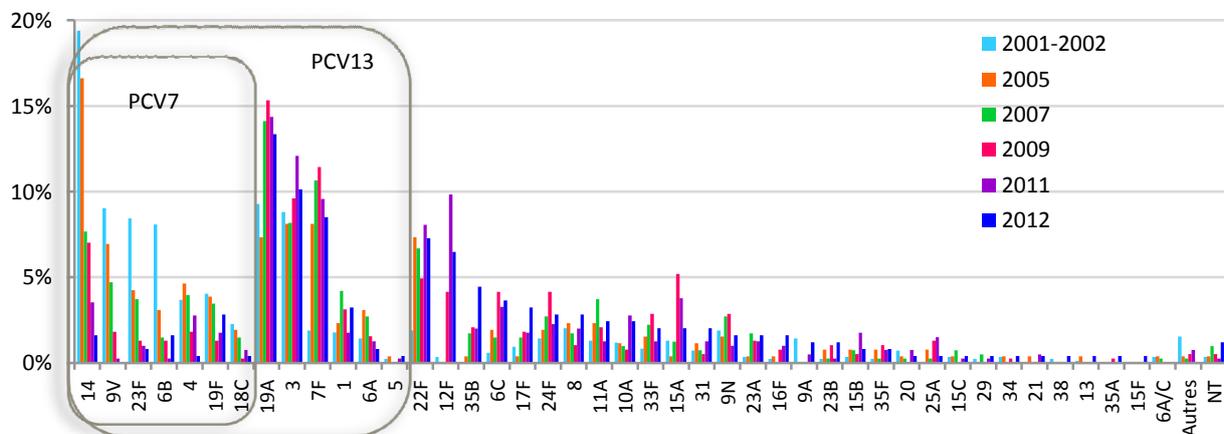


Figure 51 - Distribution comparée des sérotypes de *S. pneumoniae* isolés de bactériémies chez l'adulte âgé de plus de 64 ans en 2001-2002 (n=841), 2005 (n=259), 2007 (n=404), 2009 (n=385), 2011 (n=397) et en 2012 (n=247).

- Chez l'adulte de 16 à 64 ans, 41% des bactériémies sont théoriquement couvertes par le PCV13 en 2012 vs. 76% pour le vaccin polysidique PPV23. Dans ce groupe d'âge, le sérotype non PCV13 12F est prédominant. Le sérotype vaccinal 7F, prédominant en 2009 est en nette diminution (9% en 2012 vs. 19% en 2011), et la même tendance est observée pour le sérotype 1. Parmi les autres sérotypes non vaccinaux en progression, seul le sérotype 22F représente plus de 5% des bactériémies.
- Chez les adultes âgés de plus de 64 ans, 44% des bactériémies sont théoriquement couvertes par le PCV13, vs. 74% pour le vaccin polysidique PPV23. Les sérotypes majoritaires sont les mêmes qu'en 2011 :
 - 19A, 3, 7F, couverts par le PCV13, sont en légère diminution
 - 22F et 12F, non couverts par le PCV13, n'ont pas augmenté par rapport à 2011
 - En 2012, le sérotype qui progresse le plus est le sérotype 35B, fréquemment résistant aux bêta-lactamines. A l'inverse, les sérotype 15A et 24F en progression chez l'enfant, sont plus rarement impliqués dans les bactériémies de l'adulte.

Activité comparée des bêta-lactamines

La distribution des CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime pour les souches isolées de bactériémies en 2012 est indiquée sur la Figure 52.

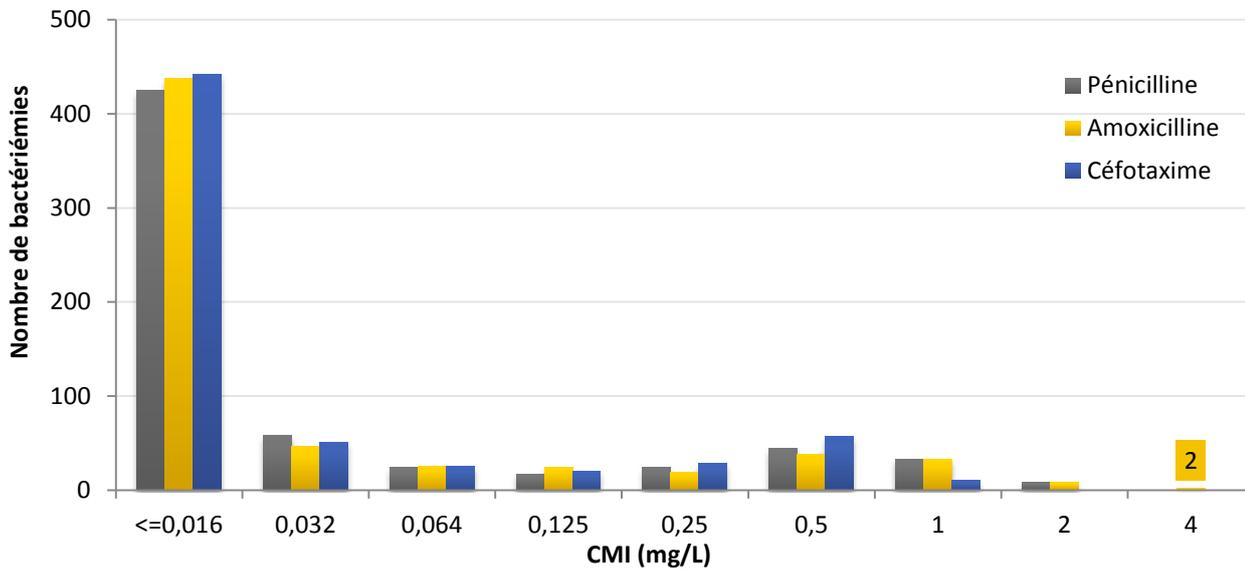


Figure 52 - Distribution des souches isolées de bactériémies en 2012 (n=633) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.

Résistance aux bêta-lactamines des sérotypes isolés de bactériémies

La sensibilité de chaque sérotype à la pénicilline, à l'amoxicilline et au céfotaxime est présentée de la Figure 53 à la Figure 55 pour l'enfant, et de la Figure 56 à la Figure 58 pour l'adulte.

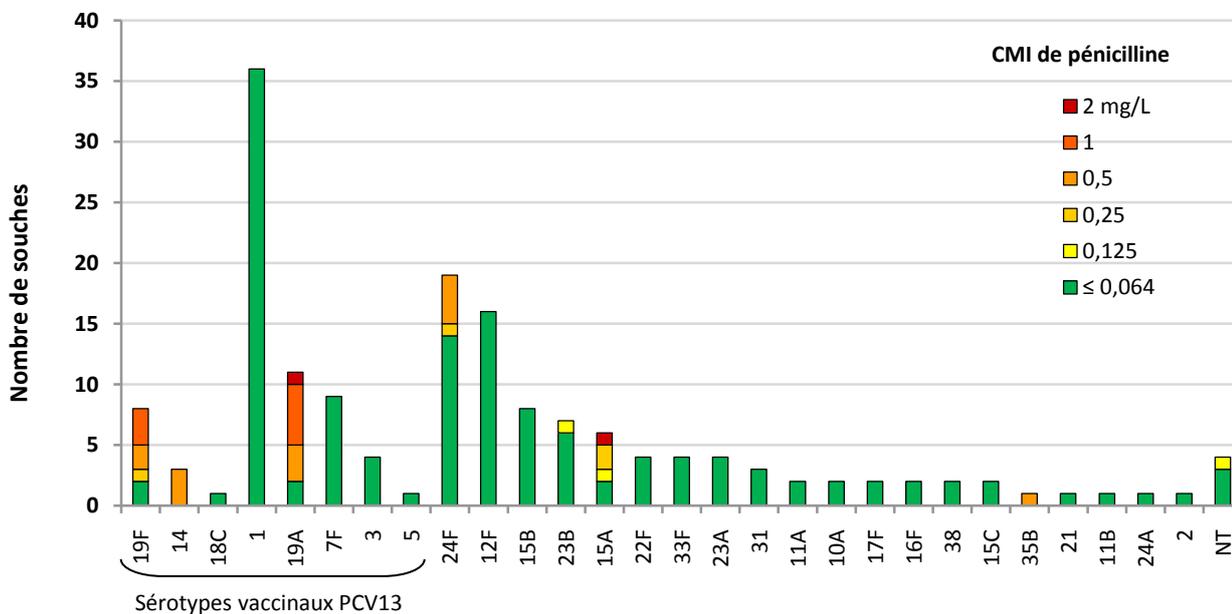


Figure 53 – Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de bactériémies chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=165).

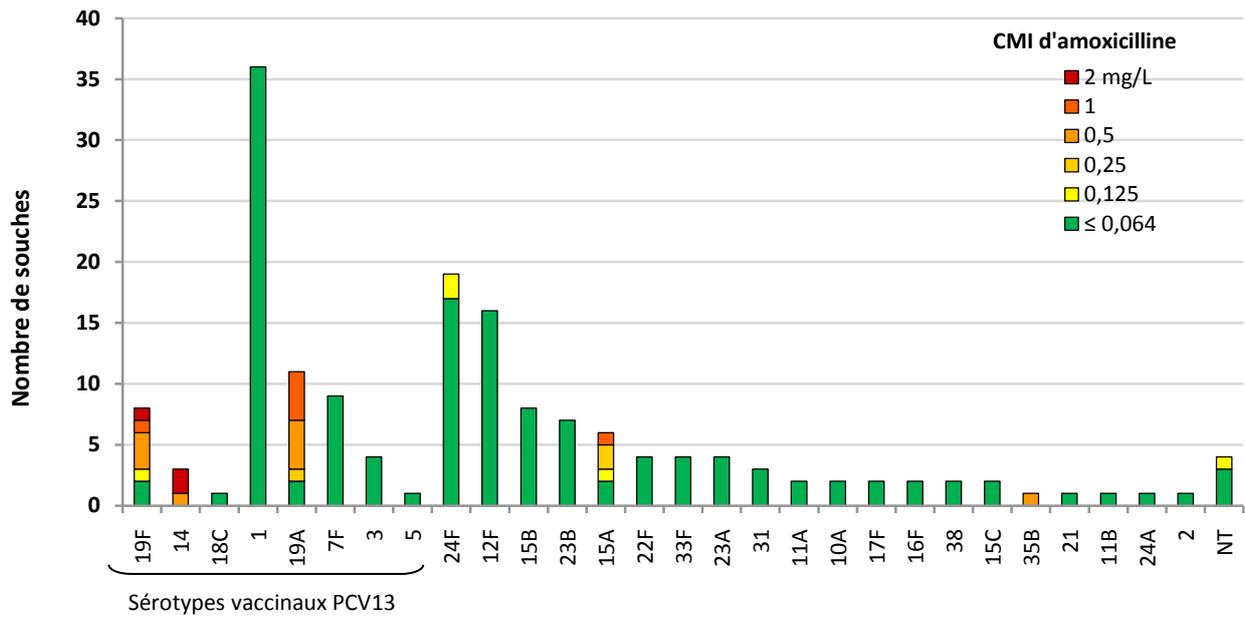


Figure 54 - Sensibilité à l'amoxicilline des sérotypes isolés de bactériémies chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=165).

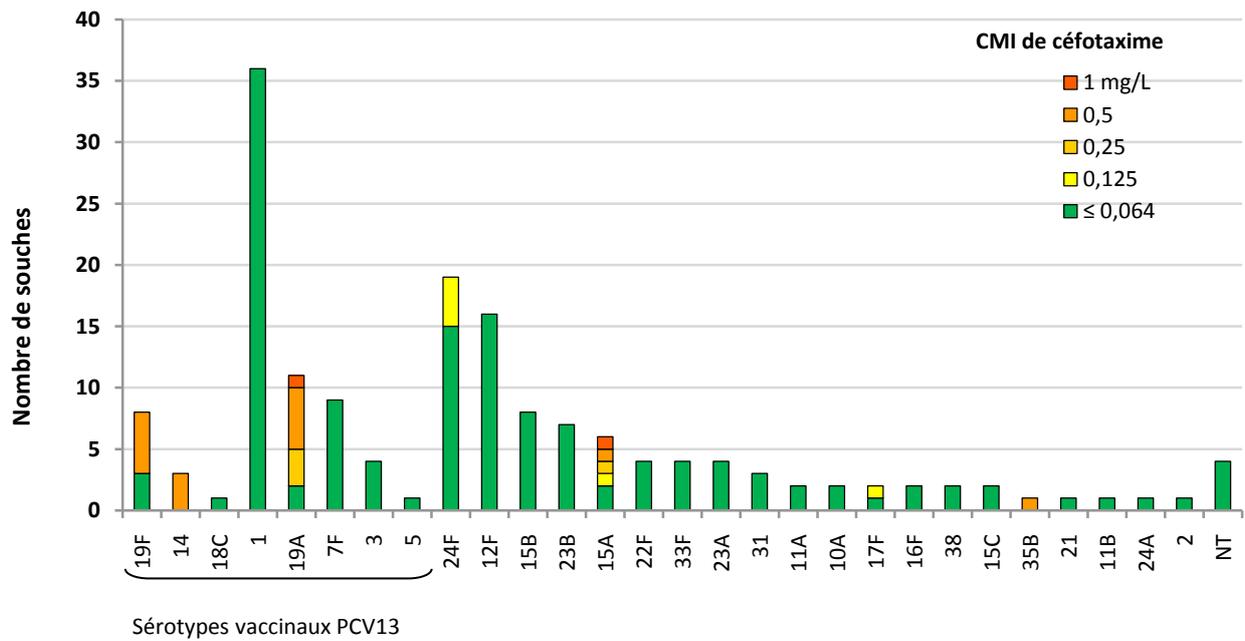


Figure 55 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de bactériémies chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=165).

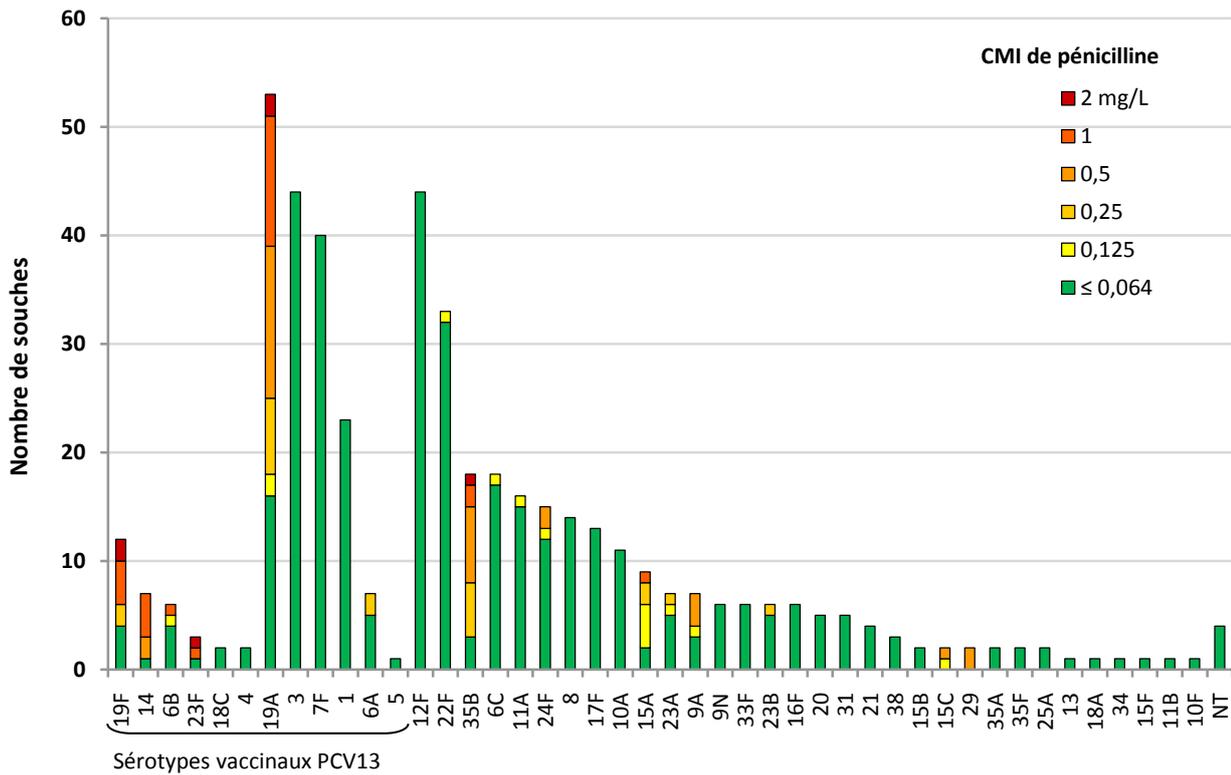


Figure 56 - Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de bactériémies chez l'adulte (> 15 ans) (n=468).

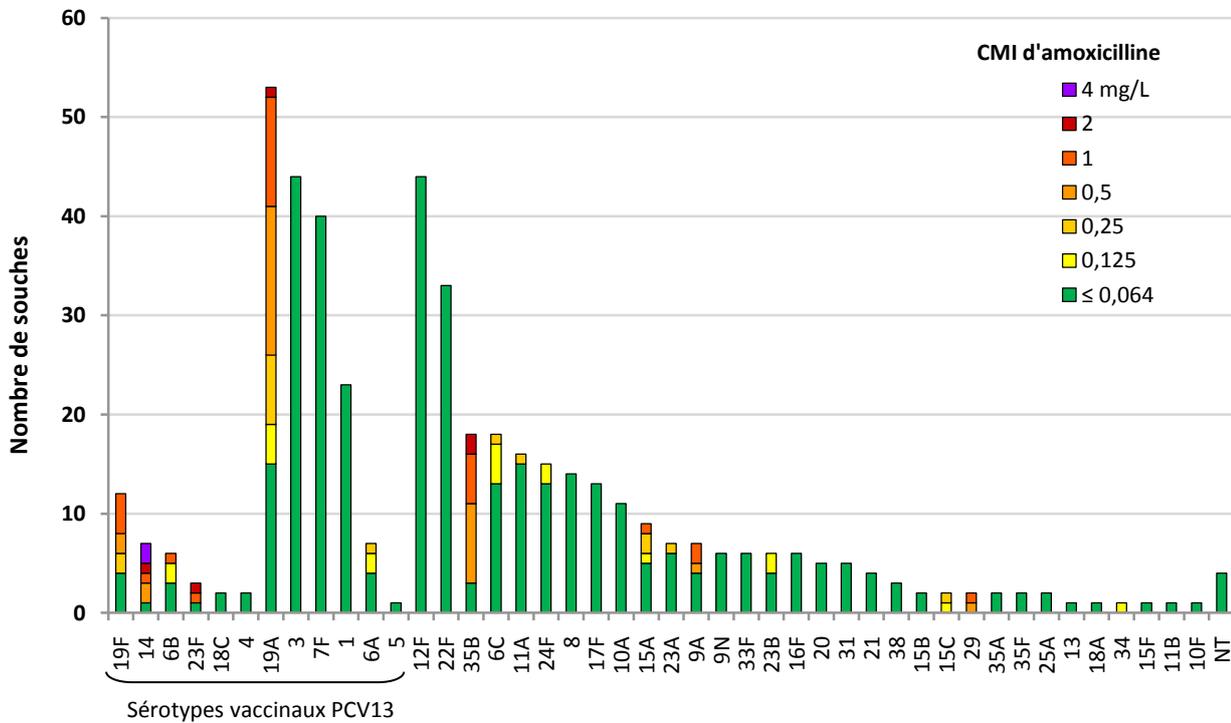


Figure 57 - Sensibilité à l'amoxicilline des sérotypes isolés de bactériémies chez l'adulte (> 15 ans) (n=468).

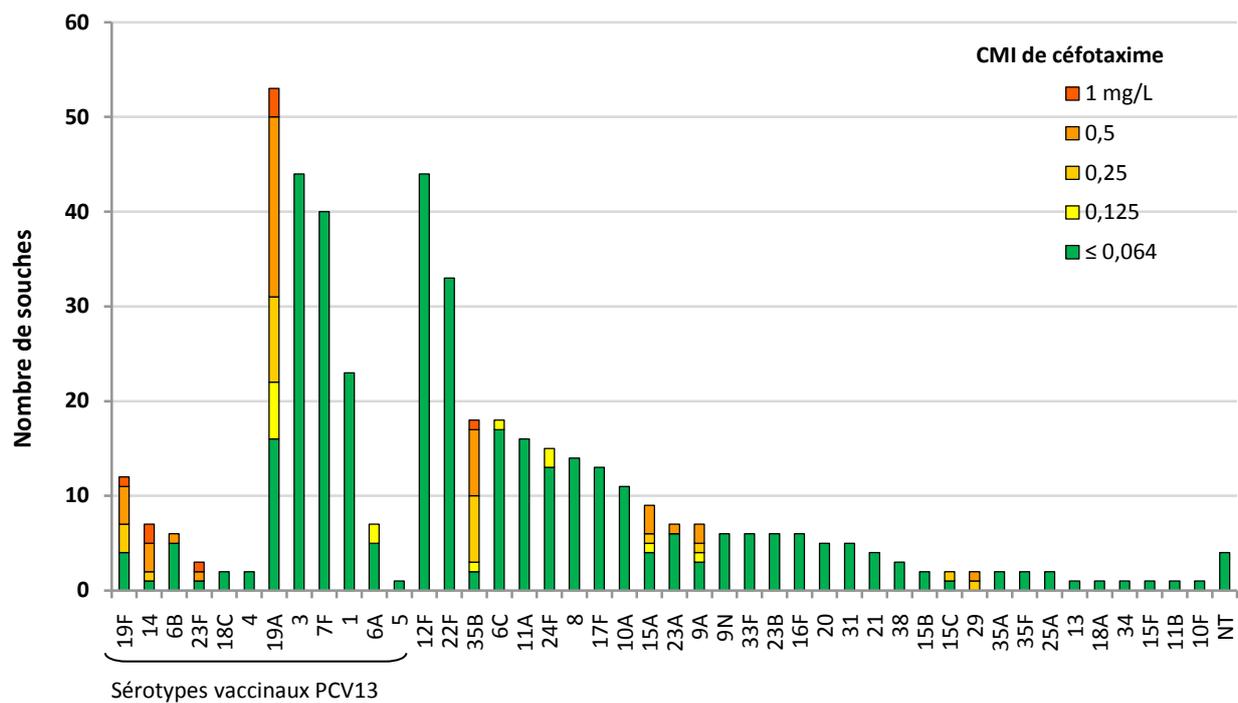


Figure 58 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de bactériémies chez l'adulte (> 15 ans) (n=468).

Pleuro-pneumopathies

En raison de leur apparente augmentation observée au début des années 2000 en France et dans différents pays, en particulier chez l'enfant, (Eastham *et al.* Thorax 2004 ; 59 :522-5 – Schultz *et al.* Pediatrics 2004 ; 113 :1735-40), le réseau des ORP participe à la surveillance des pleuro-pneumopathies en collectant les souches de *S. pneumoniae* isolées de liquide pleural. L'empyème pleural est une complication rare des pneumopathies communautaires. L'étiologie microbienne des pleuro-pneumopathies n'est documentée que dans un cas sur deux au moyen des méthodes conventionnelles car l'isolement bactérien est souvent rendu difficile par l'antibiothérapie instaurée, à juste titre, devant les signes d'atteinte pulmonaire qui ont précédé. En France, le pneumocoque est responsable d'au moins 2/3 des cas de pleuro-pneumopathie, *Streptococcus pyogenes* et *Staphylococcus aureus* représentant les principales autres étiologies (Le Monnier *et al.* Clin Infect Dis 2006;42 :1135-40).

En 2012, cette surveillance a permis d'étudier 36 souches.

Répartition en fonction de l'âge

Les cas de pleuro-pneumopathies étudiés sont survenus chez des adultes dans 30 cas (83%) et des enfants dans 6 cas (17%) (Figure 59).

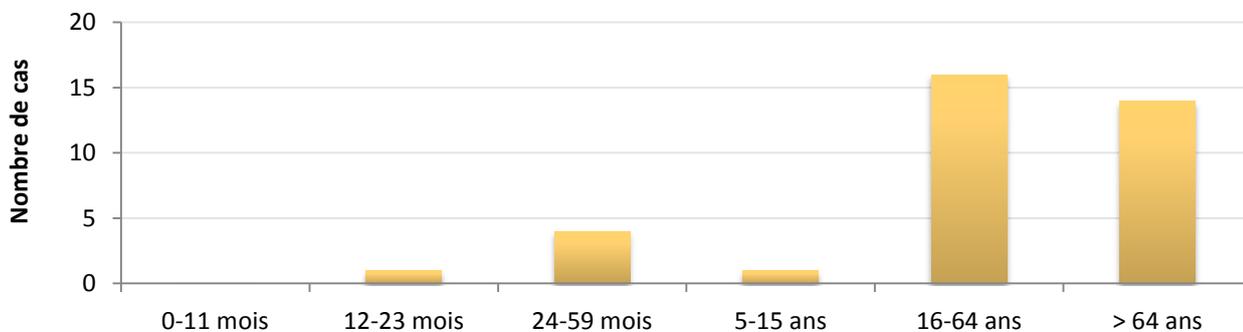


Figure 59 - Distribution des cas de pleuro-pneumopathies en fonction des groupes d'âges (n=36).

Répartition géographique

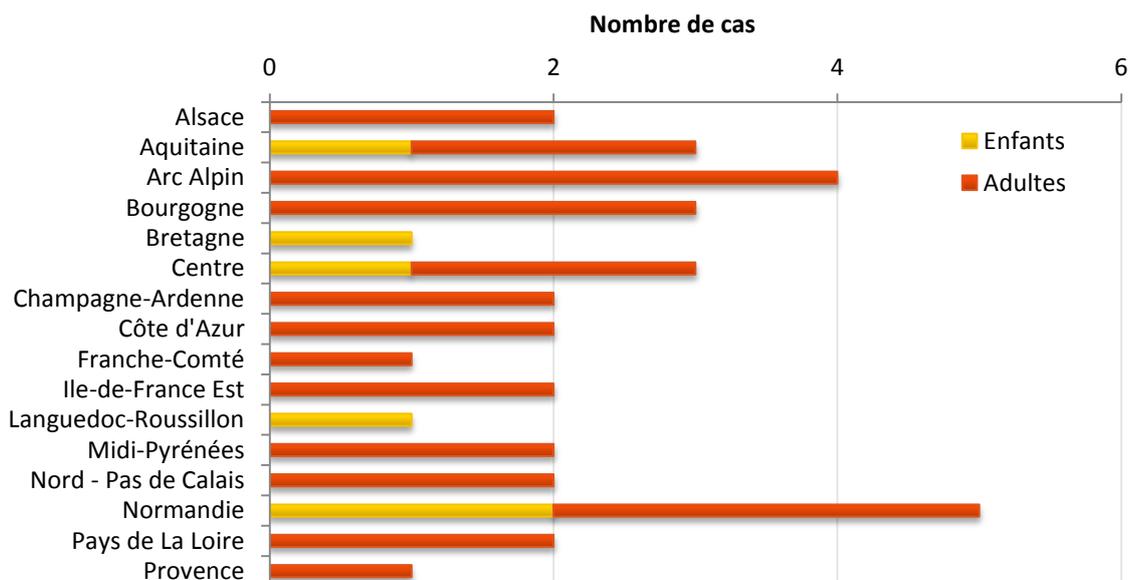


Figure 60 – Distribution régionale des cas de pleuro-pneumopathies (n=36).

Surveillance des sérotypes

Quatre sérotypes ont été isolés de liquides pleuraux chez l'enfant, 18 l'ont été chez l'adulte. Le petit nombre de souches étudiées ne permet pas de conclure sur les sérotypes dominants dans les pleuro-pneumopathies de l'enfant en 2012. Chez l'adulte, le sérotype 3 reste majoritaire, et représente 20% des souches (6/30). Les sérotypes 1 et 11A représentent chacun 10% des souches (3/30) (Figure 61). Chez l'adulte, les sérotypes des souches de pneumocoque responsables de pleuro-pneumopathies sont théoriquement couverts par le vaccin conjugué 13-valent dans 43% des cas.

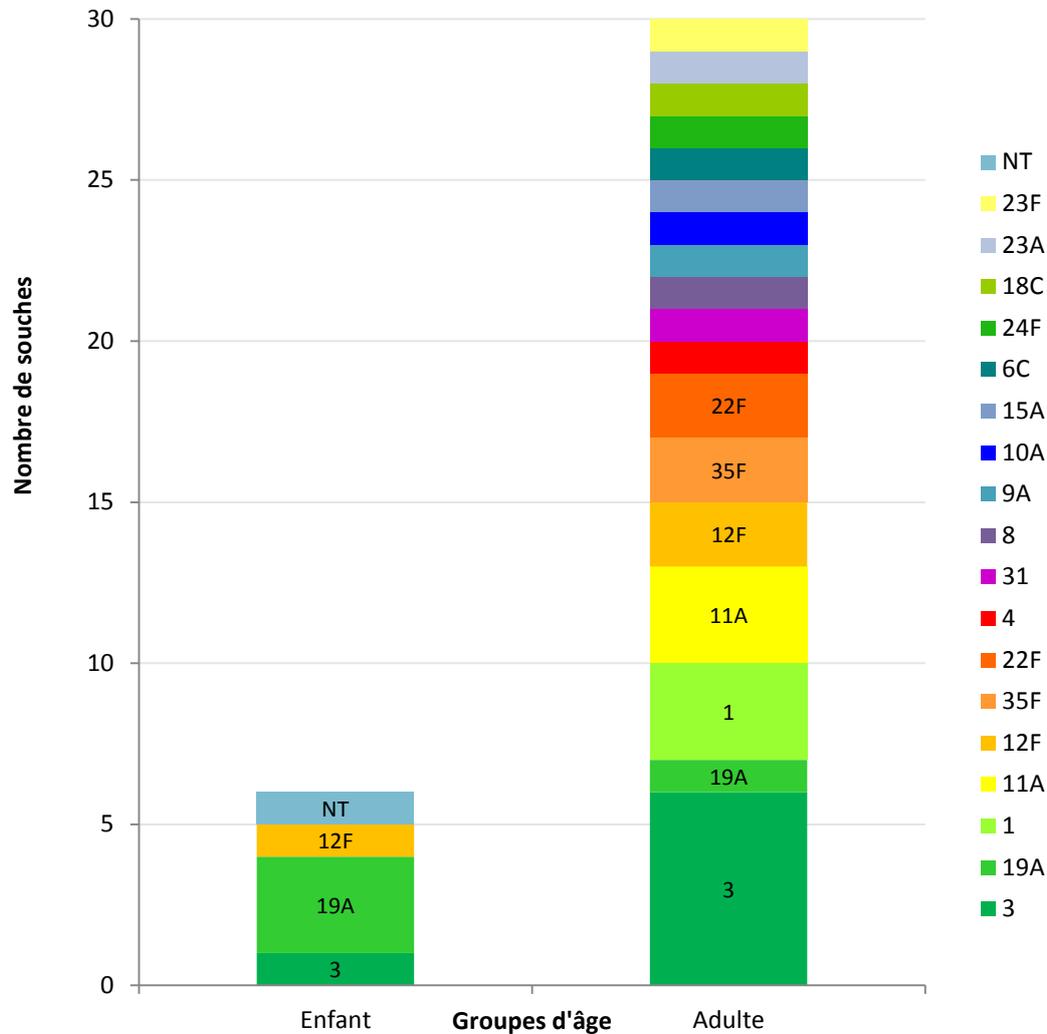


Figure 61 – Distribution des sérotypes des souches isolées de liquides pleuraux par groupe d'âge.

Activité comparée des bêta-lactamines

La distribution des CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime pour les souches isolées de liquides pleuraux en 2012 est indiquée sur la Figure 62. Les souches de sensibilité diminuée à la pénicilline représentent 17% des souches (3/6 enfants, et 3/30 adultes).

Aucune souche résistante aux bêta-lactamines n'a été isolée.

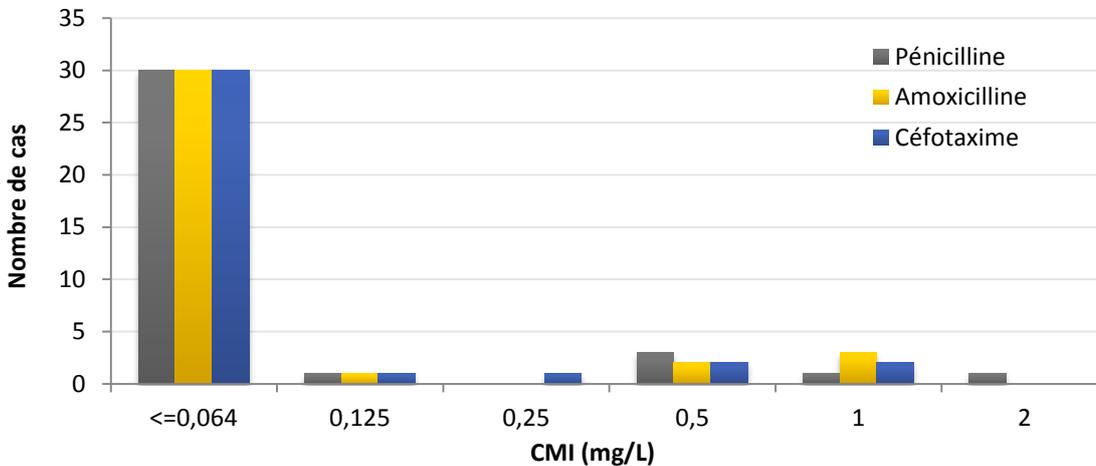


Figure 62 - Distribution des souches isolées de liquides pleuraux (n=36) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.

Résistance aux antibiotiques des sérotypes isolés de liquides pleuraux.

Les souches de sérotype 3 (sérotype majoritaire), sont sensibles aux bêta-lactamines et à l'ensemble des antibiotiques, de même que les souches de sérotype 1 et 11A. Sur les 4 souches de sérotype 19A analysées cette année, 3 sont de sensibilité diminuée à la pénicilline, et cette résistance est associée à une résistance à l'érythromycine, à la tétracycline et la kanamycine (Figure 63).

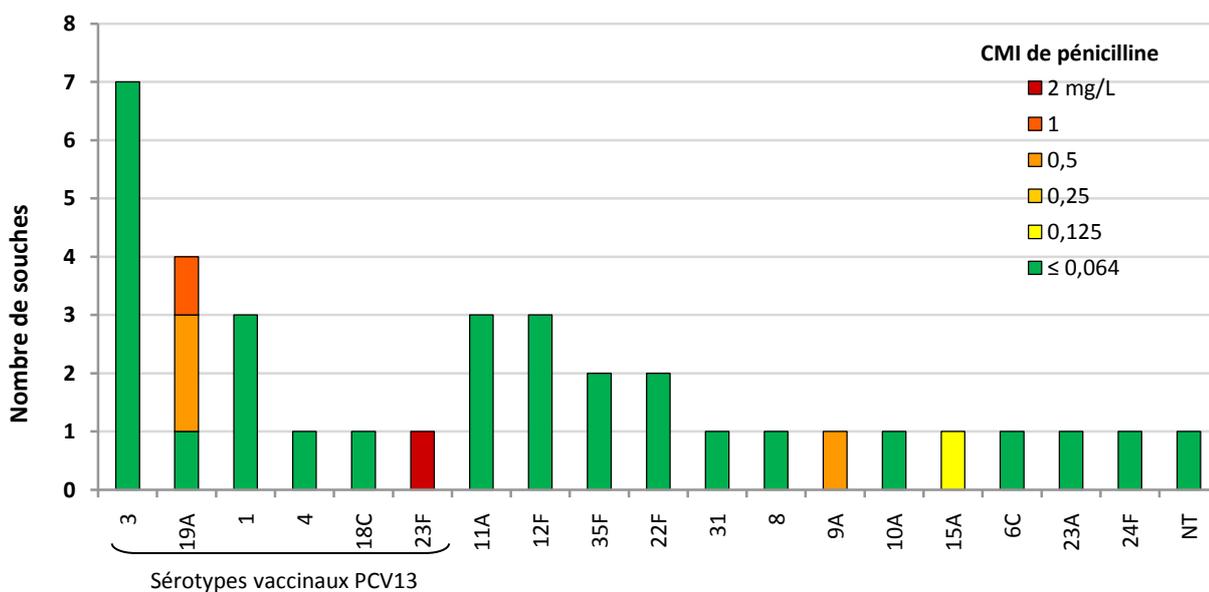


Figure 63 – Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de liquides pleuraux, tous âges confondus (n=36).

Variations régionales de la sensibilité à la pénicilline et de la couverture sérotypique des vaccins conjugués pour les souches invasives

Pour apprécier les variations régionales de la résistance aux antibiotiques, nous avons découpé le territoire selon les huit grandes zones d'études et d'aménagement (ZEAT), composées de la (les) région(s) suivantes :

- REGION PARISIENNE : Ile de France
- BASSIN PARISIEN : Bourgogne, Centre, Champagne-Ardenne, Basse et Haute Normandie, Picardie
- NORD : Nord Pas-de-Calais
- EST : Alsace, Franche-Comté, Lorraine
- OUEST : Bretagne, Pays de la Loire, Poitou-Charentes
- SUD-OUEST : Aquitaine, Limousin, Midi-Pyrénées
- CENTRE-EST : Auvergne, Rhône-Alpes
- MEDITERRANEE : Languedoc-Roussillon, Provence-Alpes-Côte d'Azur, Corse.

Entre 2001 et 2012, la proportion des souches invasives de sensibilité diminuée à la pénicilline a baissé, parfois très nettement, dans toutes les régions. En 2012, elle s'échelonne de 17 à 26%. Trois régions présentent une proportion supérieure à la proportion nationale des souches invasives de sensibilité diminuée à la pénicilline (22%) : il s'agit des régions Bassin Parisien, Sud-Ouest et Méditerranée.

Il existe aussi des disparités régionales concernant la couverture sérotypique des vaccins PCV7 (6 à 13%) et PCV13 (23% à 38%) (Tableau 23).

Tableau 23 – Évolution de la sensibilité à la pénicilline (Pen) et de la couverture sérotypique des vaccins conjugués heptavalent (PCV7) et 13-valent (PCV13) pour les souches invasives (LCR et Hémoculture) entre 2001 et 2012 selon la zone géographique.

Zone géographique	Année	N	%Pen-S	%Pen-I/R	%PCV7	%PCV13
NORD	2001	109	52%	48%	61%	83%
	2003	78	56%	44%	46%	81%
	2005	110	65%	35%	45%	85%
	2007	142	73%	27%	18%	63%
	2009	143	79%	21%	8%	57%
	2011	204	80%	20%	2%	38%
	2012	79	80%	20%	6%	32%
BASSIN PARISIEN	2001	322	50%	40%	48%	79%
	2003	297	57%	43%	50%	82%
	2005	262	61%	39%	47%	78%
	2007	268	67%	33%	28%	72%
	2009	287	71%	29%	10%	64%
	2011	288	74%	26%	9%	47%
	2012	183	75%	25%	8%	34%
REGION PARISIENNE	2001	170	48%	52%	55%	77%
	2003	197	60%	40%	51%	77%
	2005	161	63%	37%	40%	78%
	2007	240	65%	35%	23%	66%
	2009	278	71%	29%	12%	66%
	2011	206	73%	27%	10%	47%
	2012	88	80%	20%	8%	23%

Zone géographique	Année	N	%Pen-S	%Pen-I/R	%PCV7	%PCV13
EST	2001	148	55%	45%	57%	80%
	2003	119	55%	45%	52%	81%
	2005	116	72%	29%	34%	66%
	2007	135	64%	35%	27%	76%
	2009	127	78%	22%	13%	63%
	2011	123	78%	22%	11%	52%
	2012	123	80%	20%	8%	36%
CENTRE-EST	2001	239	64%	36%	41%	77%
	2003	206	62%	38%	53%	86%
	2005	163	74%	26%	36%	76%
	2007	198	73%	27%	17%	69%
	2009	286	75%	25%	9%	67%
	2011	191	76%	24%	8%	51%
	2012	118	83%	17%	8%	36%
OUEST	2001	170	54%	46%	49%	76%
	2003	196	53%	47%	51%	83%
	2005	162	64%	36%	39%	76%
	2007	215	64%	36%	25%	67%
	2009	238	71%	29%	10%	66%
	2011	210	81%	19%	8%	45%
	2012	145	82%	18%	7%	27%
SUD-OUEST	2001	154	46%	54%	57%	85%
	2003	128	59%	41%	47%	78%
	2005	131	62%	38%	39%	80%
	2007	149	70%	30%	26%	74%
	2009	169	75%	25%	8%	67%
	2011	144	76%	24%	6%	53%
	2012	111	75%	25%	7%	38%
MEDITERRANEE	2001	141	52%	48%	53%	78%
	2003	156	55%	45%	56%	81%
	2005	131	64%	36%	40%	73%
	2007	141	71%	29%	28%	74%
	2009	129	71%	29%	12%	57%
	2011	108	75%	25%	8%	52%
	2012	110	74%	26%	13%	30%

Selon le CA-SFM 2012.

Données épidémiologiques de France ultra-marine - ORP de Nouvelle Calédonie

En 2012, l'ORP de Nouvelle Calédonie a adressé au CNRP 26 souches : 4 souches isolées chez l'enfant et 22 souches isolées chez l'adulte. Le CNRP a étudié 3 souches isolées de LCR chez l'adulte et 23 souches isolées d'hémoculture (4 chez l'enfant, 19 chez l'adulte).

Surveillance des sérotypes

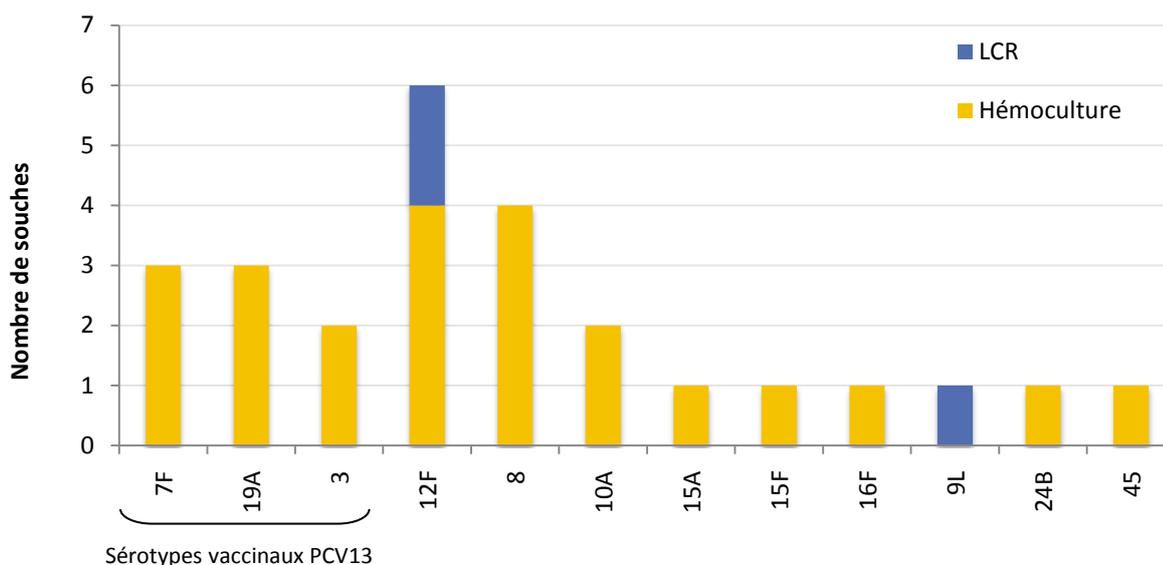


Figure 64 - Sérotypes des souches isolées en Nouvelle-Calédonie en fonction du site d'isolement.

Le sérotype 12F représente presque un quart des souches étudiées (6/26 souches).

Activité comparée des bêta-lactamines

Les CMI maximales sont de 0,25 mg/L pour la pénicilline, 0,125 mg/L pour l'amoxicilline, et de 0,5 mg/L le céfotaxime (Figure 65). Sur 26 souches étudiées, 24 sont sensibles aux trois bêta-lactamines.

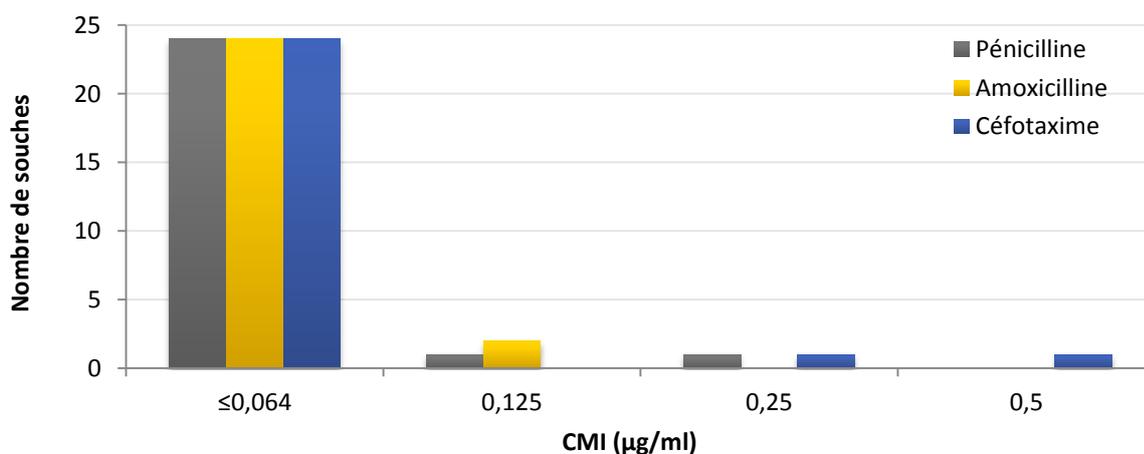


Figure 65 - Distribution des souches en Nouvelle-Calédonie en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.

Résistance aux antibiotiques des sérotypes isolés en Nouvelle-Calédonie

La sensibilité de chaque sérotype à la pénicilline et aux macrolides est présentée dans la Figure 66 et la Figure 67. Les deux souches de sensibilité diminuée à la pénicilline (sérotypes 19A et 15A) présentent une résistance associée à l'érythromycine.

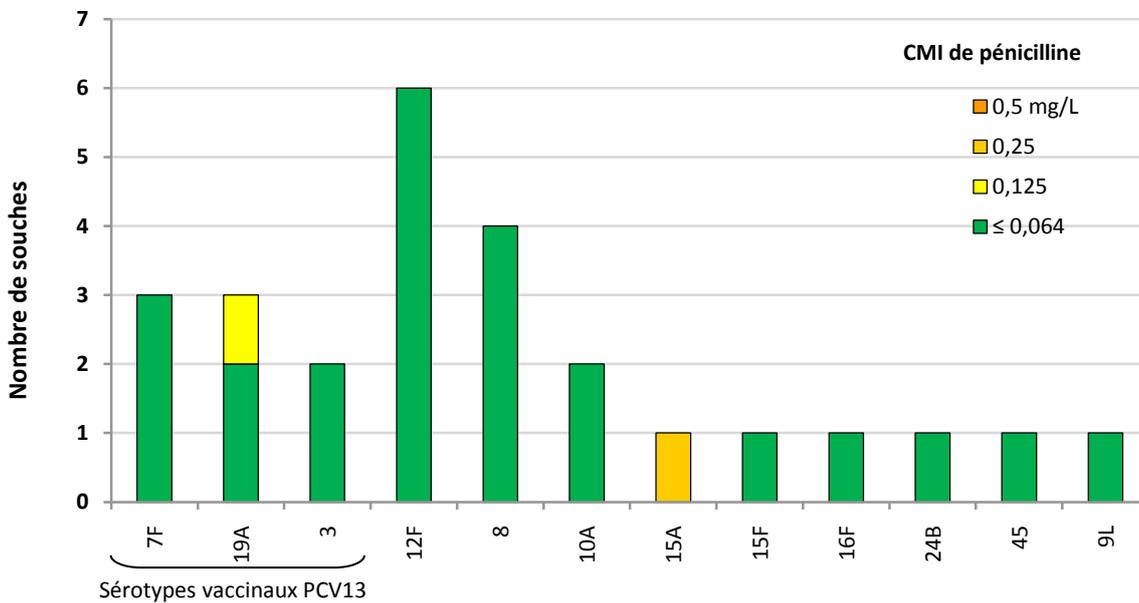


Figure 66 – Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés en Nouvelle-Calédonie (n=26).

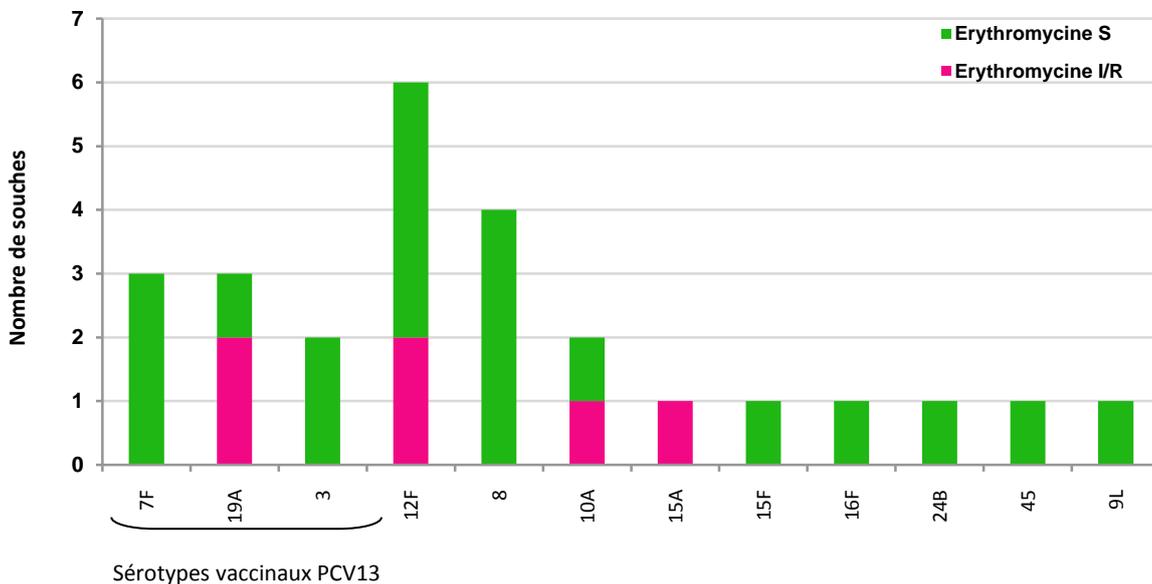


Figure 67 - Sensibilité aux macrolides des sérotypes isolés en Nouvelle-Calédonie (n=26).

Participation à des réseaux de surveillance

Réseaux nationaux

Le CNRP, qui est associé à l'Observatoire National de l'Épidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) participe, pour ce qui concerne les pneumocoques, à la méthodologie de la surveillance de la résistance, à la démarche qualité, et à l'analyse des résultats obtenus par l'ONERBA. Après analyse, une sélection des résultats de l'année 2012 concernant la sensibilité aux antibiotiques (distribution des CMI, % de sensibilité) sera disponible sur le site WEB de l'ONERBA (<http://www.onerba.org>).

En outre, le CNRP participe à :

- l'Observatoire des méningites bactériennes de l'enfant depuis 2001 (GPIP-ACTIV).
- l'Observatoire des infections invasives de l'enfant (GPIP-ACTIV) depuis 2011
- l'Observatoire des méningites bactériennes de l'adulte « COMBAT » mis en place depuis janvier 2013.
- La mise en place d'une surveillance des infections invasives (hors méningites) à pneumocoque de l'adulte (SIIP) (Cf § Perspectives - Renforcer la surveillance épidémiologique en lien avec l'Institut de veille sanitaire).

Réseaux internationaux

Le CNRP participe au réseau de surveillance européen EARSS/EARS-Net et fournit, depuis 2001, les données concernant la résistance à la pénicilline, au céfotaxime, à l'érythromycine et à la ciprofloxacine des souches de *S. pneumoniae* isolées d'hémoculture et de méningites. Pour 2012, les données de la surveillance des souches invasives de pneumocoques en Europe sont illustrées sur la Figure 68. La diminution régulière de la proportion de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline observée en France, permet à la France d'apparaître en orange sur la carte de l'Europe, comme en 2011. La même tendance est également observée au Portugal et au Luxembourg. Dans le même temps, une augmentation du nombre de ces souches est rapportée en Belgique, au Danemark, en Norvège, et au Royaume-Uni.

Le CNRP participe régulièrement depuis 2000 au contrôle de qualité annuel organisé par Neqas pour Ears-Net.

En 2012, le CNRP a participé au contrôle de qualité organisé par l'ECDC dans le cadre de la surveillance des infections invasives en Europe (IBD-Labnet surveillance network). L'ensemble des techniques mises en œuvre au CNRP satisfait aux exigences d'une surveillance de qualité, et a permis de répondre avec succès aux différents items (étude de sensibilité aux antibiotiques, sérotypage, MLST, identification par PCR).

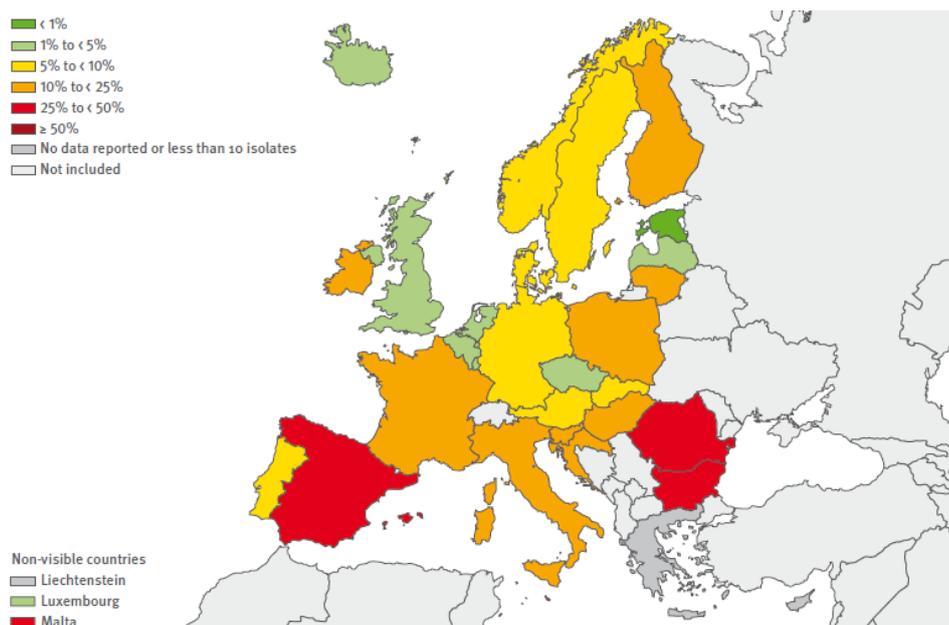


Figure 68 - Souches invasives (méningites et bactériémies) de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline en Europe (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network, Annual report 2012, <http://www.ecdc.europa.eu>).

Alerte

Lorsque que nous recevons l'information de la survenue de cas groupés d'infections invasives à pneumocoque, nous la transmettons par téléphone puis par courriel à Agnès Lepoutre (infections communautaires) ou à Bruno Coignard (infections nosocomiales), avec copie du courriel à Daniel Lévy-Brühl, au département de Maladies Infectieuses de l'InVS.

Participation à l'investigation des phénomènes épidémiques

En cas de survenue de cas groupés d'infections pneumococciques, ou sur demande, l'étude du lien de clonalité entre plusieurs souches est réalisée par MLST.

La surveillance exercée par le CNRP permet en outre le dépistage de :

- Émergence de sérotypes rares
- Antibiotypes nouveaux
- Cas groupés dans une région
- Diffusion de souches multi-résistantes

Au cours de l'année 2013, aucun épisode de cas groupés d'infections invasives à pneumocoque n'a été signalé au CNRP.

Conseil

L'ensemble des activités du CNRP permet d'assurer un conseil technique d'expert auprès de :

- La Direction Générale de la Santé :
 - Comité Technique des Vaccinations
 - Comité de Suivi de la Vaccination anti-pneumococcique.
- Contrôle National de Qualité : en 2009, le CNRP a fourni deux souches de pneumocoque pour le contrôle national de qualité en bactériologie organisé par l'AFSSAPS, a participé à l'analyse et à la synthèse des résultats.
- Conférences de consensus (CC), recommandations de bonnes pratiques (RBP) sous l'égide de société(s) savante(s):
 - Infections respiratoires de l'adulte (SPILF, 2006)
 - Méningites bactériennes aiguës communautaires (SPILF, 2008)
 - Antibiothérapie dans les infections respiratoires hautes de l'adulte et l'enfant (SPILF et GPIP, 2011)
 - Mise au point sur le bon usage des fluoroquinolones (SPILF, en cours)
- Conseil scientifique de l'ONERBA, depuis 2000.
- Comité de l'Antibiogramme - Société Française de Microbiologie (membre depuis 2006).
- Groupe « Consensus et Recommandations » de la SPILF, depuis 2012.

Perspectives 2012 à 2016

La surveillance de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques s'inscrit dans le projet européen de lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques, la résistance du pneumocoque à la pénicilline ayant été choisie par les experts comme l'un des cinq indicateurs de l'effet délétère de la consommation d'antibiotiques en Europe (Conférence "The Microbial Threat", Copenhague, septembre 1998). Ce projet s'intègre dans une politique d'ensemble de maîtrise de la consommation des antibiotiques. En France, des objectifs prioritaires ont été prévus dans le contrat d'objectifs et de moyens 2002-2003 passé entre l'InVS et le Ministère chargé de la Santé : suivre les tendances de la sensibilité aux antibiotiques pour certaines infections bactériennes prioritaires ; détecter l'émergence de nouvelles résistances pouvant limiter la prise en charge thérapeutique des patients ; contribuer à l'évaluation des politiques de contrôle et de prévention ; et participer au système de surveillance européen de la résistance aux antibiotiques (EARS-net).

En 2004, la proportion de souches de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline et de souches résistantes à la pénicilline, à l'érythromycine et aux fluoroquinolones, ainsi que l'incidence des infections graves (méningites, bactériémies) à ces pneumocoques résistants, ont été retenus comme indicateurs nécessaires au suivi de l'atteinte des objectifs de la loi relative à la politique de santé publique (Objectif 30 : « Maîtriser la progression de la résistance aux antibiotiques »).

De plus, la mise à disposition pour l'enfant de moins de 2 ans du vaccin conjugué heptavalent anti-pneumococcique depuis le printemps 2001 en France, puis de sa formule à 13 valences en juin 2010, rend nécessaire l'évaluation de son impact et de sa couverture sérotypique.

Un partenariat entre les ORP, le CNRP et l'InVS pour la surveillance de la sensibilité aux antibiotiques du pneumocoque a été conclu pour une durée de 2 ans par la signature d'une charte commune en décembre 2002. Cette charte a été renouvelée tous les 2 ans depuis. Il s'agit d'un partenariat scientifique qui s'appuie sur un comité scientifique de pilotage composé de membres représentant les ORP, le CNRP, la DGS et l'InVS et d'experts invités le cas échéant où sont discutés les axes de surveillance et de recherche, les moyens et les méthodes. Ce partenariat est aussi financier : l'InVS engage chaque année un budget pour un financer le transport des souches entre les participants des ORP et le CNRP et ainsi favoriser le recueil et l'étude des pneumocoques.

L'ensemble des activités réalisées au CNRP pour répondre à ses missions sera poursuivi dans le cadre de ce partenariat.

Optimiser l'expertise microbiologique

- Le CNRP a entrepris d'améliorer les techniques de sérotypage phénotypique et génotypique.
 - Depuis 2012, le CNRP effectue le sérotypage par PCR. Cette technique est mise à profit pour le typage de pneumocoques responsables d'infections invasives, à partir d'extraits d'ADN présents dans des sites normalement stériles à cultures négatives (LCR et liquides pleuraux surtout).
 - Le CNRP développe le typage génotypique des souches invasives par MLST. En effet, l'analyse des profils génétiques obtenus par MLST pour des souches de sérotypes émergents rares et/ou de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines permet de détecter les « switches » capsulaires et d'identifier les clones circulants dans notre pays. Les résultats du typage moléculaire des pneumocoques de sérotype 19A montrent qu'en France, le remplacement est lié à l'expansion d'un clone préexistant à l'introduction du vaccin (ST276) (Cohen R. et al., Vaccine, 2010), distinct des clones majoritaires nord-américains (ST199, ST320 et ST695) (Brueggemann et al. PLOS, 2007 ; Pillai et al. BMC Genomics, 2009). Les résultats obtenus pour les souches invasives de sérotype 1, 3 ou 7F, mettent en évidence un clone nettement majoritaire (respectivement ST306, ST180 et ST191), alors que les souches invasives de sérotype 12F paraissent plus diverses (Tableau 21).

Renforcer la surveillance épidémiologique en lien avec l'Institut de veille sanitaire

- A travers le réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque qui couvre près de 70% des admissions en médecine, nous poursuivons la surveillance épidémiologique des pneumocoques isolés d'infections sévères : méningites, pleuro-pneumopathies, pneumonies bactériémiques de l'adulte hospitalisé, bactériémies et OMA de l'enfant. **Cette surveillance nous permettra de suivre l'émergence, tant en ce qui concerne la résistance aux antibiotiques que l'évolution des sérotypes, des souches de remplacement sous la double pression du vaccin conjugué 13-valent et des antibiotiques.**

- Le CNRP poursuit l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des pneumocoques par des méthodes standardisées et travaille au sein du CA-SFM à l'harmonisation des méthodes et des règles d'interprétation de l'antibiogramme avec le comité européen de l'antibiogramme EUCAST.
- Le CNRP continue de participer à l'étude prospective des méningites pédiatriques (**Observatoire des Méningites Bactériennes de l'Enfant**, Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique - ACTIV). Ces travaux, qui permettent d'estimer la mortalité et les séquelles attribuables à cette pathologie (Bingen *et al.* Clin Infect Dis 2005;41(7):1059-63), contribuent à l'évaluation de l'impact de la vaccination par le vaccin conjugué.
- **L'observatoire des infections invasives à pneumocoque de l'enfant** a été mis en place en janvier 2011 à l'initiative du Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique – ACTIV, en étroite collaboration avec le CNRP et les ORP. Les résultats de cette surveillance concernant l'impact du PCV13 sur les pneumonies communautaires de l'enfant viennent de paraître (Angoulvant *et al.* Clin Infect Dis. 2014 Apr;58(7):918-24. doi: 10.1093/cid/ciu006. Epub 2014 Feb 13).
- Le CNRP et les Observatoires Régionaux du Pneumocoque ont accepté de participer à la création d'un **Observatoire national des méningites bactériennes de l'adulte**. Il s'agit de « **COMBAT** », étude de cohorte nationale observationnelle prospective et exhaustive dans les centres participants. Ce projet est piloté par Xavier DUVAL (Investigateur coordonnateur), Bruno HOEHN, Bruno MOURVILLIER, Marie-Cécile PLOY et Emmanuelle VARON. Actuellement 69 centres comprenant un binôme microbiologiste et clinicien référent sont ouverts. Depuis février 2013, sur 205 malades déjà définitivement inclus et pour lesquels un micro-organisme a été identifié, 110 (54%) ont présenté une méningite à pneumocoque.
- Enfin, **une surveillance des infections invasives (hors méningites) à pneumocoque de l'adulte (SIIP)** a été mise en place avec le soutien de la SPILF et de l'INVS. Il s'agit d'une étude de cohorte descriptive prospective multicentrique dans les établissements hospitaliers de court séjour publics ou privés de plusieurs régions associant les réseaux des ORP, le CNRP et la SPILF. Elle est pilotée par Jacques Gaillat, Marie-Cécile Ploy, Agnès Lepoutre, Daniel Lévy-Bruhl et Emmanuelle Varon. **Son objectif est d'estimer l'incidence et l'évolution des pneumonies bactériémiques chez l'adulte en fonction des facteurs de risque, et d'évaluer l'impact de la politique vaccinale.** Les résultats de la phase pilote, qui a permis d'inclure 135 cas dans les ORP Arc Alpin, Centre et Provence entre octobre 2012 et décembre 2013, seront présentés au mois de juin aux Journées Nationales d'Infectiologie à Bordeaux. Cette surveillance sera étendue aux régions Champagne-Ardenne et Alsace entre autres pour permettre d'inclure 520 cas annuels à partir du mois de d'octobre 2014, pour une durée de trois ans.
- Le CNRP en collaboration avec ACTIV poursuit **l'évaluation de l'impact du vaccin conjugué sur le portage rhino-pharyngé chez des enfants de 6 à 59 mois**, qui reflète le réservoir naturel de pneumocoques en circulation dans la population. Il s'agit d'une étude phénotypique de l'ensemble des souches (sensibilité aux antibiotiques et sérotype) et génotypique (MLST) pour les souches non vaccinales de sensibilité diminuée à la pénicilline.
- Le dosage global par ELISA des IgG dirigées contre les 23 antigènes capsulaires contenus dans le vaccin polysidique (VaccZyme™ PCP IgG, Binding Site, France), s'il reflète mal l'immunogénicité du vaccin en raison d'une faible corrélation entre concentration et fonctionnalité des anticorps, et de l'absence de seuil protecteur connu, fait partie de l'exploration de certains déficits immunitaires. Il est effectué dans le laboratoire de Microbiologie de l'HEGP.
- Depuis la fin de l'année 2012, le dosage des anticorps spécifiques de chacun des types capsulaires contenus dans les vaccins pneumococciques est opérationnel dans le service d'Immunologie de l'hôpital Cochin (Pr Frédéric BATTEUX, Mathilde BAHUAUD). Jusque là, aucun laboratoire en France n'effectuait ce dosage ni *a fortiori*, n'évaluait l'activité fonctionnelle de ces anticorps. En collaboration avec le CIC de Cochin (Pr Odile LAUNAY), dans le but **d'évaluer l'immunogénicité des vaccins anti-pneumococciques**, le CNRP a participé à la **mise en place de cette plateforme de sérologie pneumococcique** afin de pouvoir mesurer :
 - les **IgG spécifiques** de chacun des 13 polysaccharides capsulaires du vaccin conjugué par **ELISA**
 - la **fonctionnalité** de ces IgG spécifiques en raison de la faible corrélation entre concentration et fonctionnalité dans certains cas, grâce à **la mise au point de tests d'opsonisation, selon les standards de l'OMS** (en collaboration avec Pr Moon Nahm, Department of pathology, WHO reference laboratory for pneumococcal serology, University of Alabama à Birmingham, USA).
- Dans le cadre du **PHRC national**, le CNRP est partenaire des **projets de recherche clinique** suivants :
 - « **P2M** » : analyse des facteurs associés au risque de pleurésies purulentes chez l'enfant (investigateur-coordonnateur Muriel Le Bourgeois, AP-HP Necker-Enfants Malades, PHRC national 2005). Résultats en cours de publication.
 - « **STREPTOGENE** » : Pronostic des pneumonies à pneumocoque en réanimation : importance de la variabilité de la relation hôte-pathogène, étude observationnelle génétique prospective multicentrique (investigateur-

coordonnateur Dr JP Bédos CH Versailles, responsable Scientifique Pr JP Mira, AP-HP Cochin, INSERM U567, PHRC national 2008). L'analyse des résultats se termine.

- « **HYPOPNEUMO** : Open Randomized trial comparing the immunogenicity of four Pneumococcal vaccination in adults » Hélène Bodilis, Investigateur principal - CIC Vaccinologie Cochin-Pasteur (Pr Odile Launay) (PHRC national 2013). Il s'agit d'une étude de phase 2, ayant pour objectif de comprendre le mécanisme de l'hyporéponse après vaccinations répétées par PPV23. Elle comparera l'efficacité de la réponse immunitaire de 4 stratégies vaccinales anti-pneumococciques associant les vaccins PCV13 et PPV23. Elles comprennent 1 ou 2 injections de PCV13 et des injections à doses normales ou faibles de PPV23. L'inclusion de 60 participants est prévue (15x4), avec un suivi à 3 ans. Le démarrage de l'étude est prévu en septembre 2014.

Renforcer la participation aux réseaux de surveillance internationaux

- L'ECDC a planifié d'intégrer la surveillance des infections invasives à pneumocoque à celle des infections invasives à méningocoque et à *Haemophilus influenzae* (IBD-labnet, coordinateur Matthias FROSCHE). Les objectifs de cette surveillance sont dans un 1^{er} temps, de comparer dans les différents pays l'évolution de la résistance aux antibiotiques et la distribution des sérotypes. Le CNRP participe avec l'INVS à ce réseau de surveillance depuis 2011.
- La France fait partie des 17 pays sur 38, dont la surveillance des infections invasives à pneumocoque de l'enfant a satisfait aux critères exigés pour participer à l'analyse systématique des sérotypes de remplacement à la demande de l'OMS afin d'évaluer la relation entre le remplacement sérotypique au cours des infections invasives et l'introduction du vaccin conjugué. (Feikin DR, Kagucia EW, Loo JD, Link-Gelles R, Puhon MA, Cherian T, Levine OS, Whitney CG, O'Brien KL, Moore MR; Serotype Replacement Study Group. Serotype-specific changes in invasive pneumococcal disease after pneumococcal conjugate vaccine introduction: a pooled analysis of multiple surveillance sites. PLoS Med. 2013;10(9):e1001517.)
- Depuis juillet 2012, l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) a mis en place dans 8 pays européens une surveillance active des infections invasives à pneumocoque chez l'enfant (Epiconcept, coordination internationale), incluant un recueil de données cliniques et microbiologiques. La France y participe grâce au réseau coordonné par ACTIV/GPIP pour le volet clinique, les ORP et le CNRP pour le volet microbiologique, et par l'InVS pour la coordination générale. Il s'agit d'une surveillance exhaustive des cas survenant dans les régions Nord-Pas de Calais, Picardie et Haute Normandie. Les autres régions ou pays participant sont l'Irlande, l'Ecosse (R-U), la Norvège, la Suède, les régions de Navarre, Madrid et Catalogne en Espagne, la République Tchèque et la Roumanie.

Démarche qualité du laboratoire du CNRP

Le CNRP accompagne la démarche d'accréditation du laboratoire de Biologie de l'HEGP (2013-2016) qui, à la suite du 1^{er} audit en avril 2013, a été **accrédité par le COFRAC** pour une durée de quatre ans (15/12/2013 au 30/11/2017). Cette démarche exige l'investissement de toutes les catégories de personnel du CNRP (responsables scientifiques, techniciennes et secrétaire).

Collaboration de recherche en lien direct avec l'activité du CNRP

Le CNRP collabore sur deux projets avec l'Unité de Communications Intercellulaires et Infections Microbiennes, CIRB, **Collège de France** ; Isabelle Podglajen, MCU-PH et Guy Tran Van Nhieu, directeur de l'Unité.

- **Étude des protéines de surface à motif LPxTG.** Parmi les nombreuses protéines de surface de *S. pneumoniae*, on distingue les protéines avec un motif LPxTG reconnu par une enzyme catalysant l'attachement covalent de ces protéines au peptidoglycane. Ces protéines de surface interagissent avec des récepteurs cellulaires ou avec des protéines de la matrice extracellulaire, favorisant ainsi l'attachement des pneumocoques aux cellules de l'hôte et induisant le franchissement des barrières épithéliales et endothéliales. A partir des données bibliographiques et d'analyses *in silico*, nous avons répertorié une trentaine de gènes codant pour ces protéines de surface et évalué la présence de vingt trois d'entre eux au sein d'un échantillon de 200 souches de *S. pneumoniae* représentatif au regard du sérotype et du génotype par MLST, isolées d'infections humaines caractérisées (septicémies, méningites). Treize gènes étaient présents dans toutes les souches et 10 ont permis d'individualiser une soixantaine de profils (article en cours de rédaction). Ce volet épidémiologique nous a

permis de déceler des associations de gènes caractéristiques, dont nous proposons de tester le rôle dans la virulence. Notre objectif est d'analyser les modes d'interaction de différentes souches de *S. pneumoniae* classées selon leur profil de protéines de surface avec des cellules en culture reproduisant les interactions rencontrées dans le mode de portage au niveau de l'épithélium rhinopharyngé et dans un deuxième temps, durant les infections invasives, au niveau de l'épithélium pulmonaire ou de la barrière hémato-méningée et de déterminer s'il existe des combinaisons « gagnantes ».

- **Identification de facteurs de *S. pneumoniae* impliqués dans le passage de la barrière hémato-méningée (BHM).** Cette étude vise à rechercher des **biomarqueurs génétiques** impliqués dans le franchissement de la BHM en réalisant une analyse comparative des séquences génomiques de souches de *S. pneumoniae* de sérotype 1, ST306 responsables d'infections invasives avec bactériémies sans méningite et de souches responsables de méningites (données épidémiologiques du CNRP).

Retrouvez-nous :

<http://cnr-pneumo.com>

Publications et communications depuis 2010 dans le cadre des missions du CNRP

Publications nationales

1. Chavanet P, Atale A, Mahy S, Neuwirth C, Varon E, Dabernat H, Portier H. Nasopharyngeal carriage, antibiotic susceptibility and serotyping of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in children attending day care centers. *Med Mal Infect.* 2011 Jun;41(6):307-17.
2. Levy C, Varon E, Bingen E, Aujard Y, Boucherat M, Cohen R et le Groupe des pédiatres et microbiologistes de l'Observatoire National des Méningites. Épidémiologie nouvelle des méningites bactériennes sous l'effet des vaccinations. *Arch Pediatr.* 2011 ;18:91-93.
3. Carlet J; le groupe Alliance francophone contre le développement des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (AC-2-BMR). Stop bacterial resistance: save antibiotics. *Med Mal Infect.* 2011 Jul;41(7):351-2.
4. Cohen R, Bingen E, Levy C, Benani M, Thollot F, Klink Z, Schlemmer C, Elbez A, Varon E. Antibiotic resistance of pneumococci and *H. influenzae* isolated from the nasopharyngeal flora of children with acute otitis media between 2006 and 2010. *Arch Pediatr.* 2011 Aug;18(8):926-31.
5. Varon E. Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae*. *Med Mal Infect.* 2012 Aug;42(8):361-5.
6. Carlet J, Rambaud C, Pulcini C; l'Alliance contre développement des bactéries multi-résistantes (ACdeBMR). Alliance against MDRO: safeguarding antibiotics. *Ann Fr Anesth Reanim.* 2012 Sep;31(9):704-8.
7. Cohen R, Levy C, Bingen E, Bechet S, Derkx V, Werner A, Koskas M, Varon E. Nasopharyngeal carriage of children 6 to 60 months during the implementation of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Arch Pediatr.* 2012 Oct;19(10):1132-9.
8. Varon E, Stahl JP, Strady C, Gauzit R, Blanchard PY, Gachot B, Benslama L. Continued professional development: antibiotic prophylaxis. *Rev Stomatol Chir Maxillofac Chir Orale.* 2013 Jun;114(3):125-45.
9. Janoir C et Varon E. Infections à pneumocoque. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale - Maladies infectieuses*, Elsevier Masson SAS ed., Issy-Les-Moulineaux, 2014, à paraître.

Publications internationales

1. Alexandre C, Dubos F, Courouble C, Pruvost I, Varon E, Hospital Network for Evaluating the Management of Common Childhood Diseases, Martinot A. Rebound in the incidence of pneumococcal meningitis in northern France: effect of serotype replacement. *Acta Paediatr.* 2010;99(11):1686-90.
2. Loulergue P, Burgel PR, Carrat F, Fritzell B, Guthmann JP, Loch C, Power UF, Varon E, Dusser D, Launay O. Report of the 2nd "French Clinical Vaccinology Meeting Jean-Gerard Guillet": immunization and respiratory diseases. *Vaccine.* 2010;28(40):6551-5.
3. Matta M, Kernéis S, Day N, Lescat M, Buu Hoi A, Varon E, Gutmann L, Mainardi JL. Do clinicians consider the results of the Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test when adapting antibiotic regimens for pneumonia patients? *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(9):1389-93.
4. Hanquet G, Kissling E, Fenoll A, George R, Lepoutre A, Lernout T, Tarragó D, Varon E, Verhaegen J. Pneumococcal serotypes in children in 4 European countries. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(9):1428-39.

5. Cohen R, Levy C, Bonnet E, Grondin S, Desvignes V, Lecuyer A, Fritzell B, Varon E. Dynamic of pneumococcal nasopharyngeal carriage in children with acute otitis media following PCV7 introduction in France. *Vaccine*. 2010;28(37):6114-21.
6. Opatowski L, Mandel J, Varon E, Boëlle PY, Temime L, Guillemot D. Antibiotic dose impact on resistance selection in the community: a mathematical model of beta-lactams and *Streptococcus pneumoniae* dynamics. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(6):2330-7.
7. Hanquet G, Perrocheau A, Kissling E, Bruhl DL, Tarragó D, Stuart J, Stefanoff P, Heuberger S, Kriz P, Vergison A, de Greeff SC, Amato-Gauci A, Celentano LP; ECDC Country Experts for Pneumococcal Disease. Surveillance of invasive pneumococcal disease in 30 EU countries: Towards a European system? *Vaccine*. 2010;28(23):3920-8.
8. Varon E, Mainardi JL, Gutmann L. *Streptococcus pneumoniae*: still a major pathogen. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(5):401.
9. Doit C, Mariani-Kurkdjian P, Mahjoub-Messai F, Bidet P, Bonacorsi S, Carol A, Varon E, Bingen E. Epidemiology of pediatric community-acquired bloodstream infections in a children hospital in Paris, France, 2001 to 2008. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010;66(3):332-5.
10. Kempf M, Baraduc R, Bonnabau H, Brun M, Chabanon G, Chardon H, Croizé J, Demachy MC, Donnio PY, Dupont P, Fosse T, Gibel L, Gravet A, Grignon B, Hadou T, Hamdad F, Joly-Guillou ML, Koeck JL, Maugein J, Péchinot A, Ploy MC, Raymond J, Ros A, Roussel-Delvallez M, Segonds C, Vergnaud M, Vernet-Garnier V, Lepoutre A, Gutmann L, Varon E, Lanotte P. Epidemiology and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in France in 2007: data from the pneumococcus surveillance network. *Microb Drug Resist*. 2011 Mar;17(1):31-6.
11. Levy C, Varon E, Bingen E, Lécuyer A, Boucherat M, Cohen R; Bacterial Meningitis Study Group. Pneumococcal meningitis in french children before and after the introduction of pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2011 Feb;30(2):168-70
12. Grall N, Hurmic O, Al Nakib M, Longo M, Poyart C, Ploy MC, Varon E, Raymond J; ORP Ile de France Ouest. Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* in France before introduction of the PCV-13 vaccine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011 Dec;30(12):1511-9.
13. Cohen R, Levy C, Bonnet E, Thollot F, Boucherat M, Fritzell B, Derkx V, Bingen E, Varon E. Risk factors for serotype 19A carriage after introduction of 7-valent pneumococcal vaccination. *BMC Infect Dis*. 2011 Apr 18;11:95.
14. Grohs P, Janoir C, Grondin S, Simon S, Bonnet G, Henry L, Gutmann L, Varon E. Accuracy of MIC determination for *Streptococcus pneumoniae* using the Sirscan2000 automatic MIC determination system. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011 Jul;70(3):399-403.
15. Domenech de Cellès M, Opatowski L, Salomon J, Varon E, Carbon C, Boëlle PY, Guillemot D. Intrinsic epidemics of *Streptococcus pneumoniae* depends on strain serotype and antibiotic susceptibility pattern. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Nov;55(11):5255-61.
16. Varon E. Quinolones and Gram positive bacteria. In P. Courvalin, R. Leclercq and L. Rice: *Antibiogramme*, Ed. ESKA, Paris 2012.
17. Couloigner V, Levy C, François M, Bidet P, Hausdorff WP, Pascal T, Boucherat M, Bingen E, Mariani P, Pierrot S, Bille E, Carbonnelle E, Varon E, Cohen R. Pathogens implicated in acute otitis media failures after 7-valent pneumococcal conjugate vaccine implementation in France: distribution, serotypes, and resistance levels. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31(2):154-8.
18. Robert J, Péan Y, Varon E, Bru JP, Bedos JP, Bertrand X, Lepape A, Stahl JP, Gauzit R; Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF); Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA); Surveillance de la prescription des antibiotiques (SPA) Group. Point prevalence survey of antibiotic use in French hospitals in 2009. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Apr;67(4):1020-6.
19. Cohen R, Levy C, Bingen E, Koskas M, Nave I, Varon E. Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal nasopharyngeal carriage in children with acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J*. 2012 Mar;31(3):297-301.
20. Cohen R, Bingen E, Levy C, Thollot F, Boucherat M, Derkx V, Varon E. Nasopharyngeal flora in children with acute otitis media before and after implementation of 7 valent pneumococcal conjugate vaccine in France. *BMC Infect Dis*. 2012 Mar 7;12:52.

21. Grohs P, Trieu-Cuot P, Podglajen I, Grondin S, Firon A, Poyart C, Varon E, Gutmann L. Molecular basis for different levels of tet(M) expression in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Oct;56(10):5040-5.
22. Munier AL, de Lastours V, Varon E, Donay JL, Porcher R, Molina JM. Invasive pneumococcal disease in HIV-infected adults in France from 2000 to : antimicrobial susceptibility and implication of serotypes for vaccination. *Infection*. 2013 Jun;41(3):663-8.
23. Cohen R, Martin E, de La Rocque F, Thollot F, Pecquet S, Werner A, Boucherat M, Varon E, Bingen E, Levy C. Probiotics and prebiotics in preventing episodes of acute otitis media in high-risk children: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Aug;32(8):810-4.
24. Opatowski L, Varon E, Dupont C, Temime L, van der Werf S, Gutmann L, Boëlle PY, Watier L, Guillemot D. Assessing pneumococcal meningitis association with viral respiratory infections and antibiotics: insights from statistical and mathematical models. *Proc Biol Sci*. 2013 Jun 19;280(1764):20130519.
25. Feikin DR, Kagucia EW, Loo JD, Link-Gelles R, Puhan MA, Cherian T, Levine OS, Whitney CG, O'Brien KL, Moore MR, Serotype Replacement Study Group. Serotype-specific changes in invasive pneumococcal disease after pneumococcal conjugate vaccine introduction: a pooled analysis of multiple surveillance sites. *PLoS Med*. 2013;10(9):e1001517.
26. Caeymaex L, Varon E, Levy C, Béchet S, Derckx V, Desvignes V, Doit C, Cohen R. Characteristics and outcomes of acute otitis media in children carrying *Streptococcus pneumoniae* or *Haemophilus influenzae* in their nasopharynx as a single otopathogen after introduction of the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Nov 20. [Epub ahead of print].
27. Angoulvant F, Levy C, Grimprel E, Varon E, Lorrot M, Biscardi S, Minodier P, Dommergues MA, Hees L, Gillet Y, Craiu I, Zenkhri F, Dubos F, Guen CG, Launay E, Martinot A, Cohen R. *Clin Infect Dis*. 2014 Apr;58(7):918-24. doi: 10.1093/cid/ciu006. Epub 2014 Feb 13.
28. Janoir C, Cohen R, Levy C, Bingen E, Lepoutre A, Gutmann L, Varon E; Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP) network. *PLoS One*. 2014 Mar 6;9(3):e90935. doi: 10.1371/journal.pone.0090935. eCollection 2014.

Communications nationales

1. Conseil Scientifique de l'Onerba. Résistance aux antibiotiques en France : résultats 1998-2009 des réseaux fédérés dans l'ONERBA. 11èmes Journée Nationales d'Infectiologie, Montpellier, 2010.
2. Gauzit R, Bedos JP, Bru JP, Lepape A, Péan Y, Robert J, Stahl JP, Varon E, au nom de tous les participants. Surveillance de la prescription des anti-infectieux (Spa) : enquête un jour donné en 2009. 11èmes Journée Nationales d'Infectiologie, Montpellier, 2010.
3. Varon E. Epidémiologie : Un germe et sa prévention : évolution des résistances, de la distribution des sérotypes. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2010. Abstract 6/2SR.
4. Cohen R, Bingen E, Thollot F, Corrad F, Koskas M, Bonnet E, Lecuyer A, Fritzell B, Coudy C, Boucherat M, Levy C, Varon E. Impact du vaccin pneumococcique conjugué sur le portage rhino-pharyngé de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* et *Staphylococcus aureus* chez les enfants présentant une otite moyenne aiguë. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2010. Abstract 227/600.
5. Biscardi S, Levy C, Angoulvant F, Minodier P, Bonnet E, Bingen E, Martin E, Fritzell B, Varon E, Cohen R, Grimprel E. Pneumonies et empyèmes, épidémiologie avant l'introduction du vaccin pneumococcique conjugué 13-valent en France. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2010. Abstract 228/600.
6. Grohs P, Varon E, Podglajen I, Grondin S, Trieu-Cuot P, Poyart C, Gutmann L. Influence du polymorphisme du promoteur du gène tetM sur le niveau d'expression de la résistance à la tétracycline chez *Streptococcus pneumoniae*. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2010. Abstract 241/620.
7. Hurmic O, Grall N, Al Nakib M, Poyart C, Ploy MC, Varon E, Raymond J. Evidence of a clonal expansion of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in adults as in children in Paris area assessed by the Diversilab® system. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2010. Abstract 519/87A.
8. Demachy MC, Faibis F, Varon E et groupe des Microbiologistes de l'ORP Ile-de-France Est. Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* en Ile-de-France Est entre 2001 et 2009. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2010. Abstract 529/87A.

9. Kempf M, Baraduc R, Bonnabeau H, Brun M, Buruoca C, Chardon H, Croizé J, Demachy MC, Dupont P, Fosse T, Gibel L, Grignon B, Hadou T, Hamdad F, Koeck JL, Lanotte P, Péchinot A, Raymond J, Ros A, Roussel-Delvallez M, Segonds C, Soullié B, Tandé D, Vergnaud M, Vernet-Garnier V, Lepoutre A, Gutmann L, Varon E, Ploy MC, Gravet A. Poursuite de la diminution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae*, résultats 2009 des Observatoires Régionaux du Pneumocoque. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2010. Abstract 530/87A.
10. Alfandari S, Robert J, Péan Y, Rabaud C, Bedos JP, Varon E, Gauzit R. Prévalence et bon usage des antibiotiques : enquête SPILF- ONERBA SPA2 dans 314 établissements de santé français. 12^{èmes} Journée Nationales d'Infectiologie, Toulouse, 2011.
11. Varon E. Modifications des valeurs critiques: quel impact sur l'épidémiologie de la résistance? L'exemple du pneumocoque. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse, Paris, 2011. Abstract 95/25SEP
12. Cohen R, Levy C, Bingen E, Koskas M, Nave I, Varon E. 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: strong impact on pneumococcal carriage of additional serotypes included in the new vaccine. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse, Paris, 2011. Abstract 181/46O.
13. Gravet A, Kempf M, Baraduc R, Bonnabeau H, Brun M, Buruoca C, Chardon H, Croizé J, Demachy MC, Dupont P, Fosse T, Grélaud C, Grignon B, Hadou T, Hamdad F, Koeck JL, Lanotte P, Péchinot A, Raymond J, Ros A, Roussel-Delvallez M, Segonds C, Soullié B, Tandé D, Vergnaud M, Vernet-Garnier V, Lepoutre A, Gutmann L, Varon E, Ploy MC. Decrease in antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* between 2003 and 2009 in France and changes in serotype distribution: Ongoing survey of the French Pneumococcus Network. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse, Paris, 2011. Abstract 440/77A.
14. Kempf M, Gravet A, Baraduc R, Brun M, Chardon H, Cremniter J, Croizé J, Dalmay F, Demachy MC, Eb F, Fosse T, Grelot C, Hadou T, Hamdad F, Koeck JL, Lanotte P, Luce S, Mermond S, Patry I, Péchinot A, Raymond J, Ros A, Segonds C, Soullié B, Tandé D, Vergnaud M, Vernet-Garnier V, Wallet F, Lepoutre A, Gutmann L, Varon E, M.C. Ploy MC. Diminution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées d'infections invasives en France entre 2005 et : résultats des Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP). Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse, Paris, 2012. Abstract 604A.
15. Mizrahi A, Lévy C, Varon E, Bonacorsi S, Béchet S, Poyart C, Cohen R, Raymond J. Does biofilm production impact on *Haemophilus influenzae* acute otitis media outcome in children? Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse, Paris, 2013. Abstract 178/42O.

Communications internationales

1. Levy C, Varon E, Bingen E, Lécuyer A, D'Athis P, Aujard Y, Cohen R, Pediatricians and Microbiologists Group of Observatoire National des Méningites Bactériennes de l'Enfant. Features of *S. pneumoniae* serotype 19A meningitis in children before and after introduction of 7 valent pneumococcal conjugate vaccine. The 7th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases, Tel Aviv, 2010. Abstract P01-181.
2. Opatowski L, Mandel J, Varon E, Boelle PY, Temime L, Guillemot D. Antibiotic dose impact on resistance selection in the community: a mathematical model of β -lactams and *Streptococcus pneumoniae* dynamics. The 7th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases, Tel Aviv, 2010. Abstract O18.
3. Levy C, Cohen R, Bonnet E, Lécuyer A, Thollot F, Boucherat M, Fritzell B, Mariani P, Bingen E, Varon E, Pediatricians Group of Sp Carriage Surveillance Study. *Haemophilus influenzae* nasopharyngeal carriage before and after pneumococcal conjugate vaccine implementation. 28th annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Nice, 2010. Abstract 490.
4. Levy C, Varon E, Lécuyer A, Taha MK, Floret D, Dabernat H, Boucherat M, Gendrel D, Aujard Y, Cohen R, Bingen E, Pediatricians and Microbiologists group of observatoire national des méningites bactériennes de l'enfant. Surveillance network of bacterial meningitis in French children: 3376 cases in 8 years. 28th annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Nice, 2010. Abstract 129.
5. François M, Levy C, Varon E, Hausdorff WP, Boucherat M, Bingen E, Couloigner V, Pierrot S, Brunaud A, Levy P, Nemni F, Bille E, Cohen R. Pathogens implicated in acute otitis media failures after pneumococcal conjugate vaccine implementation in France: distribution, serotypes and resistance levels. 28th annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Nice, 2010. Abstract 47.

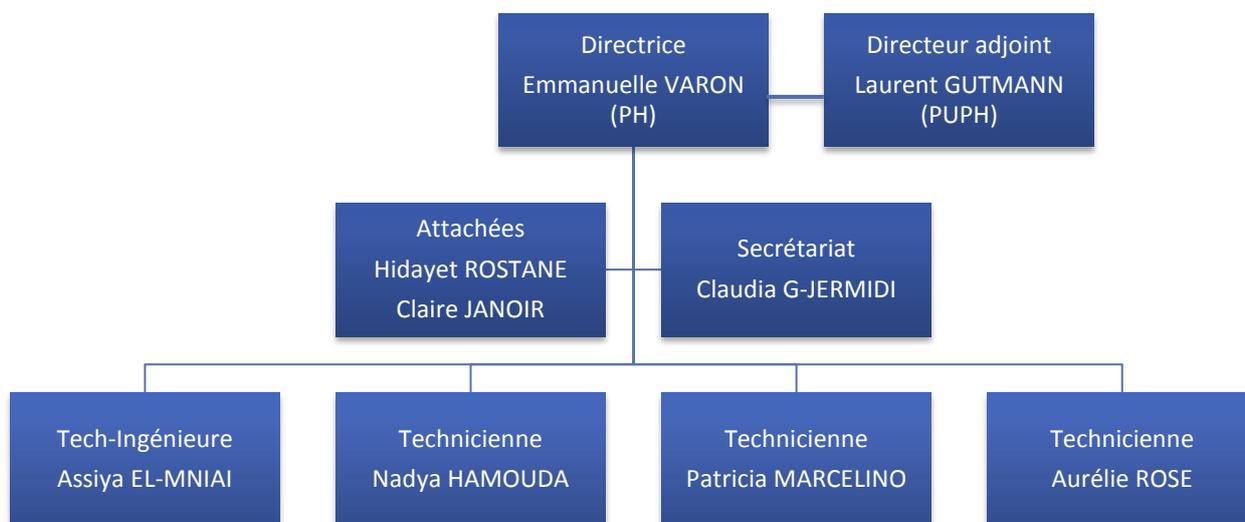
6. Hurmic O, Grall N, Al Nakib M, Poyart C, Ploy MC, Varon E, Raymond J. Evidence of a clonal expansion of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in adults as in children in Paris area assessed by the Diversilab® system. 50th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, Boston, 2010. Abstract C2-727.
7. Levy C, Bonnet E, Angoulvant F, Bingen E, Coudy C, Lécuyer A, Fritzell B, Grimprel E, Moulin F, Dommergues MA, Martin E, Varon E, Cohen R, Pneumonia Study Group. Epidemiological pediatric study on pneumonia and empyema before 13-valent pneumococcal conjugate vaccine implementation in France. 50th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, Boston, 2010. Abstract G1-502.
8. Cohen R, Levy C, Bonnet E, Lécuyer A, Fritzell B, Thollot F, Martin E, Coudy C, Boucherat M, Bingen E, Varon E. *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis* and *Staphylococcus aureus* nasopharyngeal carriage in children before and after pneumococcal conjugate vaccine implementation. 50th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, Boston, 2010. Abstract G1-503.
9. Robert J, Pean Y, Bedos JP, Varon E, Stahl JP, Lepape A, Bru JP, Bertrand X, Gauzit R, and the SPILF. Survey of antibiotic prescriptions (spa) in a network of French hospitals in 2009. 50th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, Boston, 2010. Abstract K-940.
10. Janoir C, Lepoutre L, Grondin S, Simon S, Gutmann L, Varon E and The French Regional Observatories of Pneumococcus (ORP) network. 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Milan, 2011.
11. Chaussade H, Varon E, Vibet MA, Watier L, Guillemot D. Paradoxical trends in pneumococcal meningitis following a decrease in antibiotic use and the introduction of pneumococcal vaccination, in France. 51th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, Chicago, 2011. Abstract L1-1924b.
12. Cohen R, Levy C, Bingen E, Bonnet E, Koskas M, Attal S, Nave I, Fritzell B, Varon E; ACTIV, AFPA. Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal flora in children with acute otitis media. 51th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, Chicago, 2011.
13. Sunder S, Gutmann L, Bernard L, Varon E. Dynamics of Serotypes 1, 7F and 19A in invasive pneumococcal disease between 1984 and 2009 in France. 51th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, Chicago, 2011.
14. Cohen R, Levy C, Bingen E, Elkhoury N, Romain O, Varon E. 10 years of pneumococcal carriage surveillance in children: trends before and after 7 then 13-valent pneumococcal conjugate vaccines. The 8th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases, Iguazu, 2012. Abstract 54.
15. Feikin D, Moore M, Serotype Replacement Study Team. A multi-site analysis of serotype-specific changes in invasive pneumococcal disease after conjugate vaccine introduction among children < 5 years old. The 8th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases, Iguazu, 2012. Abstract 9.
16. Levy C, Varon E, Bingen E, Béchet S, Cohen R and the « Groupe des pédiatres et microbiologistes de l'Observatoire National des Méningites. Effect of 7-valent and 13-valent pneumococcal conjugate vaccines on pneumococcal meningitis in French children under 2 years. 52nd Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, San Francisco, 2012. Abstract G-864.
17. Janoir C, Réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque, Gutmann L, Lepoutre A, Varon E. Changes in epidemiology of invasive strains of *Streptococcus pneumoniae* (Spn) in France following Introduction of 13-valent conjugate vaccine 7 years after PCV7. 52nd Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, San Francisco, 2012. Abstract C2-1359.
18. Bedos JP, Mira JP, Varon E et le "Streptogene Study Group". Pneumonies à pneumocoques, étude prospective multicentrique. 41^{ème} Congrès International de la Société de Réanimation, Paris, 2013.
19. Varon E, Bedos JP, Mira JP et le "Streptogene Study Group". Caractéristiques des pneumocoques isolés au cours des pneumonies graves hospitalisées en réanimation. 41^{ème} Congrès International de la Société de Réanimation, Paris, 2013.
20. Mira JP, Varon E, Bedos JP, et le "Streptogene Study Group". Polymorphismes de TNFA et PAI-1 et mortalité des pneumonies à pneumocoques : étude Streptogene. 41^{ème} Congrès International de la Société de Réanimation, Paris, 2013.
21. Kempf M, Lanotte P, Varon E, Lepoutre A, Ploy MC, on behalf of the French Regional Pneumococcal Observatories (ORP) Network. Resistance decrease and serotype modifications of Pneumococci isolated during acute otitis media in children; 2001- survey of the French Network. 31st annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Milan, 2013. Abstract A-534-2-924.

Conférences sur invitation

1. Varon E. Actualité sur le pneumocoque. Colloque de Microbiologie, Paris, 2010.
2. Varon E., Ovetchkine P. How to manage resistant Gram positive infections in children. 28th annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Nice, 2010.
3. Varon E. Le pneumocoque en 2010 : de la génomique à la Clinique - Evolution de l'épidémiologie. 11èmes Journée Nationales d'Infectiologie, Montpellier, 2010.
4. Varon E. Impact on vaccination of antibiotic use. 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Boston, 2010.
5. Varon E., Riché A. Analyse interprétative de l'antibiogramme. 6^{ème} Journée des Référents en Antibiothérapie, Toulouse, 2011.
6. Varon E. Intérêt pratique des nouveaux outils de diagnostic bactérien. Congrès National d'Anesthésie et de Réanimation SFAR, Paris, 2011.
7. Varon E. Diagnostics microbiologiques "très rapides" 40^{ème} Congrès International de la Société de Réanimation, Paris, 2012.
8. Varon E. « Le pneumocoque et sa prévention : Données du Centre National de Référence des Pneumocoques. » 16^{ème} Congrès de Pneumologie de langue française, Lyon, 2012.
9. Varon E. « Ecologie bactérienne générale et buccale en particulier, problématique de la résistance aux antibiotiques. » 48^{ème} Congrès de la Société française de Stomatologie et Chirurgie maxillo-faciale, Versailles, 2012.
10. Varon E. Evolution de la résistance aux antibiotiques des pneumocoques 9^{ème} Congrès national de la Société Française de Microbiologie Lille, 2013.
11. Varon E. Les nouveaux outils de diagnostic en bactériologie. 8^{ème} Journée des Référents en Antibiothérapie : Clermont-Ferrand, 2013.
12. Varon E. Impact des vaccins sur l'épidémiologie des infections à pneumocoques : Prévenar[®]7, Synflorix[®]10, Prevenar[®]13, et après? Journée des CNR : Paris, 2013.

Annexe A

Organigramme du CNRP en 2013



Le CNRP fonctionne avec le personnel temporaire suivant : trois techniciennes, une secrétaire et deux vacataires (3 vacations hebdomadaires chacune) dont le salaire est payé grâce à la subvention de l'Institut de Veille Sanitaire. Le salaire d'une quatrième technicienne est payé par l'association ACTIV.

Annexe B

Locaux et équipements

Le CNRP est intégré dans la structure du laboratoire de Microbiologie de l'HEGP (Pr. Laurent GUTMANN), et collabore avec l'Association Clinique et Thérapeutique Infantile du Val de Marne (Dr Robert COHEN et Dr Corinne LEVY).

Ces équipes disposent des locaux, équipement, moyens et personnel suivants :

- Laboratoire de Microbiologie de l'HEGP
 - 800 m2 (Bactériologie, Virologie, Myco-parasitologie, Biologie moléculaire)
 - Équipement microbiologique avec spectromètre de masse et biologie moléculaire, champ pulsé, séquenceurs à disposition (96 capillaires)
 - Techniciens de laboratoire : 28,7 ETP
 - Secrétaire médicale : 1 ETP
 - Médecins : 6,7 ETP pour la Bactériologie dont 2 PU-PH, 2 MCU-PH, 1 PH, 1 AHU, 1 attaché (7 vacations)
- Association Clinique et Thérapeutique Infantile du Val de Marne (ACTIV), est une association régie par la loi du 1/7/1901 dont le but est de promouvoir les études cliniques et épidémiologiques, la recherche diagnostique et thérapeutique en pathologie pédiatrique. Thèmes de recherche : Observatoires épidémiologiques, évaluation des habitudes de prescription, validation de nouvelles méthodes diagnostiques ou thérapeutiques, vaccinologie.
 - 200 m2, 27 rue Inkermann à Saint Maur (94)
 - Équipement : secrétariat, bureautique, informatique.

Infrastructure informatique du CNRP

Le CNRP dispose du système informatique de l'hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris.

Pour la biologie, il s'agit d'un système d'information bidirectionnel entre le plateau de biologie de l'HEGP et les services cliniques (prescription connectée). La sauvegarde des données est quotidienne (7 check points) avec une veille instantanée.

Les données stockées dans les fichiers utilisateurs, comme celles du CNRP, sont quant à elles sauvegardées sur une bande magnétique avec une latence de 2 mois.

Pour ce qui concerne le réseau interne de l'HEGP, l'équipement réseau a une fibre optique reliée par un double attachement à chacun des deux passeports, assurant une fonctionnalité du réseau en cas de dysfonctionnement de l'un des deux.

Pour ce qui concerne la sécurité intrusion, le réseau de l'HEGP, comme celui de chaque hôpital de l'AP-HP, est relié au niveau central de l'AP et éventuellement à d'autres hôpitaux de l'AP, avec un système de filtrage non standard qui est géré par l'équipe centrale Réseau et Sécurité de l'AP.

Le CNRP dispose de trois PC reliés au réseau et de trois imprimantes reliées au réseau.

Chaque personnel du CNRP possède un identifiant et d'une session protégée par mot de passe changé tous les 6 mois.

Le CNRP dispose pour le stockage de ses données, d'un espace informatique dédié. L'accès à la base de données et à l'ensemble des fichiers du CNRP est protégé et restreint au seul personnel du CNRP. Les accès sont gérés par un des administrateurs du réseau, au service informatique de l'HEGP. L'ensemble des données est sauvegardé sur bande (latence de 2 mois).

Le CNRP bénéficie de la maintenance de ses ordinateurs et de celle de son espace dédié par l'équipe informatique de l'HEGP. Cette équipe, performante et disponible, assure si nécessaire, la mise en place de connections, voire l'écriture de scripts, pour permettre le transfert ou l'échange de données.

Annexe C

Protocole d'étude du CNRP

Sérotypage

Un ensemble de sérums et de « factor sérums », fournis par le Statens Serum Institut de Copenhague, permet de déterminer les 91 sérotypes ou sérogroupe connus, y compris le sérotype 6C. Chaque souche est testée successivement avec les différents antisérums :

- Sérums poolés " A " à " I " et " P " à " T " : chacun des 14 pools d'antisérum se compose d'un mélange de 7 à 11 anticorps. L'ensemble des 14 pools couvre les 91 sérogroupe et sérotypes connus.
- Factor sérums (n = 65) : permettant de déterminer le sérotype dans un sérogroupe donné.
- Groupe sérums (n = 21) ou type sérums (n = 25) permettant de déterminer sérogroupe ou le sérotype dans un sérogroupe donné.
- " Omni-sérum " : antisérum contenant un mélange d'anticorps de lapins dirigés contre tous les antigènes capsulaires pneumococciques connus.

Les souches ne réagissant ni avec le sérum " Omni-sérum ", ni avec aucun des 14 pools d'antisérums sont déclarées " non typables ".

Étude de la sensibilité aux antibiotiques

- Antibiogramme : optochine, oxacilline (5µg), chloramphénicol, tétracycline, érythromycine, lincomycine, pristinamycine, télithromycine, cotrimoxazole, vancomycine, rifampicine, fosfomycine, kanamycine, gentamicine, péfloxacin, norfloxacin, lévofloxacin, moxifloxacin.
- Détermination des concentrations moyennes inhibitrices (CMI) par la méthode de dilution en gélose, selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie : Pénicilline G, amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone ; péfloxacin, norfloxacin, ciprofloxacine, lévofloxacin, moxifloxacin (souches pour lesquelles la zone d'inhibition autour du disque de norfloxacin est inférieure à 7 mm).

Annexe D

Protocole de détection des mécanismes de résistance aux fluoroquinolones chez *S. pneumoniae* par la méthode de l'antibiogramme

Ce protocole repose sur l'utilisation de la péfloxacin pour la détection des mutants de la topoisomérase IV (ParC ou ParE), de la ciprofloxacine et de la norfloxacine pour la détection de l'efflux (Efflux), et de la sparfloxacine pour la détection des mutants de la gyrase (GyrA).

Antibiogramme par diffusion en gélose

- A partir d'une culture fraîche (18 heures), préparer un inoculum de densité équivalente à 0,5 Mc Farland en eau physiologique stérile (15 à 20 colonies, selon la taille).
- Ensemencer une boîte ronde de MH + 5% de sang de cheval (ou de mouton) à l'écouvillon (ou par inondation : dans ce cas, diluer l'inoculum au 1/10 ; 15 à 20 minutes de séchage sont nécessaires).

NB. Compte tenu des variations des diamètres d'inhibition observées pour les souches cliniques (cf. tableau II), il est important de veiller à utiliser un inoculum standardisé.

- Incuber 18 heures à 37°C sous 5% de CO₂

Antibiotiques à tester

Déposer sur MHS un disque de :

- Norfloxacine (NOR 5µg) : détection des mutants de ParC ou ParE ou des mutants d'efflux
- Péfloxacin (PEF 5µg) : détection des mutants de ParC ou ParE
- Ciprofloxacine (CIP 5µg) et sparfloxacine (SPX 5µg) : détection des mutants de GyrA
- Lévofloxacine (LVX 5µg) : détection des doubles mutants ParC+GyrA

Souches de référence (fournies par le CNRP)

A utiliser comme contrôles de qualité internes (CQI) (Cf. caractéristiques Tableau I).

Tableau I - Caractéristiques des souches de référence (CQI)
(Transformants de R6, Varon *et al.*, AAC, 1999 ;43 ;302-306)

Souche	Mutation(s)		CMI mg/L (diamètre mm)			
	ParC ^a	GyrA ^b	PEF	CIP	SPX	NOR
R6-WT	-	-	8 (16)	1 (25)	0,25 (26)	4 (18)
Ref ParC	Ser79Tyr	-	64 (6)	4 (19)	0,5 (24)	64 (6)
Ref GyrA	-	Ser81Phe	8 (16)	2 (21)	1 (18)	4 (17)
Ref ParC+GyrA	Ser79Tyr	Glu85Lys	128 (6)	32 (6)	32 (6)	64 (6)
Ref Efflux	-	-	8 (16)	8 (16)	0.25 (26)	16 (9)

^a Position d'après Pan *et al.* J. Bacteriol., 1996 ; 178 : 4060-4069

^b Position d'après Balas *et al.* J. Bacteriol., 1998 ; 180 : 2854-2861

Interprétation du phénotype observé (Cf. tableau II).

Tableau II - Phénotypes de résistance aux fluoroquinolones (FQ) chez *S. pneumoniae*.

Mécanisme de résistance	Valeurs interprétatives* ¹			
	NOR	LVX	PEF	SPX /CIP [°]
	R <7 mm	R* <17 mm	R <8 mm	- [°]
ParC (ou ParE)	R	S	R	SPX>CIP
Efflux	R	S	S	SPX>CIP
GyrA	S	S	S	SPX<CIP
ParC (ou ParE) + GyrA	R	I or R	R	- ^{°°}

¹Varon *et al.* Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(2):572-9

*L'antibiogramme minimum et les mécanismes de résistances qu'il permet de détecter sont indiqués en caractères de couleur.

[°] La comparaison des diamètres permet d'orienter vers le phénotype GyrA lorsque le diamètre de la sparfloxacin est inférieur à celui de la ciprofloxacine

^{°°} Sans intérêt pour ce phénotype.

Annexe E

Fiche de recueil 2013 du CNRP



CNRP

Fiche clinique et bactériologique 2013

Streptococcus pneumoniae

Cadre réservé au CNRP (ne pas remplir)

Réceptionné par :
Sérotype :

Réf Souche :
Date de réception : __/__/____
Date de réponse : __/__/____

Souche envoyée dans le cadre d'un protocole : non oui

Si oui, lequel : Observatoires Régionaux du Pneumocoque
 Observatoire Méningites Pédiatriques
 Observatoire Méningites Adultes (COMBAT)
 Observatoire Infections Invasives Pédiatriques
Autre (précisez) :

A partir d'une culture riche de moins de 18h, ensemercer une gélose Columbia au sang, sans l'incuber. Expédier sous emballage conforme avec la législation.

Laboratoire expéditeur (Adresse complète pour l'envoi des résultats)

Date de l'envoi : __/__/____ Responsable de l'envoi :

Adresse :

Code postal : _____ Ville :

Patient

Nom (Initiales) : ____
Prénom (Initiales) : ____
Sexe : M F

Date de naissance (jj/mm/aaaa) : __/__/____

DIAGNOSTIC

Méningite
 Pneumonie
 Pleuro-Pneumonie
 Arthrite
 Otite moyenne aiguë
 Sinusite
 Syndrome Hémolytique et Urémique
 Autre (préciser).....

SERVICE :
 Hospitalisation Consultation

TERRAIN

HIV Drépanocytose
 Splénectomie

VACCINATION : oui non ?
 Conjugué 7-valent (PCV7) ou 13-valent (PCV13)
Date et vaccin utilisé :
- 1^{ère} dose : __/__/____ PCV7 PCV13
- 2^{ème} dose : __/__/____ PCV7 PCV13
- 3^{ème} dose : __/__/____ PCV7 PCV13
- Rappel : __/__/____ PCV7 PCV13
 Polysaccharidique 23 valences
 CAS GROUPÉS

Prélèvement

VOTRE RÉFÉRENCE (indispensable) :

SITE(S) D'ISOLEMENT

LCR
 Hémoculture
 Liquide pleural
 Prélèvement distal protégé, brosse
 Asp. bronchique
 Expectoration
 Oreille moyenne
 Sinus
 Conjonctive
 Rhino-pharynx (sur écouvillon)
 Autre (préciser) :

DATE DU PRÉLÈVEMENT : __/__/____

CMI de pénicilline = µg/ml
CMI d'amoxicilline = µg/ml
CMI de céfotaxime = µg/ml
CMI de ceftriaxone = µg/ml

Cette souche présente-t-elle une particularité ?
 non
 difficulté d'identification
 sensibilité aux antibiotiques
(précisez).....

Dans tous les cas joindre une copie de l'antibiogramme, SVP



Centre National de Référence des Pneumocoques
Lab. de Microbiologie, Hôpital Européen Georges-Pompidou, 20 rue Leblanc, 75908 Paris Cedex 15
Tél : 01 56 09 39 67 Fax : 01 56 09 24 46

Annexe F

Données transmises en 2012 par les microbiologistes participant aux Observatoires Régionaux du Pneumocoque

N° de souche ORP:

IDENTIFIANT

Nom de l'hôpital ou du laboratoire :

N° de dossier du centre d'origine :

Date de naissance : .. / .. / ..

Sexe : M F

Hospitalisation :

Consultation :

Date du prélèvement : .. / .. / ..

SITE(S) D'ISOLEMENT

LCR

Hémoculture

Pus d'oreille

Prélèvement respiratoire

Liquide pleural

Antigénurie pneumocoque positive/négative/ ?

Données cliniques :

➤ Pneumonie oui/non/ ?

➤ Méningite oui/non/ ?

➤ OMA oui/non/ ?

Données microbiologiques :

Méthode et résultats des CMI de bêta-lactamines réalisées en routine :

➤ Pénicilline

➤ Amoxicilline

➤ Céfotaxime

Sensibilité aux autres antibiotiques (antibiogramme) :

➤ Oxacilline 5 µg (Diamètre)

➤ Érythromycine (Sensible, Intermédiaire, Résistant)

➤ Cotrimoxazole (SIR)

➤ Pristinamycine (SIR)

➤ Rifampicine (SIR)

➤ Norfloxacin (S/R)

Table des illustrations

Figures

Figure 1 - <i>S. pneumoniae</i> de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) en France d'après les données du CNRP..	6
Figure 2 - Évolution de la résistance (I+R) aux bêta-lactamines et à l'érythromycine dans les infections invasives de l'enfant de 2001 à 2012.	7
Figure 3 - Évolution de la résistance (I+R) aux bêta-lactamines et à l'érythromycine dans les infections invasives de l'adulte de 2001 à 2012.	7
Figure 4 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque de sérotype vaccinal PCV7 (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F et 23F), 6+PCV13 (1, 3, 5, 6A, 7F et 19A,) ou non vaccinal (non PCV13) selon le groupe d'âge.	8
Figure 5 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez l'enfant âgé de 0 à 23 mois entre 2001-2002 et 2012.	9
Figure 6 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez l'enfant âgé de 24-59 mois entre 2001-2002 et 2012.	9
Figure 7 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez l'enfant âgé de 5 à 15 ans entre 2001-2002 et 2012.	9
Figure 8 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez les adultes âgés de 16 à 64 ans entre 2001-2002 et 2012.	10
Figure 9 - Évolution de l'incidence des infections invasives à pneumocoque selon le sérotype chez les adultes âgés de plus de 64 ans entre 2001-2002 et 2012.	10
Figure 10 – Réseau de surveillance des pneumocoques : modalités de recueil centralisé des données sur les infections pneumococciques en France	17
Figure 11 – Réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque : couverture par région en France métropolitaine en 2012.	18
Figure 12 – Distribution comparée des sérotypes des souches invasives (Hémoculture, LCR) de <i>S. pneumoniae</i> quel que soit l'âge en 2001-2002 (n=2631), 2005 (n=1237), 2007 (n=1488), 2009 (n=1658), en 2011 (n=1474) et en 2012 (n=957).	22
Figure 13 – Distribution comparée des sérotypes des souches invasives (Hémoculture, LCR) de <i>S. pneumoniae</i> de l'enfant (≤ 15 ans) en 2001-2002 (n=715), 2005 (n=482), 2007 (n=489), 2009 (n=593), en 2011 (n=437) et en 2012 (n=253).	23
Figure 14 – Distribution comparée des sérotypes des souches invasives (Hémoculture, LCR) de <i>S. pneumoniae</i> de l'adulte en 2001-2002 (n=1916), 2005 (n=755), 2007 (n=999), 2009 (n=1064), en 2011 (n=1035) et en 2012 (n=704).	23
Figure 15- Distribution des sérotypes de 957 souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées d'hémoculture ou de LCR en 2012, quel que soit l'âge.	23
Figure 16 – Distribution des sérotypes de 253 souches isolées d'hémoculture ou de LCR en 2012 chez l'enfant (≤ 15 ans).	24
Figure 17 - Distribution des sérotypes des 704 souches isolées d'hémoculture ou de LCR en 2012 chez l'adulte (> 15 ans).	24
Figure 18 - Évolution de 2003 à 2012 de la distribution des sérotypes 6B, 6A et 6C parmi les souches invasives selon le groupe d'âge.	25

Figure 19 – Évolution de la couverture sérotypique du vaccin conjugué 13-valent (PCV13) dans les bactériémies entre 2001 et 2012 en fonction du groupe d'âge.	26
Figure 20 – Évolution de la couverture sérotypique du vaccin conjugué 13-valent (PCV13) dans les méningites entre 2001 et 2012 en fonction du groupe d'âge.	26
Figure 21 - Distribution des sérotypes des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées du rhino-pharynx au cours d'OMA chez des enfants âgés de 6 à 24 mois en 2002-2003 (n=410) en 2006-2007 (n=600), en -2012 (n=605) et en 2012-2013 (n=581), quel que soit leur statut vaccinal.	27
Figure 22 - Distribution des souches invasives de pneumocoques isolées en 2012 en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime (n=957).	29
Figure 23 – Fréquence des principaux marqueurs de résistance (% I+R) chez l'enfant en fonction du site d'isolement (n=253), selon le CA-SFM 2012.	34
Figure 24 - Fréquence des principaux marqueurs de résistance (% I+R) chez l'adulte en fonction du site d'isolement (n=704), selon le CA-SFM 2012.	34
Figure 25 - Evolution des principaux marqueurs de résistance (% I+R) chez l'enfant (CA-SFM 2012).	35
Figure 26 - Evolution des principaux marqueurs de résistance (% I+R) chez l'adulte (CA-SFM 2012).	35
Figure 27 - Sensibilité à la pénicilline des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> (n=957) isolés en 2012.	38
Figure 28 – Évolution de la sensibilité à la pénicilline des souches invasives de <i>S. pneumoniae</i> de sérotype 19A entre 2001 et 2012.	39
Figure 29 - Sensibilité à l'érythromycine des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> (n=957) isolés en 2012.	39
Figure 30 – Évolution du nombre de souches de méningites étudiées par groupe d'âge entre 2001 et 2012.	42
Figure 31 – Répartition régionale des méningites à pneumocoque signalées au CNRP en 2012 (n=324).	43
Figure 32 - Fréquence mensuelle des méningites à pneumocoque en France de 2001 à 2012.	43
Figure 33 – Fréquence des méningites à pneumocoque en 2012 (n=324) en fonction de l'âge.	44
Figure 34 – Fréquence des méningites à pneumocoque en fonction de l'âge chez les enfants de moins de 2 ans (n=62). .	44
Figure 35 – Distribution comparée des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> isolés de méningites chez l'enfant de moins de 2 ans en 2001-2002 (n=155), 2005 (n=78), 2007 (n=74), 2009 (n=100), en 2011 (n=70) et en 2012 (n=62).	45
Figure 36 - Fréquence des sérotypes des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites chez l'enfant de 24 à 59 mois entre 2001 et 2012.	45
Figure 37 - Fréquence des sérotypes des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites chez l'enfant de 5 à 15 ans entre 2001 et 2012.	45
Figure 38 – Fréquence des sérotypes des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites chez l'adulte de 16 à 64 ans en 2001-2002 (n=276), 2005 (n=195), 2007 (n=189), 2009 (n=216), en 2011 (n=221)et en 2012 (n=138).	46
Figure 39 – Distribution comparée des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> isolés de méningites chez l'adulte > 64 ans en 2001-2002 (n=151), 2005 (n=101), 2007 (n=119), 2009 (n=116), en 2011 (n=93) et en 2012 (n=98).	46
Figure 40 – Distribution des souches isolées de méningites (n=324) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.	47

Figure 41 - Comparaison de la sensibilité à l'amoxicilline et au céfotaxime des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites (n=324).....	48
Figure 42 – Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de méningite chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=88).....	49
Figure 43 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de méningite chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=88).....	49
Figure 44 - Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de méningites chez l'adulte (> 15 ans) (n=236).....	50
Figure 45 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de méningites chez l'adulte (> 15 ans) (n=236).....	50
Figure 46 – Fréquence comparée des bactériémies et des méningites à pneumocoque par classe d'âge chez l'enfant. ...	51
Figure 47 – Distribution comparée des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> isolés de bactériémies chez l'enfant de moins de 2 ans en 2001-2002 (n=247), 2005 (n=143), 2007 (n=158), 2009 (n=177), 2011 (n=104) et en 2012 (n=73).....	52
Figure 48- Fréquence des sérotypes des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de bactériémies chez l'enfant de 24 à 59 mois entre 2001 et 2012.....	52
Figure 49 – Fréquence des sérotypes des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de bactériémies chez l'enfant de 5 à 15 ans entre 2001 et 2012.....	52
Figure 50 - Distribution comparée des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> isolés de bactériémies chez l'adulte âgé de 16 à 64 ans en 2001-2002 (n=646), 2005 (n=200), 2007 (n=287), 2009 (n=347), 2011 (n=324) et en 2012 (n=221).....	53
Figure 51 - Distribution comparée des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> isolés de bactériémies chez l'adulte âgé de plus de 64 ans en 2001-2002 (n=841), 2005 (n=259), 2007 (n=404), 2009 (n=385), 2011 (n=397) et en 2012 (n=247).....	53
Figure 52 - Distribution des souches isolées de bactériémies en 2012 (n=633) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.....	54
Figure 53 – Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de bactériémies chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=165).	54
Figure 54 - Sensibilité à l'amoxicilline des sérotypes isolés de bactériémies chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=165).	55
Figure 55 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de bactériémies chez l'enfant (≤ 15 ans) (n=165).	55
Figure 56 - Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de bactériémies chez l'adulte (> 15 ans) (n=468).....	56
Figure 57 - Sensibilité à l'amoxicilline des sérotypes isolés de bactériémies chez l'adulte (> 15 ans) (n=468).....	56
Figure 58 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de bactériémies chez l'adulte (> 15 ans) (n=468).....	57
Figure 59 - Distribution des cas de pleuro-pneumopathies en fonction des groupes d'âges (n=36).	58
Figure 60 – Distribution régionale des cas de pleuro-pneumopathies (n=36).	58
Figure 61 – Distribution des sérotypes des souches isolées de liquides pleuraux par groupe d'âge.	59
Figure 62 - Distribution des souches isolées de liquides pleuraux (n=36) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.....	60
Figure 63 – Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de liquides pleuraux, tous âges confondus (n=36).	60
Figure 64 - Sérotypes des souches isolées en Nouvelle-Calédonie en fonction du site d'isolement.	63
Figure 65 - Distribution des souches en Nouvelle-Calédonie en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.	63

Figure 66 – Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés en Nouvelle-Calédonie (n=26).	64
Figure 67 - Sensibilité aux macrolides des sérotypes isolés en Nouvelle-Calédonie (n=26).....	64
Figure 68 - Souches invasives (méningites et bactériémies) de <i>S. pneumoniae</i> de sensibilité diminuée à la pénicilline en Europe (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network, Annual report 2012, http://www.ecdc.europa.eu).	65

Tableaux

Tableau 1 – Résumé de la surveillance de la résistance aux antibiotiques de <i>S. pneumoniae</i> en 2012.....	7
Tableau 2 – Principaux sérotypes (fréquence $\geq 2\%$) isolés dans les infections invasives de l'enfant et de l'adulte en 2012.11	
Tableau 3 – Fréquence des sérotypes des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline en 2012.....	11
Tableau 4 – Évolution de la couverture sérotypique (%) des vaccins conjugués 7-valent (PCV7) et 13-valent (PCV13), et du vaccin polysidique 23-valent (PPV23) en fonction de l'âge dans les infections invasives (méningites et bactériémies) entre 2001 et 2012.....	12
Tableau 5 – Activité du CNR des Pneumocoques en 2013.....	16
Tableau 6 – Couverture du réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque de 2003 à 2011.	18
Tableau 7 – Réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP) en 2012.	19
Tableau 8 - Origine des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées en 2012 effectivement adressées et étudiées au CNRP (dont le nombre de souches subculture négative indiqué entre parenthèses).	20
Tableau 9 – Correspondants ne participant pas aux ORP, et ayant adressé au moins une souche invasive de <i>S. pneumoniae</i> isolée de méningite dans le cadre de l'étude épidémiologique en 2012.	21
Tableau 10 - Nombre de souches invasives de <i>S. pneumoniae</i> du sérotype 6 selon le groupe d'âge.	25
Tableau 11 – Couverture sérotypique des vaccins conjugués heptavalent (PCV7) et 13-valent (PCV13), et du vaccin 23-valent (PPV23) pour les souches « invasives » (méningites et bactériémies) chez l'enfant et l'adulte, en 2012.	27
Tableau 12 – Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées en 2012.	28
Tableau 13 – Description des souches les plus résistantes aux bêta-lactamines (n=11).	29
Tableau 14 - Description des souches isolées de méningites pour lesquelles la CMI de céfotaxime ou de ceftriaxone est plus élevée que celle de la pénicilline ou de l'amoxicilline (n=17).	30
Tableau 15 - Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées chez l'enfant en 2012.....	31
Tableau 16 - Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées chez l'adulte en 2012.	32
Tableau 17 – Sensibilité aux bêta-lactamines des souches de pneumocoques isolées de méningites et de bactériémies chez l'enfant (≤ 15 ans) et chez l'adulte, selon le CA-SFM 2012.....	33
Tableau 18 – Sensibilité aux bêta-lactamines des souches invasives chez l'enfant, par groupe d'âge et type d'infection. 33	
Tableau 19 - Multi-résistance et principaux phénotypes de résistance à 6 marqueurs (930 souches étudiées).	36
Tableau 20 – Caractéristiques des souches ayant un mécanisme de résistance aux fluoroquinolones en 2012.	37
Tableau 21 – Complexes clonaux (CC) et « sequence-types » (ST) des principaux sérotypes invasifs.	40

Tableau 22 – Évolution de la sensibilité aux bêta-lactamines des souches de *S. pneumoniae* responsables de méningites entre 2001 et 2012..... 47

Tableau 23 – Évolution de la sensibilité à la pénicilline (Pen) et de la couverture sérotypique des vaccins conjugués heptavalent (PCV7) et 13-valent (PCV13) pour les souches invasives (LCR et Hémoculture) entre 2001 et 2012 selon la zone géographique. 61