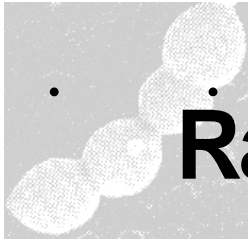


•  
• Laboratoire de Microbiologie  
• Hôpital Européen Georges Pompidou  
• 20-40 rue Leblanc  
• 75 908 Paris Cedex 15  
• 01 56 09 39 67

# Centre National de Référence des Pneumocoques



CNRP

## Rapport d'activité 2002

Epidémiologie 2001

Emmanuelle VARON  
Laurent GUTMANN

# Remerciements

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

*Les Observatoires Régionaux du Pneumocoque, et particulièrement :*

- ✓ *Les coordinateurs régionaux :* Michel BRUN, Blandine CATTIER, Catherine CHANAL, Hubert CHARDON, Monique CHOMARAT, Jane COTTIN, Jacques CROIZE, Marie-Claude DEMACHY, Philippe DUPONT, Thierry FOSSE, Bernadette GRIGNON, Geneviève LAURANS, Jeanne MAUGEIN, Valérie MURBACH, André PECHINOT, Marie-Cécile PLOY, Françoise PRERE, Micheline ROUSSEL-DELVALLEZ, Pierre-Henri THOREUX, Jacques VAUCEL, Michel VERGNAUD, Véronique VERNET-GARNIER et Michèle WEBER.
- ✓ *L'Institut Beecham :* Nathalie DHOYEN et Bernadette POIRIER.
- ✓ *Les laboratoires Glaxo-SmithKline :* Denis VALLEE et Ammar ZERRAR.

*Les correspondants qui nous ont adressé des souches de méningites :*

Martine BINGEN, Geneviève BLANCHARD, Armelle BOISIVON, Jacqueline JOUBERT, Béatrice PANGON, Yves PEAN, Geneviève RAST et F. RICHARDIN.

*L'Institut de Veille Sanitaire et particulièrement :*

Hélène AUBRY-DAMON, Bruno COIGNARD, Jean-Claude DESENCLOS et Daniel LEVY-BRUHL.

*ACTIV et particulièrement :*

Michel BOUCHERAT, Robert COHEN, France de La ROCQUE, Corinne LEVY, Emmanuel TAIEB et Sadia TORTORELLI.

*Les laboratoires bioMérieux (Recherche et Développement) :*

Marc LEPORTIER et Joëlle MORGAND.

Didier GUILLEMOT (Institut Pasteur).

*L'hôpital Européen Georges Pompidou :*

- ✓ Annie BUU-HOI, Serge HOUSSAYE et Vincent PARGADE (Laboratoire de Microbiologie).
- ✓ Sophie GRONDIN, Valérie LE MAUFF, Erika MARIE-JOSEPH, Estelle MARCHAL, Christine SOULIER (CNRP).

# Sommaire

<b>Charte .....</b>	<b>6</b>
<b>Activités .....</b>	<b>8</b>
<i>Analyses et expertises effectuées dans le cadre des missions du Centre National de Référence des Pneumocoques en 2001 .....</i>	<i>8</i>
<b>Expertise biologique .....</b>	<b>8</b>
<i>Confirmation de l'identification, sérotypage.....</i>	<i>8</i>
<i>Maintien, détention et diffusion de techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage.....</i>	<i>9</i>
<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>	<i>9</i>
<i>Contribution à l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux.....</i>	<i>9</i>
<i>Evaluation de l'activité des nouveaux antibiotiques.....</i>	<i>10</i>
<i>Formation.....</i>	<i>10</i>
<i>Organigramme du CNRP en 2001 .....</i>	<i>11</i>
<b>Contribution à la surveillance épidémiologique .....</b>	<b>12</b>
<i>Composition du réseau de surveillance.....</i>	<i>12</i>
<i>Définition de l'échantillon de souches étudié en 2001.....</i>	<i>14</i>
<i>Surveillance de la distribution des sérotypes.....</i>	<i>16</i>
<i>Surveillance des sérotypes dans le cadre de la vaccination anti-pneumococcique, évaluation de la couverture « sérotypique » .....</i>	<i>19</i>
<i>Surveillance de la résistance aux antibiotiques .....</i>	<i>21</i>
<i>Résistance globale aux antibiotiques .....</i>	<i>21</i>
<i>Résistance aux bêta-lactamines.....</i>	<i>21</i>
A. Résultats globaux .....	21
B. Chez l'enfant (<16 ans).....	24
C. Chez l'adulte .....	25
<i>Résistance aux macrolides et apparentés .....</i>	<i>26</i>
<i>Autres marqueurs de résistance.....</i>	<i>26</i>
<i>Résistances associées et multirésistance.....</i>	<i>27</i>
<i>Résistance aux fluoroquinolones.....</i>	<i>28</i>

Résistance aux antibiotiques et sérotypes .....	30
<i>Surveillance des infections à S. pneumoniae</i> .....	33
Méningites à <i>S. pneumoniae</i> .....	33
Répartition géographique .....	33
Distribution temporelle.....	34
Répartition par classes d'âges.....	35
Surveillance des sérotypes.....	35
Activité comparée des bêta-lactamines .....	38
Activité des fluoroquinolones .....	39
Résistance aux bêta-lactamines des sérotypes isolés de méningites .....	39
Infections sévères à pneumocoques (méningites et bactériémies).....	43
Etude comparée de la résistance aux antibiotiques .....	43
Activité comparée des bêta-lactamines .....	44
Otites moyennes aiguës (OMA) .....	44
<i>Participation à des réseaux internationaux de surveillance</i> .....	46
<b>Conseil</b> .....	<b>46</b>
<b>L'essentiel</b> .....	<b>47</b>
<b>Perspectives</b> .....	<b>49</b>
<b>Publications et communications réalisées dans le cadre des missions du CNRP</b> .....	<b>50</b>
<i>Publications</i> .....	50
<i>Communications</i> .....	51
<b>Annexe A</b> .....	<b>52</b>
<b>Annexe B</b> .....	<b>53</b>
<b>Annexe C</b> .....	<b>54</b>
<b>Annexe D</b> .....	<b>55</b>

# Table des illustrations

## Figures

Figure 1 – Réseau de surveillance des pneumocoques : modalités de recueil centralisé des données sur les infections pneumococciques en France.....	12
Figure 2 – Distribution <b>globale</b> des sérotypes des souches de <i>S pneumoniae</i> étudiées en 2001. ....	16
Figure 3 – Distribution des sérotypes des souches de <i>S pneumoniae</i> isolées d'hémocultures, LCR et OMA, <b>quelque soit l'âge</b> .....	17
Figure 4 – Distribution des sérotypes de souches de <i>S pneumoniae</i> « invasives » (isolées d'hémocultures et de LCR) <b>chez l'adulte</b> .....	17
Figure 5 - Distribution des sérotypes des souches de <i>S pneumoniae</i> isolées d'hémocultures, LCR et OMA <b>chez l'enfant</b> .....	18
Figure 6 - Distribution des sérotypes des souches de <i>S pneumoniae</i> « invasives » (isolées d'hémocultures et de LCR) <b>chez l'enfant</b> .....	18
Figure 7 – Distribution comparée des sérotypes des souches « invasives » (hémocultures et LCR) et des sérotypes des souches isolées d'OMA <b>chez l'enfant</b> .....	19
Figure 8 – Evolution du pourcentage de sérotypes contenus dans le vaccin <b>heptavalent</b> des souches « invasives » (hémocultures et LCR) et des souches isolées d'OMA <b>chez l'enfant ≤ 2 ans</b> .....	20
Figure 9 - Evolution du pourcentage de sérotypes contenus dans le vaccin <b>23 valent</b> des souches « invasives » (hémocultures et LCR) et des souches isolées d'OMA <b>chez l'enfant (&lt; 16 ans) de 2 ans et plus</b> .....	20
Figure 10 - Distribution des souches de pneumocoques isolées en 2001 en fonction de leur CMI de <b>pénicilline, amoxicilline et céfotaxime</b> .....	22
Figure 11 - Comparaison de la sensibilité à la <b>pénicilline</b> et à l' <b>amoxicilline</b> des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées en 2001.....	23
Figure 12 - Comparaison de la sensibilité à l' <b>amoxicilline</b> et au <b>céfotaxime</b> des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées en 2001.....	23
Figure 13 – Distribution des souches de pneumocoques isolées <b>chez l'enfant</b> en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.....	25
Figure 14 – Distribution des souches de pneumocoques isolées <b>chez l'adulte</b> en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.....	26
Figure 15 – Fréquence de la résistance (% I+R) aux principaux marqueurs en fonction du <b>site d'isolement</b> .....	27
Figure 16 – Sensibilité à la <b>lévofloxacin</b> e et à la <b>moxifloxacin</b> e des souches de <i>S. pneumoniae</i> étudiées en 2001.....	29
Figure 17 - Sensibilité à la <b>pénicilline</b> des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> isolés en 2001.....	31
Figure 18 – Sensibilité à la <b>pénicilline</b> des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> isolés <b>chez l'adulte</b> .....	32
Figure 19 – Sensibilité à la <b>pénicilline</b> des sérotypes de <i>S. pneumoniae</i> isolés <b>chez l'enfant</b> .....	32

Figure 20 – Répartition régionale de 350 cas de méningites à pneumocoque signalés au CNRP en 2001 .....	33
Figure 21 – Origine du signalement des 350 cas de méningite à <i>S. pneumoniae</i> au CNRP en 2001.....	34
Figure 22 - Fréquence mensuelle des méningites à pneumocoque en France en 2001.....	34
Figure 23 – Fréquence des méningites à pneumocoque <b>en fonction de l'âge</b> . .....	35
Figure 24 – Fréquence des méningites à pneumocoque en fonction de l'âge <b>chez l'enfant de moins de 2 ans</b> .....	35
Figure 25 - Fréquence des sérotypes isolés de méningites en 2001 .....	36
Figure 26 – Fréquence des sérotypes isolés de méningites <b>chez l'adulte</b> .....	36
Figure 27 - Fréquence des sérotypes isolés de méningites <b>chez l'enfant</b> .....	37
Figure 28 – Fréquence des sérotypes des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites <b>chez l'enfant âgé de moins de 24 mois</b> .....	37
Figure 29 – Fréquence des sérotypes des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites <b>chez l'enfant âgé de 2 à 15 ans</b> .....	37
Figure 30 – Distribution des souches isolées de méningites en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.....	38
Figure 31 – Comparaison de la sensibilité à la <b>pénicilline et à l'amoxicilline</b> des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites .....	38
Figure 32 - Comparaison de la sensibilité à <b>l'amoxicilline et au céfotaxime</b> des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites .....	39
Figure 33 – Sensibilité aux <b>fluoroquinolones</b> des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées de méningites.....	39
Figure 34 – Sensibilité à la <b>pénicilline</b> des sérotypes isolés de méningite <b>chez l'enfant</b> .....	40
Figure 35 - Sensibilité à <b>l'amoxicilline</b> des sérotypes isolés de méningite <b>chez l'enfant</b> .....	40
Figure 36 - Sensibilité au <b>céfotaxime</b> des sérotypes isolés de méningite <b>chez l'enfant</b> .....	41
Figure 37 - Sensibilité à la <b>pénicilline</b> des sérotypes isolés de méningites <b>chez l'adulte</b> .....	41
Figure 38 - Sensibilité à <b>l'amoxicilline</b> des sérotypes isolés de méningites <b>chez l'adulte</b> .....	42
Figure 39 - Sensibilité au <b>céfotaxime</b> des sérotypes isolés de méningites <b>chez l'adulte</b> .....	42
Figure 40 - Distribution des souches isolées de <b>bactériémies</b> en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.....	44
Figure 41 - Distribution des souches isolées d' <b>OMA</b> chez l'enfant en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.....	45
Figure 42 – Comparaison de la sensibilité à la <b>pénicilline et à l'amoxicilline</b> des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées d' <b>OMA</b> .....	45

## Tableaux

Tableau 1 – Activités du CNR des Pneumocoques en 2001.....	10
Tableau 2 – Réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP).....	13
Tableau 3 – Laboratoires ne participant pas aux ORP et ayant adressé en 2001 au moins une souche de <i>S. pneumoniae</i> isolée de méningite.....	13
Tableau 4 – Mode de recueil de l'échantillon théorique des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées d'hémocultures chez l'adulte et d'OMA.....	14
Tableau 5 - Origine des souches de <i>S. pneumoniae</i> effectivement adressées et étudiées au CNRP en 2001.....	15
Tableau 6 – Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>S. pneumoniae</i> étudiées en 2001.....	21
Tableau 7 – Description des souches les plus résistantes aux bêta-lactamines.....	22
Tableau 8 - Description de souches plus résistantes au céfotaxime qu'aux pénicillines.....	24
Tableau 9 - Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées chez l'enfant en 2001.....	24
Tableau 10 - Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées chez l'adulte en 2001.....	25
Tableau 11 – Multi-résistance et principaux phénotypes de résistance.....	27
Tableau 12 – Fréquence des phénotypes de résistance aux fluoroquinolones.....	28
Tableau 13 – Caractéristiques des souches ayant un mécanisme de résistance aux fluoroquinolones.....	29
Tableau 14 – Sensibilité aux <b>bêta-lactamines</b> , à l' <b>érythromycine</b> et aux <b>fluoroquinolones</b> des souches de pneumocoques isolées de <b>bactériémies</b> , <b>méningites</b> et <b>OMA</b> chez l'enfant et chez l'adulte.....	43
Tableau 15 – Sensibilité aux bêta-lactamines des souches isolées chez l'enfant, par groupe d'âge et type d'infection.....	46
Tableau 16 – Résumé de la surveillance de la <b>résistance aux antibiotiques</b> de <i>S. pneumoniae</i> en 2001.....	47
Tableau 17 – Fréquence (%) des <b>principaux sérotypes</b> par type de prélèvement chez l'adulte et chez l'enfant.....	47
Tableau 18 –Fréquence (%) des sérotypes des <b>souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines</b> .....	48
Tableau 19 – Sensibilité aux bêta-lactamines des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées chez l'enfant.....	48
Tableau 20 - Sensibilité aux bêta-lactamines des souches de <i>S. pneumoniae</i> isolées chez l'adulte.....	48

# 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 juin 2001).*

*Les souches de pneumocoque qui seront 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 tiendra 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 organisera 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 sera associé à l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) participera, 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 participera 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 sera adressé aux autorités sanitaires.*

*Le CNRP organisera un conseil scientifique constitué du directeur du CNRP, de son adjoint et de membres extérieurs au CNRP représentant la Direction Générale de la Santé, l'Institut National de Veille Sanitaire, de cliniciens ayant un intérêt pour les infections pneumococciques (pneumologues, ORL, pédiatres...) et des membres représentant les laboratoires participant au réseau.*

*Le rôle du conseil scientifique sera de:*

- conseiller le directeur du CNRP dans le choix et la mise en oeuvre 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.*

# Activités

## *Analyses et expertises effectuées dans le cadre des missions du Centre National de Référence des Pneumocoques en 2001*

Le nouveau CNRP s'est installé dans le service de Microbiologie à l'Hôpital Européen Georges Pompidou en septembre 2000, dès son ouverture. Nous avons équipé le laboratoire, et commencé le déménagement du souchier de l'ancien CNRP, qui est actuellement terminé.

Nous avons constitué un réseau de correspondants à partir :

- des « Observatoires Régionaux du Pneumocoque » mis en place par les laboratoires SmithKline Beecham,
- du réseau EPIBAC, avec le soutien de l'Institut de Veille Sanitaire,
- de l'Observatoire des Méningites Bactériennes de l'Enfant, en collaboration avec le Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique (Pr Y. Aujard, Pr E. Bingen, Hôpital Robert Debré à Paris, Dr R. Cohen à St Maur), et ACTIV (Dr F. de La Rocque, Dr C. Levy, St Maur).

Le recueil des souches et des données cliniques et bactériologiques a démarré en janvier 2001. Nous avons reçu la subvention accordée pour l'année 2000 par la Direction Générale de la Santé à l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, en mars 2001.

# Expertise biologique

## *Confirmation de l'identification, sérotypage.*

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. L'appartenance à l'espèce *S. pneumoniae* de ces souches (résistantes à l'optochine et/ou non typables par exemple) peut être vérifiée par différentes méthodes moléculaires que nous développons actuellement : recherche des gènes spécifiques de l'autolysine *lytA* et de la pneumolysine *pnoA*, séquençage d'une partie du gène de superoxyde dismutase *sodA*.

**Le sérotypage** (Annexe C) est réalisé à l'aide d'antisérums fournis par le Statens SerumInstitut de Copenhague, Danemark (SSI).

En 2001, le CNRP a participé au contrôle de qualité organisé par le SSI dans le cadre du projet européen « Invasive Bacterial Infections Surveillance in the European Union ».

**L'investigation des phénomènes épidémiques**, sur demande (en cas d'épidémie par exemple), qui repose sur l'étude du lien de clonalité entre plusieurs souches sera réalisée au moyen des méthodes de biologie moléculaires adaptées, et utilisées dans notre laboratoire. L'étude du lien de clonalité entre plusieurs souches est actuellement opérationnelle, et peut être réalisée au moyen des méthodes de biologie moléculaire adaptées suivantes :

- Amplification à l'aide de séquences aléatoires.
- Electrophorèse en champ pulsé

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

- Cas groupés dans une région

- Emergence de sérotypes rares
- Antibiotypes nouveaux
- Diffusion de souches multi-résistantes

### *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.

La collection de pneumocoques constituée par le Dr Geslin qui, en accord avec le Dr Estrangin, était conservée à l'Hôpital Intercommunal de Créteil, a été transférée après sélection à l'Hôpital Européen Georges Pompidou.

En 2000-2001, le CNRP a diffusé à l'ensemble des correspondants de son réseau, des souches de phénotype et de génotype caractérisés dans le cadre d'un contrôle de qualité interne pour l'étude de la résistance aux fluoroquinolones.

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

En 2001-2002, le CNRP souhaite développer :

- des techniques de typage moléculaire (analyse de fragments après électrophorèse en capillaire, séquençage d'un panel de gènes représentatifs et conservés ou MLST). De tels outils devraient nous permettre de repérer, entre autre, d'éventuels échanges capsulaires déjà décrits chez *S. pneumoniae*, dans le cadre par exemple du suivi du nouveau vaccin conjugué anti-pneumococcique.
- une PCR multiplex pour la détection des pneumocoques et des méningocoques dans le LCR.

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

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®). 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).

Si nous disposons de moyens fiables pour tester la sensibilité à la plupart des antibiotiques, il n'en est pas de même pour les fluoroquinolones, et à l'image du test de détection par le disque d'oxacilline proposé pour dépister les souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines, il est nécessaire d'utiliser au moins une fluoroquinolone « classique » (non anti-pneumococcique) pour dépister les souches ayant acquis un 1<sup>er</sup> mécanisme de résistance, étape préalable à la résistance de *S. pneumoniae* aux fluoroquinolones anti-pneumococciques mises sur le marché : la lévofloxacine et la moxifloxacine.

Nous avons donc mis au point un test de détection par l'antibiogramme des différents mécanismes de résistance aux fluoroquinolones, et élaboré un protocole (Annexe D) qui a été diffusé à l'ensemble des laboratoires participant aux ORP. De façon préliminaire, cette méthode a été évaluée sur des pneumocoques isolés en 1999. Pour l'ensemble des souches ainsi détectées (n=58), cette méthode a été validée au plan phénotypique par détermination des CMI de fluoroquinolones et au plan génotypique, par séquençage des gènes impliqués dans la résistance.

Depuis juillet 2001, cette méthode est employée pour la détection des phénotypes de résistance sur l'ensemble des pneumocoques reçus par chaque coordinateur des ORP. Ceci devrait nous permettre d'étendre notre surveillance de la résistance aux fluoroquinolones aux souches isolées de prélèvements respiratoires.

## Evaluation de l'activité des nouveaux antibiotiques

L'activité des nouveaux antibiotiques proposés pour le traitement des infections pneumococciques ou des infections respiratoires en général doit être évaluée vis-à-vis de *S. pneumoniae*. Notre laboratoire a, dans ce domaine, une longue expérience. En 2001-2002, le CNRP a étudié l'activité de nouvelles fluoroquinolones (la moxifloxacine et la garenoxacine), mettant à profit la large collection de souches d'origine clinique, et de souches de référence hébergeant toute une gamme de mécanismes de résistance identifiés au niveau moléculaire que notre laboratoire a déjà constituée. Cette activité permettra de fournir des données au CASFM, qui a la responsabilité de définir le spectre d'activité des antibiotiques et les valeurs critiques utilisée pour la catégorisation clinique des souches (" sensible ", " intermédiaire " ou " résistant ").

## Formation

Le CNRP participe à la formation des biologistes et des cliniciens, de Paris et de Province :

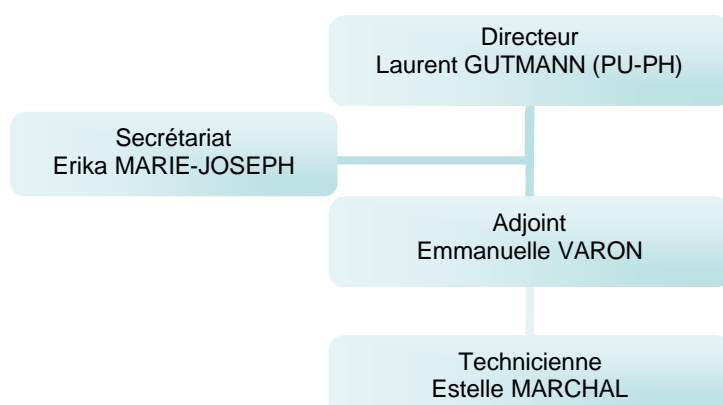
- Stages de formation (Travaux pratiques : Etude des souches atypiques, antibiogramme,...) pour Biologistes et techniciens :
- en 1999 et en 2000, participation aux Journées de Formation bioMérieux sur le thème « Bactéries pathogènes de la sphère ORL ».
- Publication de recommandations techniques :
- En 2000, le CNRP a contribué, avec les autres membres de l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques, à la rédaction du guide « Recommandations méthodologiques pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les laboratoires de Microbiologie »
- En 2000-2001, en collaboration avec l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé, et un collègue d'experts, réalisation du guide : « Evaluation de la prise en charge des pneumopathies communautaires à l'hôpital ».
- Enseignement (Facultés, Hôpitaux)
- Publications didactiques dans des revues médicales ou de biologie de langue française (cf. liste des communications et publications).

L'ensemble des activités réalisées au Centre National de Référence des Pneumocoques en 2001 est résumé dans le Tableau 1.

Tableau 1 – Activités du CNR des Pneumocoques en 2001.

Activité	Etude	Nombre
Sérotypage	Echantillon ORP 2001	1968
	ORP hors échantillon	351
	HEGP	123
	Autres correspondants	243
	Etude de portage	165
	<b>Total</b>	<b>2850</b>
Recherche de pneumocoque dans des prélèvements rhino-pharyngés	Epidémiologie du portage	616
Etude de la sensibilité aux antibiotiques (CMI)		
Pénicilline	ORP & Epidémiologie de portage	1983
Amoxicilline	ORP & Epidémiologie de portage	1983
Céfotaxime	ORP & Epidémiologie de portage	1983
Péfloxacin	ORP	1653
Norfloxacine	ORP	1653
Ciprofloxacine	ORP	1653
Sparfloxacine	ORP	1653
Lévofloxacine	ORP	1653
Moxifloxacine	ORP	1653
Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)	ORP	1073
	Epidémiologie de portage	165
	<b>Total</b>	<b>1238</b>
Biologie moléculaire	Etude de la résistance aux FQ	
Extraction		58
PCR	4 gènes	232
Séquençage	sens et antisens	464
Typage moléculaire	Investigation de cas groupés	Aucune en
AP-PCR, Electrophorèse en champ pulsé	d'infections pneumococciques	2001

## Organigramme du CNRP en 2001



Entre septembre 2000 et Août 2002, le CNRP a fonctionné avec une technicienne.

Etant donné l'activité à prendre en charge, nous avons engagé une seconde technicienne depuis septembre 2002.

Pendant toute cette période, le salaire de ces techniciennes a été payé sur des fonds propres (expertises).

# 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, européennes en particulier (Réseau EARSS...).

## Composition du réseau de surveillance

Pour pouvoir apprécier les tendances en fonction du temps, la surveillance repose sur un recueil de données cliniques et bactériologiques régulier et standardisé et sur un réseau de laboratoires stable et représentatif :

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

Ainsi en 2001, le réseau de surveillance (Figure 1) se compose de :

1. 380 laboratoires (292 établissements publics de santé et 88 laboratoires privés) qui participent aux 22 « Observatoires Régionaux du Pneumocoque » (ORP) (Tableau 2),
2. Pour ce qui concerne le recueil des cas de méningites, de l'ensemble des laboratoires avec en particulier les laboratoires hospitaliers universitaires et non universitaires participant au réseau EPIBAC (Institut de Veille Sanitaire) ou à l'Observatoire des Méningites Bactériennes du nouveau-né et de l'enfant (200 pédiatres), ceci en raison de leur expérience et de leur motivation à participer à des réseaux de surveillance (Tableau 3).

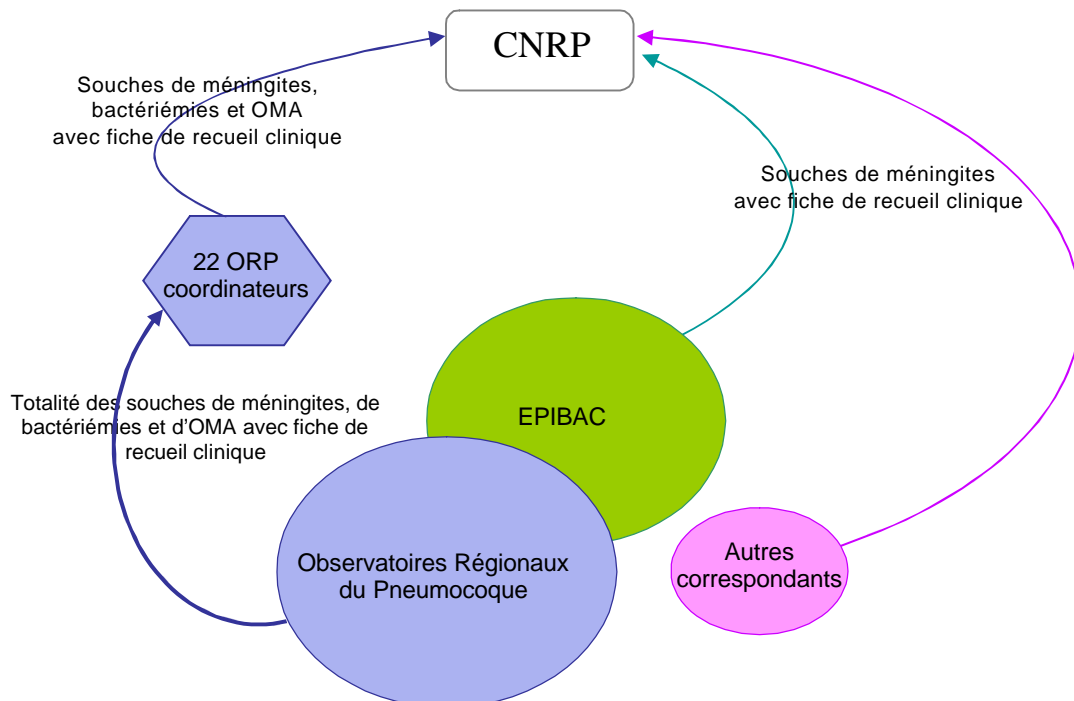


Figure 1 – Réseau de surveillance des pneumocoques : modalités de recueil centralisé des données sur les infections pneumococciques en France (souches et fiches de renseignements cliniques et bactériologiques).

Chaque souche reçue au CNRP est accompagnée d'une fiche de recueil standardisée (Annexe A, Annexe B).

Ce réseau de laboratoires qui prend en compte la diversité géographique et démographique (hôpitaux pédiatriques, services de longs séjours, maisons de retraite), pourra ensuite être modifié pour être plus représentatif de l'ensemble du territoire national (cf. § Perspectives).

Tableau 2 – Réseau des Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP).

ORP	Coordinateur	Souches adressées en 2001 (n)
ORP Ile de France-Est	Dr MC DEMACHY	243
ORP Rhône	Dr M. CHOMARAT	158
ORP Nord-Pas de Calais	Dr M. ROUSSEL-DELVALLEZ	137
ORP Normandie	Dr M. VERGNAUD	123
ORP Arc Alpin	Dr J. CROIZE	100
ORP Bretagne	Dr VAUCEL	99
ORP Picardie	Dr G. LAURANS	98
ORP Pays de La Loire	Dr J. COTTIN	95
ORP Aquitaine	Dr J. MAUGEIN	94
ORP Alsace	Dr V. MURBACH	89
ORP Provence	Dr H. CHARDON	85
ORP Bourgogne	Dr PECHINOT	81
ORP Centre	Dr B. CATTIER	80
ORP Lorraine	Dr M. WEBER	77
ORP Poitou-Charentes	Dr B. GRIGNON	66
ORP Alpes-Côte Azur	Pr T. FOSSE	65
ORP Midi-Pyrénées	Dr M. F. PRERE	63
ORP Champagne-Ardenne	Dr V. VERNET-GARNIER	51
ORP Languedoc-Roussillon	Dr BRUN	49
ORP Auvergne	Dr C. CHANAL	47
ORP Franche-Comté	Dr P. DUPONT	39
ORP Limousin	Dr M. C. PLOY	34
<b>Total ORP</b>		<b>1973</b>

Tableau 3 – Laboratoires ne participant pas aux ORP et ayant adressé en 2001 au moins une souche de *S. pneumoniae* isolée de méningite.

Laboratoires	Correspondant	Souches adressées (n)
C. H. Poissy	Dr G. RAST	3
C. H. Versailles - Le Chesnay	Dr B. PANGON	3
C. H. St Germain en Laye	Dr A. BOISIVON	2
C. H. Pontoise	Dr G. BLANCHARD	1
C. H. Gonesse	Dr M. BINGEN	1
C. H. Mantes-La-Jolie	Dr RICHARDIN	1
Paris - Institut Mutualiste Montsouris	Dr Y. PEAN	1
C. H. Paray Le Monial	Dr JOUBERT	1
<b>Total</b>		<b>13</b>

## Définition de l'échantillon de souches étudié en 2001

Etant donné la fréquence très élevée d'isolement des pneumocoques dans les laboratoires de microbiologie, en 2001 notre effort a porté 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). De plus, un échantillon de souches de pneumocoques isolés d'OMA a été étudié car, en raison de la mise à disposition récente (Printemps 2001) du vaccin conjugué anti-pneumococcique heptavalent Prévenar® chez les enfants de moins de 2 ans, il est important de pouvoir suivre également l'évolution des sérotypes et de la résistance aux antibiotiques de ces souches non « invasives ».

L'ensemble des souches étudiées en 2001 se compose de :

- Toutes les souches isolées de méningites sur le territoire français, chez l'adulte et chez l'enfant
- La totalité des souches isolées d'hémocultures chez l'enfant (< 16 ans)
- Un échantillon des souches isolées d'hémocultures chez l'adulte
- Un échantillon de souches provenant d'OMA. En France, les paracentèses sont pratiquées en cas d'échec thérapeutique : les souches isolées de pus d'oreille au cours d'otites sont donc représentatives des OMA en échec

Pour les souches isolées d'hémocultures chez l'adulte et d'OMA, seules les **n** premières souches du trimestre reçues par chacun des coordinateurs des ORP devaient être envoyées au CNRP. Le nombre théorique de souches devant être envoyé par ORP chaque trimestre et pour l'année est indiqué dans le Tableau 4. Au total, cet échantillon est composé de 1292 souches non redondantes de pneumocoque, dont 888 isolées d'hémoculture chez l'adulte et 404 isolées d'OMA.

Tableau 4 – Mode de recueil de l'échantillon théorique des souches de *S. pneumoniae* isolées d'hémocultures chez l'adulte et d'OMA.

ORP	Nombre de souches à adresser au CNRP			
	Hémocultures (>15 ans)		OMA (≤15 ans)	
	Trimestriel	Annuel	Trimestriel	Annuel
ORP Ile de France - Est	27	108	20	80
ORP Rhône	11	44	5	20
ORP Nord - Pas de Calais	15	60	5	20
ORP Normandie	12	48	6	24
ORP Bretagne	13	52	5	20
ORP Picardie	8	32	4	16
ORP Arc Alpin	11	44	5	20
ORP Pays de La Loire	12	48	4	16
ORP Aquitaine	10	40	4	16
ORP Alsace	14	56	4	16
ORP Lorraine	10	40	5	20
ORP Provence	7	28	5	20
ORP Bourgogne	8	32	5	20
ORP Poitou-Charentes	8	32	3	12
ORP Alpes-Côte d'Azur	8	32	3	12
ORP Centre	10	40	5	20
ORP Midi-Pyrénées	8	32	2	8
ORP Champagne-Ardenne	7	28	1	4



ORP	Nombre de souches à adresser au CNRP			
	Hémocultures (>15 ans)		OMA (≤15 ans)	
	Trimestriel	Annuel	Trimestriel	Annuel
ORP Languedoc-Roussillon	6	24	3	12
ORP Auvergne	5	20	3	12
ORP Franche-Comté	8	32	2	8
ORP Limousin	4	16	2	8
<b>Total</b>	<b>222</b>	<b>888</b>	<b>101</b>	<b>404</b>

Ainsi en 2001, la surveillance épidémiologique a porté sur 1986 souches de *S. pneumoniae*. (Tableau 5). En moyenne chaque ORP a adressé 89 souches au CNRP, les extrêmes allant de 34 à 243 souches. L'échantillonnage des souches isolées d'hémoculture chez l'adulte et d'OMA chez l'enfant a été globalement respecté (respectivement 105% et 96% du quota annuel).

Tableau 5 - Origine des souches de *S. pneumoniae* effectivement adressées et étudiées au CNRP en 2001.

ORP	Hémoculture		LCR		OMA	Total
	>15 ans	≤15 ans	>15 ans	≤15 ans	≤15 ans	
ORP Ile de France-Est	92	46	14	17	74	243
ORP Rhône	76	30	18	10	24	158
ORP Nord-Pas de Calais	66	30	8	12	21	137
ORP Normandie	52	21	15	5	30	123
ORP Arc Alpin	43	24	11	6	16	100
ORP Bretagne	49	12	14	8	16	99
ORP Picardie	59	11	11	2	15	98
ORP Pays de La Loire	47	17	11	5	15	95
ORP Aquitaine	42	15	13	6	18	94
ORP Alsace	50	11	8	4	16	89
ORP Provence	39	14	4	5	23	85
ORP Bourgogne	43	7	4	3	24	81
ORP Centre	38	12	12	4	14	80
ORP Lorraine	40	6	10	2	19	77
ORP Poitou-Charentes	34	9	8	4	11	66
ORP Alpes-Côte Azur	30	9	8	8	10	65
ORP Midi-Pyrénées	27	13	12	6	5	63
ORP Champagne-Ardennes	28	9	6	4	4	51
ORP Languedoc-Roussillon	20	8	7	3	11	49
ORP Auvergne	20	6	5	4	12	47
ORP Franche-Comté	24	8	3	2	2	39
ORP Limousin	16	4	3	2	9	34
Autre	-	-	8	5	-	13
<b>Total</b>	<b>935</b>	<b>322</b>	<b>213</b>	<b>127</b>	<b>389</b>	<b>1986</b>

## Surveillance de la distribution des sérotypes

Depuis septembre 2001, le CNRP est en mesure de déterminer chacun des 90 sérotypes pneumococciques. Le sérotypage représente l'activité principale du CNRP.

La technique de sensibilisation de particules de latex avec les antisérums fournis par le Statens SerumInstitute de Copenhague, actuellement utilisée au CNRP, est adaptée du procédé mis au point dans le laboratoire de Marc LEPORTIER, avec l'aide de Joëlle MORGAND (département Recherche et Développement, bioMérieux, Marcy-l'Etoile).

Le CNRP a participé au contrôle de qualité externe de sérotypage organisé en 2001 par le Statens SerumInstitute dans le cadre du projet européen « Invasive Bacterial Infections Surveillance in the European Union ».

En 2001, 1968 souches adressées au CNRP ont été sérotypées dans le cadre de l'étude épidémiologique. La fréquence relative des différents sérotypes et l'analyse de leur distribution a été réalisée :

- Globalement (Figure 2)
- Après stratification
  - Par type de prélèvement : hémoculture, LCR, OMA (Figure 3)
  - En fonction de l'âge : adultes (Figure 4), enfants ( $\leq 15$  ans) (Figure 5) et chez ces derniers, en fonction du caractère « invasif » (hémoculture et LCR) ou non « invasif » (OMA) des souches isolées (Figure 7).

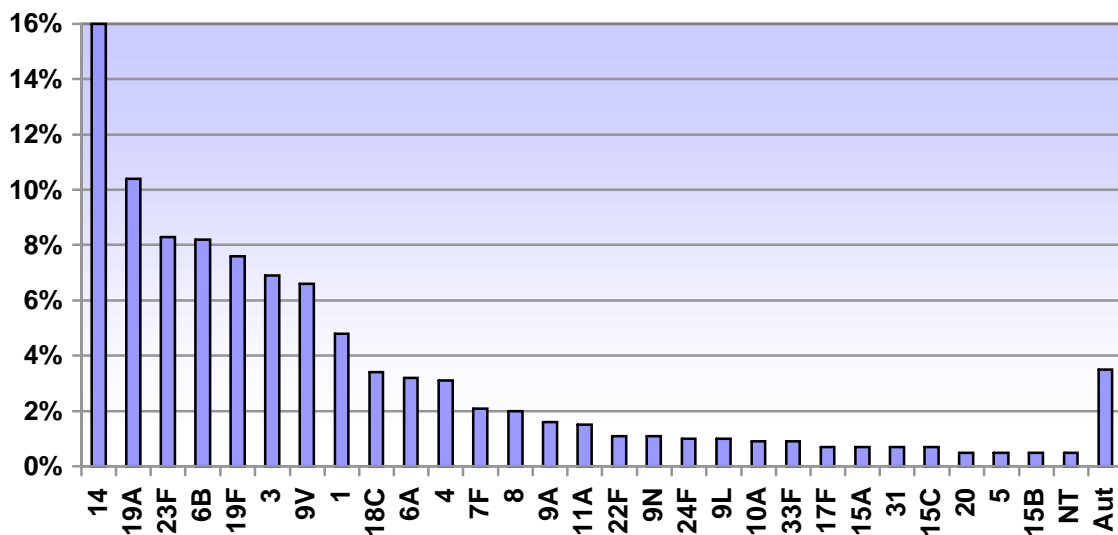


Figure 2 – Distribution *globale* des sérotypes des 1968 souches de *S pneumoniae* étudiées en 2001.

- Globalement, les sérotypes 14, 19A, 23F, 6B, 19F et 3 représentent 64% des pneumocoques étudiés, le sérotype 14 étant prédominant et représentant 16% des souches à lui seul. La fréquence respective de ces sérotypes varie avec la nature du prélèvement.
- Dans les méningites, les sérotypes 6B et 23F sont aussi fréquents que le sérotype 14.
- Dans les bactériémies, le sérotype 14 est nettement prédominant. Par contre le sérotype 1, qui est aussi fréquent que les sérotypes 23F, 6B, 3 et 9V dans les bactériémies (2<sup>ème</sup> sérotype chez l'adulte et 4<sup>ème</sup> sérotype chez l'enfant), est très rarement isolé de méningites ou d'OMA.
- Dans les OMA, cinq sérotypes représentent à eux seuls 72% des souches : 14, 19A, 19F, 23F et 6B. Ils sont contenus dans le vaccin conjugué heptavalent, à l'exception du sérotype 19A, et tous sont contenus dans le vaccin polysaccharidique 23 valences.
- Seules 4 souches sont non typables (3 souches isolées d'hémoculture et 1 souche de méningite).

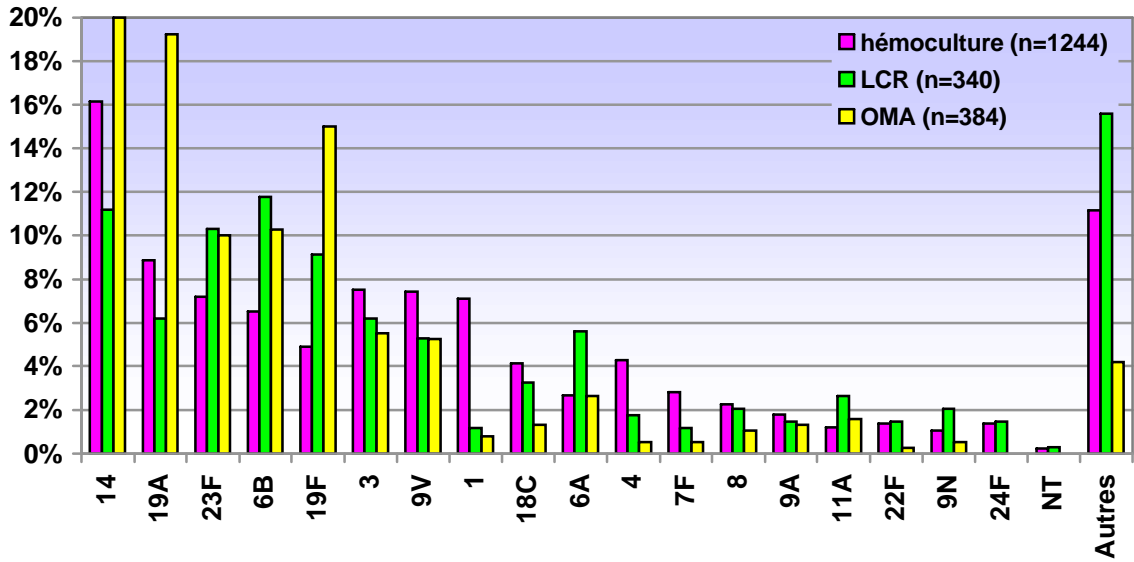


Figure 3 – Distribution des sérotypes des 1968 souches de *S pneumoniae* isolées d'hémocultures, LCR et OMA, *quelque soit l'âge*.

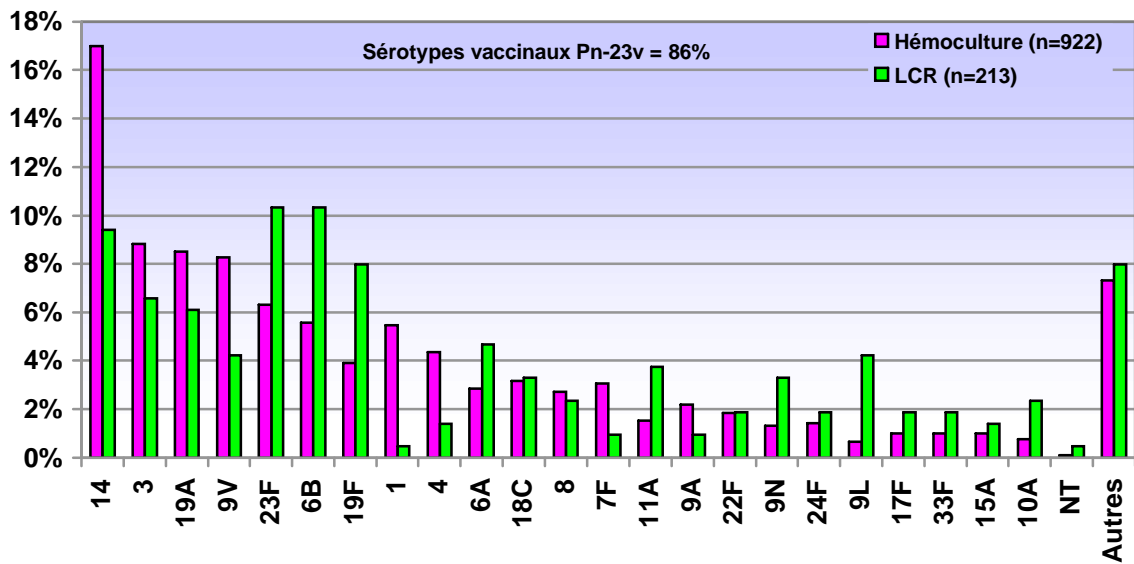


Figure 4 – Distribution des sérotypes de 1135 souches de *S pneumoniae* « invasives » (isolées d'hémocultures et de LCR) chez l'adulte ( $\geq 16$  ans).

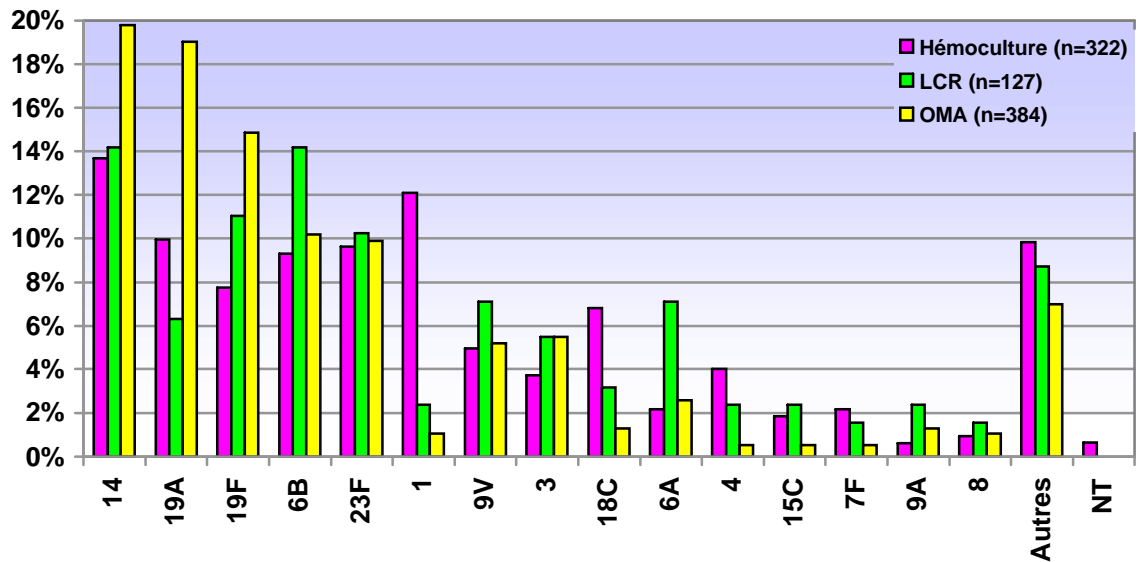


Figure 5 - Distribution des sérotypes de 833 souches de *S pneumoniae* isolées d'hémocultures, LCR et OMA chez l'enfant (< 16 ans).

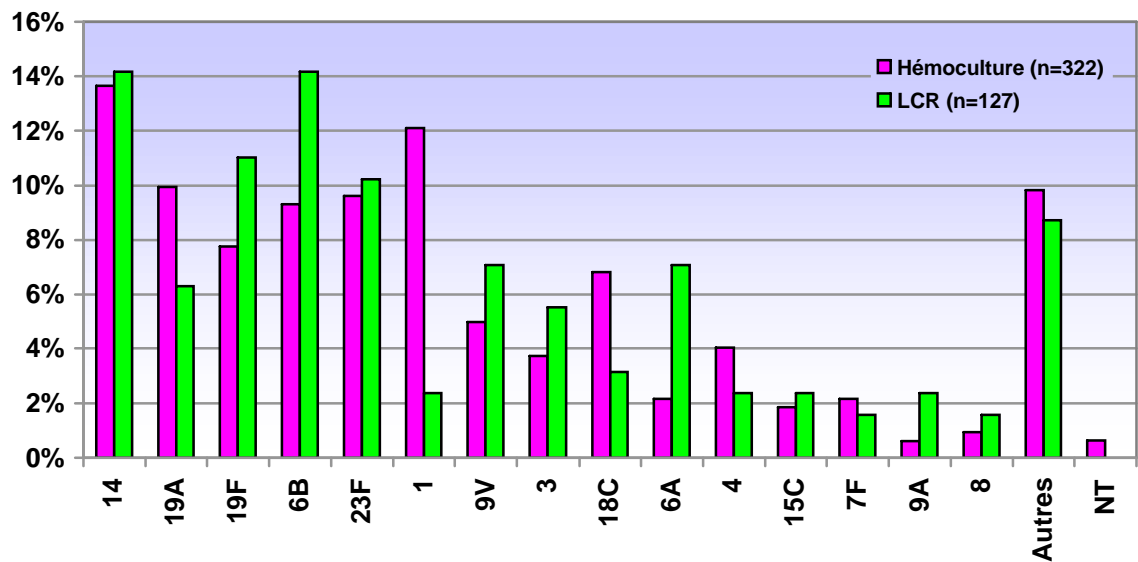


Figure 6 - Distribution des sérotypes de 449 souches de *S pneumoniae* « invasives » (isolées d'hémocultures et de LCR) chez l'enfant (< 16 ans).

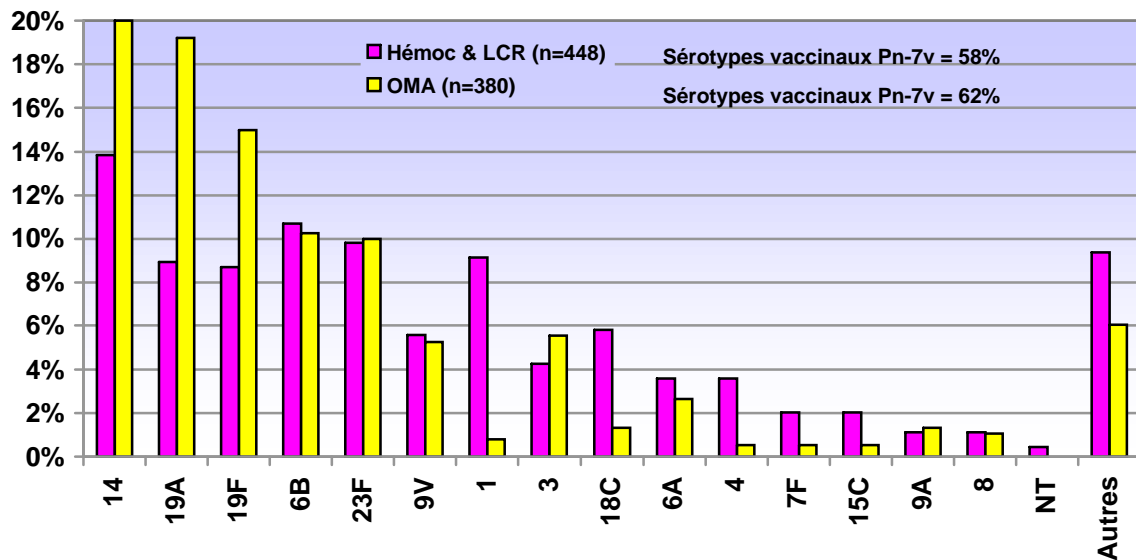


Figure 7 – Distribution comparée des sérotypes des souches « invasives » (hémocultures et LCR) et des sérotypes des souches isolées d'OMA chez l'enfant (< 16 ans).

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

La mise à disposition pour l'enfant de moins de 2 ans du vaccin conjugué anti-pneumococcique heptavalent Prevenar® (Wyeth-Lederlé) (valences **4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F** et **23F**) depuis le printemps 2001 rend nécessaire la surveillance épidémiologique des sérotypes de portage et d'infections.

Par son activité de sérotypage des souches invasives (méningites et bactériémies), des souches d'otites moyennes aiguës, le CNRP contribue à l'évaluation de la couverture « sérotypique » (% souches ayant un sérotype contenu dans le vaccin) pour le nouveau vaccin conjugué heptavalent Prévenar® (Figure 8), et pour le vaccin polysaccharidique 23-valent Pneumovax® (valences 1, 2, 3, 4, 5, **6B**, 7F, 8, 9N, **9V**, 10A, 11A, 12F, **14**, 15B, 17F, **18C**, 19A, **19F**, 20, 22, **23F** et 33F) (Figure 9).

L'étude complète des sérotypes effectuée par le CNRP permettra de mettre en évidence l'émergence de nouveaux sérotypes et de suivre leur sensibilité aux antibiotiques.

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 cette population. En effet, la surveillance des sérotypes isolés d'OMA (par paracentèse) est insuffisante car elle ne s'intéresse qu'aux sérotypes responsables des OMA en échecs de traitement, seule situation où une paracentèse est recommandée en France.

Dans ce cadre, le CNRP participe depuis décembre 2000 à l'évaluation de l'impact d'un nouveau vaccin conjugué anti-pneumococcique **nonavalent** Wyeth (sérotypes **1, 4, 5, 6B, 9V, 14, 18C, 19F** et **23F**) (phase III) sur le portage rhino-pharyngé des pneumocoques au cours d'un essai clinique comparatif (comparaison des sérotypes et de la sensibilité aux antibiotiques des pneumocoques isolés chez les enfants vaccinés ou non).

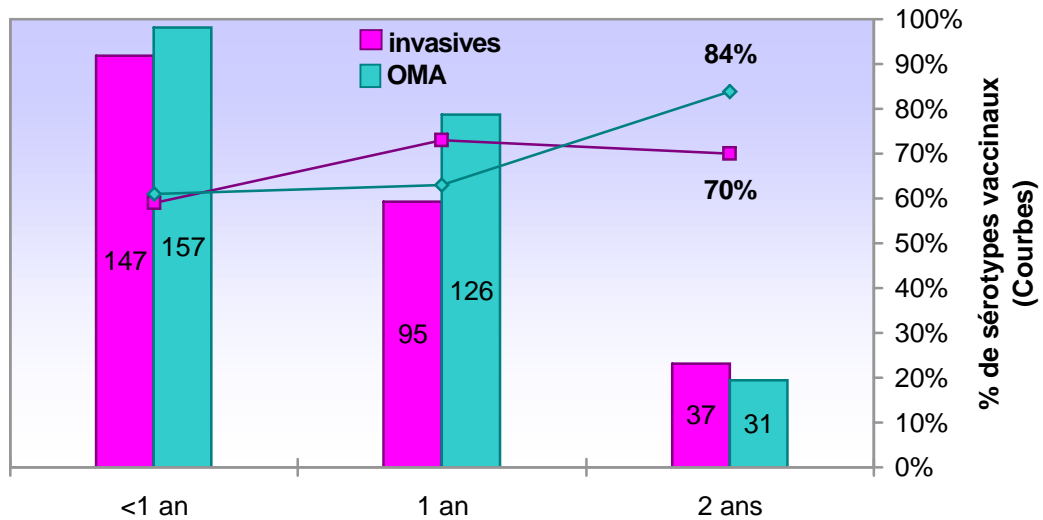


Figure 8 – Evolution du pourcentage de sérotypes contenus dans le vaccin **heptavalent** des souches « invasives » (hémocultures et LCR) et des souches isolées d'OMA chez l'enfant ≤ 2 ans. Le nombre de souches étudiées dans chaque classe d'âge est indiqué par les histogrammes.

Entre 0 et 24 mois, la couverture sérotypique du vaccin conjugué heptavalent passe de 60 à 70% pour les souches « invasives » et de 60 à 84% pour les souches d'OMA, puis amorce ensuite une diminution qui reflète, à partir de cet âge, la diversification des sérotypes isolés (Figure 8). Pour la classe d'âge 2 à 15 ans, la couverture sérotypique du vaccin 23-valent est très élevée : elle passe de 97 à 91% pour les souches isolées d'OMA et de 95 à 88% pour les souches isolées de bactériémies et de méningites (Figure 9).

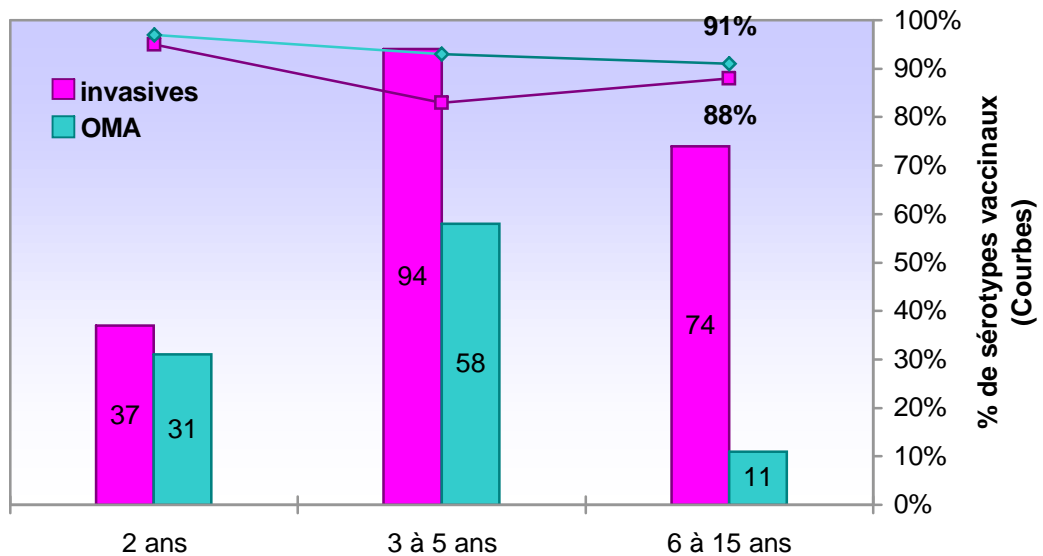


Figure 9 - Evolution du pourcentage de sérotypes contenus dans le vaccin **23 valent** des souches « invasives » (hémocultures et LCR) et des souches isolées d'OMA chez l'enfant (< 16 ans) de 2 ans et plus. Le nombre de souches étudiées dans chaque classe d'âge est indiqué par les histogrammes.

## Surveillance de la résistance aux antibiotiques

Le CNRP réalise une étude complète de la sensibilité aux antibiotiques (cf. Annexe C). Un choix judicieux d'antibiotiques permet de détecter au moyen de l'antibiogramme les mécanismes de résistance connus. Cette étude est complétée par la détermination systématique de la CMI de la pénicilline, de l'amoxicilline, du céfotaxime et des fluoroquinolones considérées comme actives sur le pneumocoque, la lévofloxacine et la moxifloxacine (Tableau 6).

### Résistance globale aux antibiotiques

En 2001, cette surveillance permet d'estimer la fréquence de la résistance pour les souches isolées :

- d'infections sévères : méningites et pneumopathies avec bactériémie ayant conduit à une hospitalisation
- d'OMA chez l'enfant.

Tableau 6 – Sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. pneumoniae* étudiées en 2001.

Antibiotique	Valeurs critiques		Souches (n)	%S	%I	%R
	S	R				
Pénicilline	≤ 0,06 mg/L	> 1 mg/L	1818	47,7	39	13,3
Amoxicilline	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	1818	67,3	30	2,7
Céfotaxime	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	1818	80,9	17	0,4
Lévofloxacine	≤ 2 mg/L	> 4 mg/L	1653	99,7	-	0,3
Moxifloxacine	≤ 1 mg/L	> 2 mg/L	1653	99,8	-	0,2
Erythromycine	≥ 22 mm	< 17 mm	1030	49,2	0,2	50,6
Pristinamycine	≥ 19 mm	-	1030	99,7	-	0,3
Triméthoprim	≥ 16 mm	< 12 mm	1030	62,8	5,8	31,4
Sulfamides	≥ 17 mm	< 12 mm	1030	81,9	3,7	14,4
Rifampicine	≥ 19 mm	< 14 mm	1030	99,8	0,2	-
Chloramphénicol	≥ 23 mm	< 19 mm	1030	88,2	0,8	11
Tétracycline	≥ 19 mm	< 17 mm	1030	69,3	5	25,7
Fosfomycine	≥ 14 mm	-	1030	99	-	1
Kanamycine	≥ 14 mm	< 10 mm	1030	65	-	35
Streptomycine	≥ 14 mm	< 12 mm	1030	88,6	-	11,4
Gentamicine	≥ 17 mm	< 11 mm	1030	100	-	-
Vancomycine	≥ 17 mm	-	1030	100	-	-
Teicoplanine	≥ 17 mm	-	1030	100	-	-

### Résistance aux bêta-lactamines

#### A. Résultats globaux

En 2001, 52,3% des souches étudiées sont de sensibilité diminuée à la pénicilline (CMI > 0,064 µg/ml). Les souches résistantes à la pénicilline (CMI ≥ 2 µg/ml) représentent 13,3%. Pour l'amoxicilline et le céfotaxime, les souches de sensibilité diminuée (CMI > 0,5 µg/ml) représentent respectivement 32,7% et 17,4% ; les souches résistantes (CMI ≥ 2 µg/ml) sont très peu fréquentes et représentent respectivement 2,7% et 0,4%. La CMI modale des trois molécules est à 0,016 µg/ml pour la population sensible. Pour les

souches de sensibilité diminuée, la CMI modale de la pénicilline et de l'amoxicilline est à 1 µg/ml, et la CMI modale du céfotaxime est à 0,5 µg/ml (Figure 10).

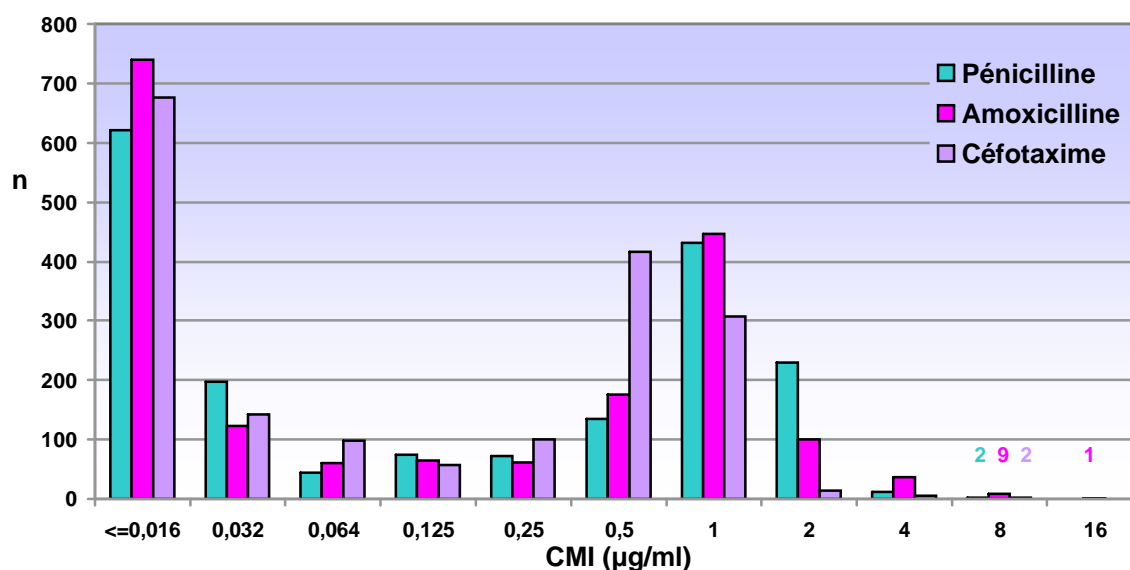


Figure 10 - Distribution des souches de pneumocoques isolées en 2001 en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime (n=1818).

Les CMI les plus élevées sont observées avec l'amoxicilline et atteignent jusqu'à 16 µg/ml. Les caractéristiques des souches les plus résistantes sont rassemblées dans le Tableau 7.

Tableau 7 – Description des souches les plus résistantes aux bêta-lactamines

n	Age (ans)	Sérotype	Site d'isolement	Région	CMI (µg/ml)			Résistance(s) associée(s)
					Péni*	AMX*	CTX*	
1	0,75	14	OMA	Ile de France	8	4	4	E, K, Tp
2	1	14	OMA	Ile de France	8	16	8	E, Tp, Te
3	<1	19F	OMA	Normandie	4	8	1	E, Te
4	1	19F	OMA	Poitou	2	8	1	E, K
5	0,67	23F	Hémoculture	Arc Alpin	4	8	8	Tp, Su
6	0,9	23F	Hémoculture	Champagne	4	8	4	E
7	72	23F	Hémoculture	Alsace	4	8	4	E, Te
8	86	19F	Hémoculture	Lorraine	2	8	1	E
9	86	19F	Hémoculture	Normandie	2	8	0,5	E, Te, Ch
10	4	6A	Hémoculture	Nord	2	8	0,5	
11	86	14	Hémoculture	Bourgogne	4	8	1	Lvx, Mfx*

\*Péni, Pénicilline ; AMX, amoxicilline ; CTX, céfotaxime ; E, érythromycine ; K, kanamycine ; Tp, Triméthoprime ; Te, tétracycline ; K, kanamycine ; Su, sulfamides ; Ch, chloramphénicol ; Lvx, lévofloxacine ; Mfx, moxifloxacine.

- Ce qui est remarquable, contrairement à ce qui était observé jusque là, c'est que les CMI d'amoxicilline égalent et surtout pour 6,6% des souches (bulles rouges au-dessus de la droite de



régression dans la Figure 11), dépassent les CMI de pénicilline. Ce phénomène s'observe quelque soit la sensibilité aux bêta-lactamines, mais une différence de deux dilutions en défaveur de l'amoxicilline n'est observée que pour les souches de sensibilité diminuée à la pénicilline (CMI  $\geq 0,125$   $\mu\text{g/ml}$ ) (Figure 11).

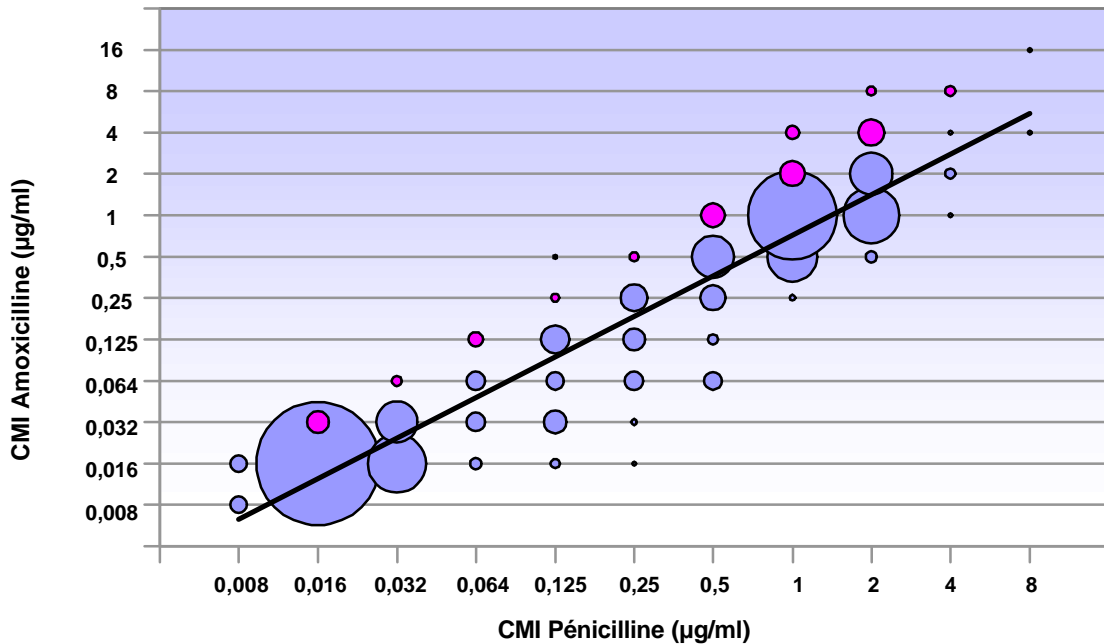


Figure 11 - Comparaison de la sensibilité à la pénicilline et à l'amoxicilline de 1818 souches de *S. pneumoniae* isolées en 2001.

- De rares souches (n=25, 1,4%) plus résistantes aux céphalosporines injectables de 3<sup>ème</sup> génération qu'aux amino-pénicillines ont été isolées. Elles sont indiquées par les bulles rouges au-dessus de la droite de régression sur la Figure 12. L'existence de telles souches souligne la nécessité de déterminer systématiquement la CMI d'une céphalosporine injectable de 3<sup>ème</sup> génération si elle est indiquée. Les caractéristiques de quelques unes de ces souches figurent dans le Tableau 8.

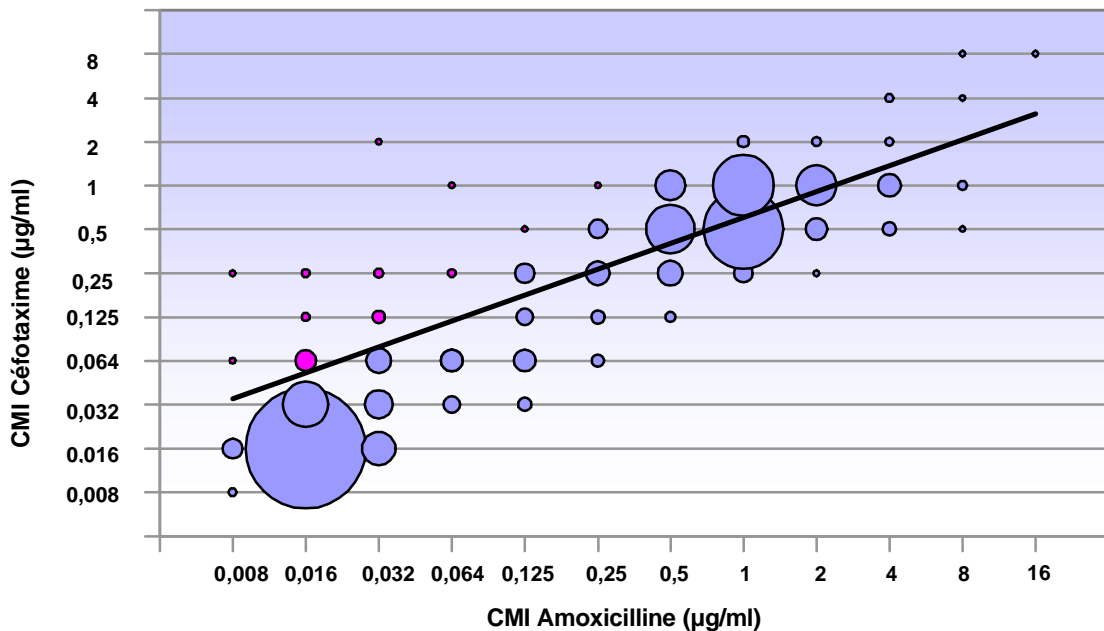


Figure 12 - Comparaison de la sensibilité à l'amoxicilline et au céfotaxime de 1818 souches de *S. pneumoniae* isolées en 2001.

Tableau 8 - Description de souches plus résistantes au céfotaxime qu'aux pénicillines

n	Age	Sérotype	Site	Région	CMI (µg/ml)			Résistance(s)
	(ans)				d'isolement	Péni*	AMX*	CTX*
1	1	19F	OMA	Normandie	0,125	0,032	2	Tp
2	1,5	22F	OMA	Bretagne	0,016	0,016	0,25	-
3	1	3	LCR	Alsace	0,008	0,008	0,25	-
4	71	19F	LCR	Midi-Pyrénées	0,032	0,016	0,25	E, K
5	71	5	hémoculture	Auvergne	0,032	0,016	0,25	-
6	71	19F	hémoculture	Provence	0,125	0,064	1	E, K, Ch

\*Péni, Pénicilline ; AMX, amoxicilline ; CTX, céfotaxime ; Tp, triméthoprim ; E, érythromycine, K, kanamycine, Ch, chloramphénicol.

La prévalence de la résistance aux bêta-lactamines est différente selon la classe d'âge considérée.

### B. Chez l'enfant (<16 ans)

Le taux de sensibilité diminuée (I+R) atteint 62% pour la pénicilline, 37,7% pour l'amoxicilline, et 23,1% pour le céfotaxime (Tableau 9).

Tableau 9 - Sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'enfant en 2001.

Antibiotique	Valeurs critiques		Souches (n)	%S	%I	%R
	S	R				
Pénicilline	≤ 0,06 mg/L	> 1 mg/L	766	38	44,8	17,2
Amoxicilline	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	766	62,3	34,3	3,4
Céfotaxime	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	766	76,9	22,4	0,7
Lévofloxacine	≤ 2 mg/L	> 4 mg/L	694	<b>100</b>	-	-
Moxifloxacine	≤ 1 mg/L	> 2 mg/L	694	<b>100</b>	-	-
Erythromycine	≥ 22 mm	< 17 mm	398	40	0,2	59,8
Pristinamycine	≥ 19 mm	-	398	99,5	-	0,5
Triméthoprim	≥ 16 mm	< 12 mm	398	58,5	5	36,5
Sulfamides	≥ 17 mm	< 12 mm	398	78,9	4	17,1
Rifampicine	≥ 19 mm	< 14 mm	398	100	-	-
Chloramphénicol	≥ 23 mm	< 19 mm	398	86,2	1,5	12,3
Tétracycline	≥ 19 mm	< 17 mm	398	66,6	5	28,4
Fosfomycine	≥ 14 mm	-	398	98,7	-	1,3
Kanamycine	≥ 14 mm	< 10 mm	398	57,7	-	42,3
Streptomycine	≥ 14 mm	< 12 mm	398	86	-	14
Gentamicine	≥ 17 mm	< 11 mm	398	100	-	-
Vancomycine	≥ 17 mm	-	398	100	-	-
Teicoplanine	≥ 17 mm	-	398	100	-	-

La répartition bimodale des CMI indique pour la population sensible une CMI modale à 0,016 µg/ml pour les trois molécules et pour la population résistante, une CMI modale à 1 µg/ml pour la pénicilline et l'amoxicilline, et à 0,5 µg/ml pour le céfotaxime (Figure 13).

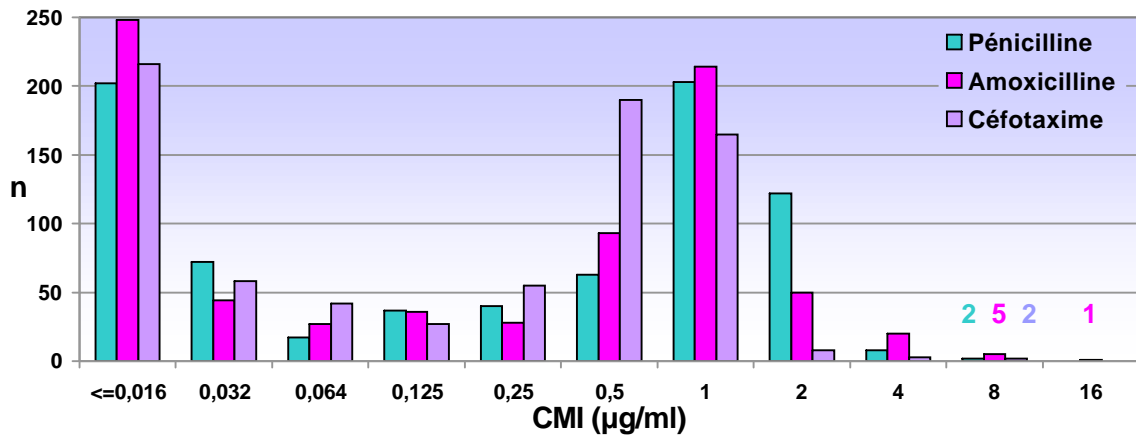


Figure 13 – Distribution des souches de pneumocoques isolées chez l'enfant (< 16 ans) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime (n=766).

Les CMI maximales sont de 8 µg/ml pour la pénicilline et le céfotaxime, et de 16 µg/ml pour l'amoxicilline. C'est chez l'enfant que les souches les plus résistantes à l'amoxicilline sont isolées.

### C. Chez l'adulte

Le taux de sensibilité diminuée (I+R) est de 45,7% pour la pénicilline, 28,8% pour l'amoxicilline, et 14,1% pour le céfotaxime (Tableau 10).

Tableau 10 - Sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'adulte en 2001.

Antibiotique	Valeurs critiques		Souches (n)	%S	%I	%R
	S	R				
Pénicilline	≤ 0,06 mg/L	> 1 mg/L	1052	54,3	35,1	10,6
Amoxicilline	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	1052	71,2	26,8	2
Céfotaxime	≤ 0,5 mg/L	> 2 mg/L	1052	85,9	13,9	0,2
Lévofloxacine	≤ 2 mg/L	> 4 mg/L	959	<b>99,5</b>	-	0,5
Moxifloxacine	≤ 1 mg/L	> 2 mg/L	959	<b>99,7</b>	-	0,3
Erythromycine	≥ 22 mm	< 17 mm	632	55	0,2	44,8
Pristinamycine	≥ 19 mm	-	632	99,8	-	0,2
Triméthoprim	≥ 16 mm	< 12 mm	632	65,6	6,4	28
Sulfamides	≥ 17 mm	< 12 mm	632	83,9	3,5	12,6
Rifampicine	≥ 19 mm	< 14 mm	632	99,7	0,3	-
Chloramphénicol	≥ 23 mm	< 19 mm	632	89,5	0,3	10,2
Tétracycline	≥ 19 mm	< 17 mm	632	71,1	5	23,9
Fosfomycine	≥ 14 mm	-	632	99,2	-	0,8
Kanamycine	≥ 14 mm	< 10 mm	632	69,6	-	30,4
Streptomycine	≥ 14 mm	< 12 mm	632	90,3	-	9,7
Gentamicine	≥ 17 mm	< 11 mm	632	100	-	-
Vancomycine	≥ 17 mm	-	632	100	-	-
Teicoplanine	≥ 17 mm	-	632	100	-	-

Comme chez l'enfant, pour la population sensible, la CMI modale est à 0,016 µg/ml, pour les trois molécules et pour la population résistante, la CMI modale est à 1 µg/ml pour la pénicilline et l'amoxicilline, et à 0,5 µg/ml pour le céfotaxime (Figure 14).

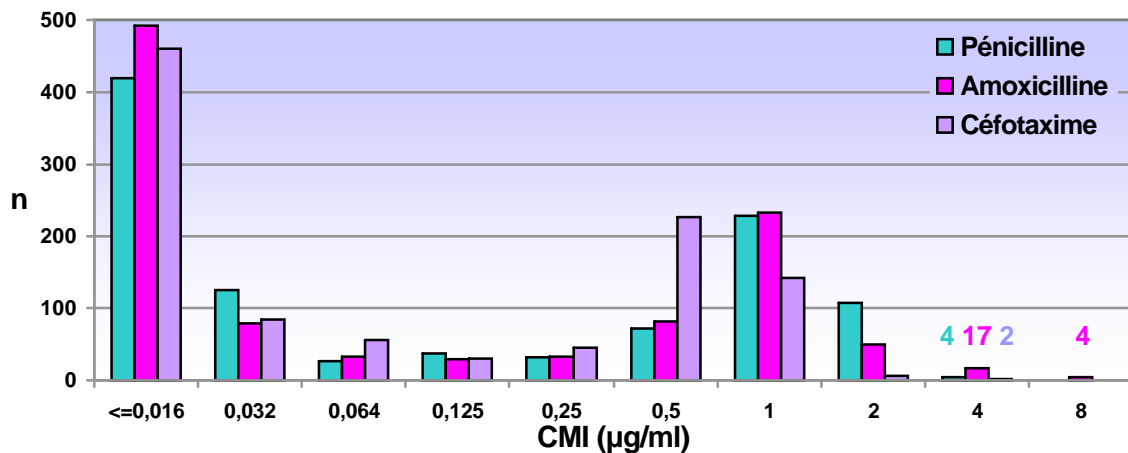


Figure 14 – Distribution des souches de pneumocoques isolées chez l'adulte (≥ 16 ans) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime (n=1052).

Les CMI de pénicilline ou de céfotaxime sont au maximum à 4 µg/ml, celles d'amoxicilline sont à 8 µg/ml. Elles sont inférieures d'une dilution à celles des pneumocoques isolés chez l'enfant.

### Résistance aux macrolides et apparentés

En 2001, 50,8% des pneumocoques sont résistants aux macrolides (Tableau 6).

Il s'agit dans l'immense majorité des cas d'une résistance de type MLS<sub>B</sub> (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) ne représentant que 0,9% des souches étudiées.

La résistance aux macrolides est la résistance le plus souvent associée à la résistance aux bêta-lactamines : parmi les souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines, 87,7% sont résistantes aux macrolides (chez l'enfant 90%, chez l'adulte 86%).

La résistance à la pristinamycine est rare (0,3%).

### Autres marqueurs de résistance

La Figure 15 permet de comparer la fréquence de la résistance à l'érythromycine, à la tétracycline, au chloramphénicol, aux sulfamides, au triméthoprime et à la kanamycine. Après l'érythromycine, c'est la résistance à la kanamycine (62% des souches isolées d'OMA) et au triméthoprime (37 à 50% selon le prélèvement) qui sont les plus fréquentes. La résistance au chloramphénicol est inférieure à 20%. La résistance à la rifampicine est très faible (<1%), touchant 0,2% des souches isolées d'hémoculture, 0,4% des souches isolées de LCR, et aucune souche d'OMA.

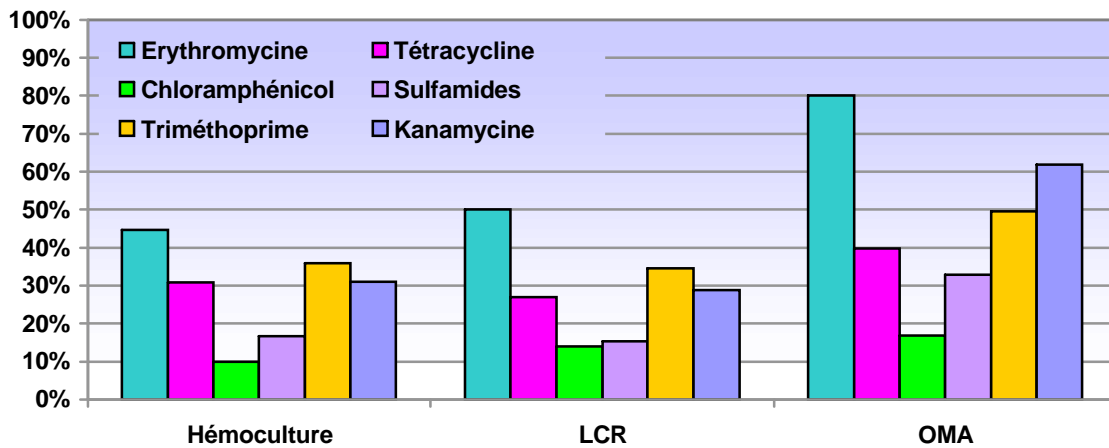


Figure 15 – Fréquence de la résistance (% I+R) aux principaux marqueurs en fonction du site d'isolement.

(La sensibilité aux sulfamides et au triméthoprim a été testée sur gélose MH au sang lysé).

### Résistances associées et multirésistance

La fréquence des souches cumulant la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques est indiquée dans le Tableau 11. Sur les 918 souches étudiées, 318 (34,6%) n'ont aucun marqueur de résistance. Les souches ayant un ou deux marqueurs de résistance ne représentent que 17% (n=160) de l'ensemble et 27% des souches non sauvages. A la diminution de sensibilité aux bêta-lactamines s'ajoute alors le plus souvent la résistance aux macrolides (phénotype PE, 20%), ou la résistance au triméthoprim (phénotype PTP, 9%).

La multi-résistance, définie chez le pneumocoque par la résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques, concerne près de trois quart (73%) des souches non sauvages, et plus de 90% des souches multi-résistantes sont de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines.

Tableau 11 – Multi-résistance et principaux phénotypes de résistance à 7 marqueurs (918 souches étudiées).

Marqueur(s) (n)	Phénotype	n	Sérotypes*
1	Tp	41	1, 4, 31, 9N, 6B, 11A
	P	22	
	E	13	
	Te	5	
2	PE	32	19F, 14, 19A, 6A
	EK	17	
	ETe	15	
	PTp	14	
	ES	1	
<b>Total &lt;3 marqueurs de résistance</b>		<b>160</b>	
3	PETe	31	14, 6B, 23F, 19A, 15A
	PEK	21	14, 6B, 19A, 6A
	EKTe	14	19F, 19A, 6A, 4, 10A
	Divers	18	
4	PETeK	29	14, 19A, 15A, 9V
	PEKTP	14	14, 9V, 19A, 19F
	PETTP	8	
	Divers	28	

Marqueur(s) (n)	Phénotype	n	Sérotypes*
5	PETeKTP	58	<b>9V</b> , 9A, 14
	PETeKSu	38	<b>19A</b> , 14, 24A, 19F
	PEKSuTp	26	<b>14</b> , 19F, 15A
	PETpChSt	15	<b>23F</b> , 19A
	Divers	26	
6	PETeKTPSu	22	<b>14</b> , 19A, 9V
	PEKTPChSt	18	<b>23F</b> , 6B, 23B, 23A, 19A
	Divers	28	
7	PEKTPChStTe	18	<b>23F</b> , 6B, 19A, 23A
	PEKTPChStSu	14	<b>6B</b> , 23F
	Divers	7	
8	PEKTPChStSuTe	7	<b>23F</b> , 6B, 19A
<b>Total multirésistance</b>		<b>440</b>	

\*Le sérotype prédominant est indiqué en gras.

## Résistance aux fluoroquinolones

L'étude de la sensibilité aux fluoroquinolones anti-pneumococciques ayant une indication dans les infections respiratoires (lévofloxacine et moxifloxacine) montre que la fréquence des souches résistantes est actuellement faible, inférieure à 1% (Tableau 6). Cependant parmi les souches classées sensibles (CMI de lévofloxacine  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ , CMI de moxifloxacine  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ) 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 ne confèrent pas de résistance à la lévofloxacine ni à la moxifloxacine, mais ils représentent une étape préalable à la sélection, en cours de traitement, de mutants 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 il nous a paru indispensable de pouvoir détecter correctement de telles souches à risque.

Dans ce but, à partir de nos travaux de recherche, nous avons mis au point un test de détection par l'antibiogramme des différents mécanismes de résistance aux fluoroquinolones. Il repose sur l'utilisation de la péfloxacine 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). Ce protocole (détaillé en Annexe D), qui est réalisé par l'ensemble des ORP depuis juillet 2001, nous permet d'estimer la fréquence des différents mécanismes de résistance pour les souches étudiées (Tableau 13).

Tableau 12 – Fréquence des phénotypes de résistance aux fluoroquinolones.

Phénotype	Prélèvement			Total n=1653	Niveau de résistance
	Bactériémies n=1009	OMA n=302	Méningites n=342		
ParC/E	5 (0,5%)	1 (0,3%)	0 (-)	<b>6 (0,3%)</b>	Bas ou inapparent
Efflux	5 (0,5%)	0 (-)	0 (-)	<b>5 (0,3%)</b>	Bas ou inapparent
GyrA	0 (-)	0 (-)	0 (-)	<b>0 (-)</b>	Bas ou inapparent
ParC/E + GyrA	4 (0,4%)	0 (-)	0 (-)	<b>4 (0,2%)</b>	Haut
<b>Total</b>	<b>14 (1,4%)</b>	<b>1 (0,3%)</b>	0 (-)	<b>15 (0,9%)</b>	-

La CMI modale de la lévofloxacine est de  $1 \mu\text{g/ml}$ , celle de la moxifloxacine est de  $0,25 \mu\text{g/ml}$  (Figure 16). Sur les 1653 souches étudiées, 15 ont un mécanisme de résistance aux fluoroquinolones. Toutes sauf une ont été isolées d'hémoculture, et 13/14 chez l'adulte (âge moyen de 76 ans). Seules deux souches ont été isolées

chez deux nourrissons de 7 et 8 mois. Sur ces 15 souches, 10 sont classées sensibles à la lévofloxacine (CMI de 0,5 à 1 µg/ml) et à la moxifloxacine (CMI de 0,125 à 0,5 µg/ml). Deux souches sur trois ont au moins une résistance associée avec dans ce cas une diminution de sensibilité aux bêta-lactamines (Tableau 12).

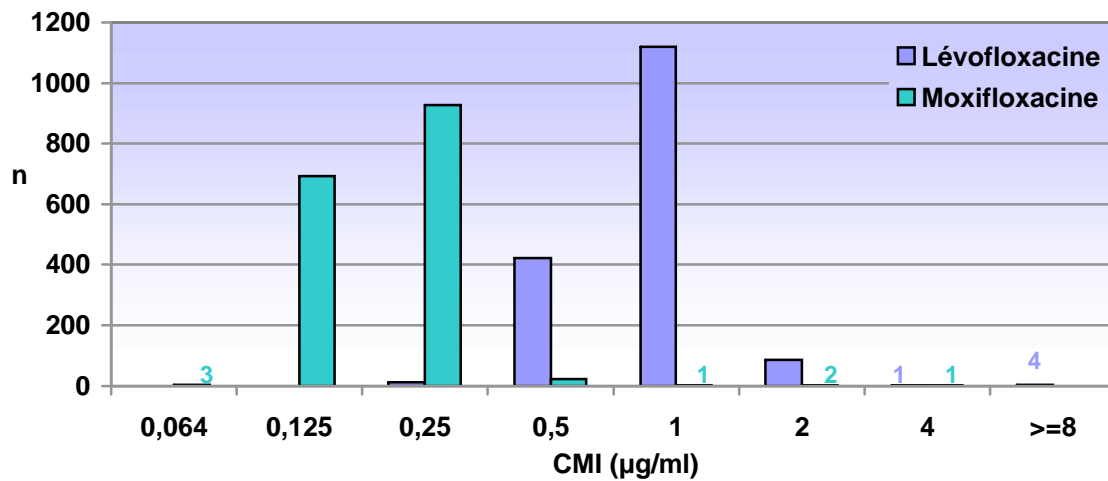


Figure 16 – Sensibilité à la *lévofloxacine* et à la *moxifloxacine* de 1653 souches de *S. pneumoniae* isolées en 2001.

Tableau 13 – Caractéristiques des souches ayant un mécanisme de résistance aux fluoroquinolones

Phénotype	Age (ans)	Sérotype	Site d'isolement	Région	CMI (µg/ml)						Résistance(s) associée(s)
					PEF*	NOR	CIP	SPX	LVX	MFX	
Sauvage	-	-	-	-	8	4	1	0,25	1	0,125	-
Efflux	91	3	Hémoc <sup>o</sup>	Rhône	16	32	8	0,5	2	0,125	-
Efflux	76	23F	Hémoc	Picardie	16	32	4	0,5	2	0,25	P,E,Ch,Tp,St
Efflux	80	3	Hémoc	Arc Alpin	8	32	8	0,5	2	0,25	-
Efflux	87	33F	Hémoc	Bourgogne	8	32	4	1	2	0,5	P
Efflux	0,7	15C	Hémoc	Arc Alpin	16	32	4	1	2	0,5	Tp,Su
ParC	88	23F	Hémoc	Midi-Pyrénées	32	32	4	0,5	1	0,25	P,Ch,Te,Tp,St
ParC	58	8	Hémoc	Picardie	32	≥64	4	1	2	0,25	-
ParC	69	14	Hémoc	Ile de France	32	≥64	4	0,5	2	0,25	P,Tp
ParC	86	9V	Hémoc	Normandie	32	32	4	0,5	2	0,25	P,E,Te,Tp,K
ParC	0,6	23F	OMA	Nord	32	≥64	4	0,5	2	0,25	P,E,Ch,Te,Tp,St,K
ParC	85	7F	Hémoc	Ile de France	≥64	≥64	8	0,5	4	0,125	-
ParC+GyrA	67	9V	Hémoc	Picardie	≥64	≥64	16	≥8	≥8	1	P,Tp
ParC+GyrA	85	9V	Hémoc	Provence	≥64	≥64	16	≥8	≥8	≥2	P,Tp
ParC+GyrA	86	14	Hémoc	Bourgogne	≥64	≥64	16	≥8	≥8	≥2	P,E,Tp,Su,F
ParC+GyrA	30	23F	Hémoc	Languedoc	≥64	≥64	≥32	≥8	≥8	≥2	P,E,Ch,Tp,St

\*PEF, péfloxacin ; NOR, norfloxacine ; CIP, ciprofloxacine ; SPX, sparfloxacine ; LVX, lévofloxacine ; MFX, moxifloxacine ; P, pénicilline ; E, érythromycine ; Ch, chloramphénicol ; Te, tétracycline ; Tp, triméthoprime ; St, streptomycine ; Su, sulfamides ; K, kanamycine ; F, fosfomycine.

<sup>o</sup>Hémoc, hémoculture ; OMA, otite moyenne aiguë.

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 par l'ONERBA. Après analyse, les résultats de l'année 2001 (sensibilité aux antibiotiques : distribution des CMI, % de sensibilité) seront disponibles sur le site WEB de l'ONERBA (<http://www.onerba.org>).

### **Résistance aux antibiotiques et sérotypes**

Les sérotypes 6B, 14, 19A, 19F, 23F et 9V sont le plus souvent de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines, et seule une petite proportion des souches de ces sérotypes a conservé sa sensibilité naturelle. Ces sérotypes sont retrouvés aussi bien en portage qu'au cours d'infections et sont les sérotypes prédominants chez l'enfant, surtout avant 2 ans. Les souches les plus résistantes aux bêta-lactamines sont de sérotype 14 ou 23F. Les souches de sérotype 9V ont la particularité d'avoir presque toujours une CMI de pénicilline de 1 µg/ml.

A l'inverse, d'autres sérotypes sont constamment sensibles à la pénicilline : 1, 3, 4 et 8. Ces sérotypes sont responsables d'infections mais ne sont pratiquement jamais retrouvés dans les études de portage.

Enfin, certains sérotypes ne sont que rarement isolés. Ceux-ci sont le plus souvent sensibles aux bêta-lactamines. Cependant certains font exception : les sérotypes 15A, 15C, 19C, 23B, 24A et 29 se composent presque exclusivement de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline (Figure 17). Ceux-ci sont retrouvés aussi bien chez l'adulte (Figure 18) que chez l'enfant (Figure 19). Ce sont ces sérotypes qu'il convient de surveiller tout particulièrement.



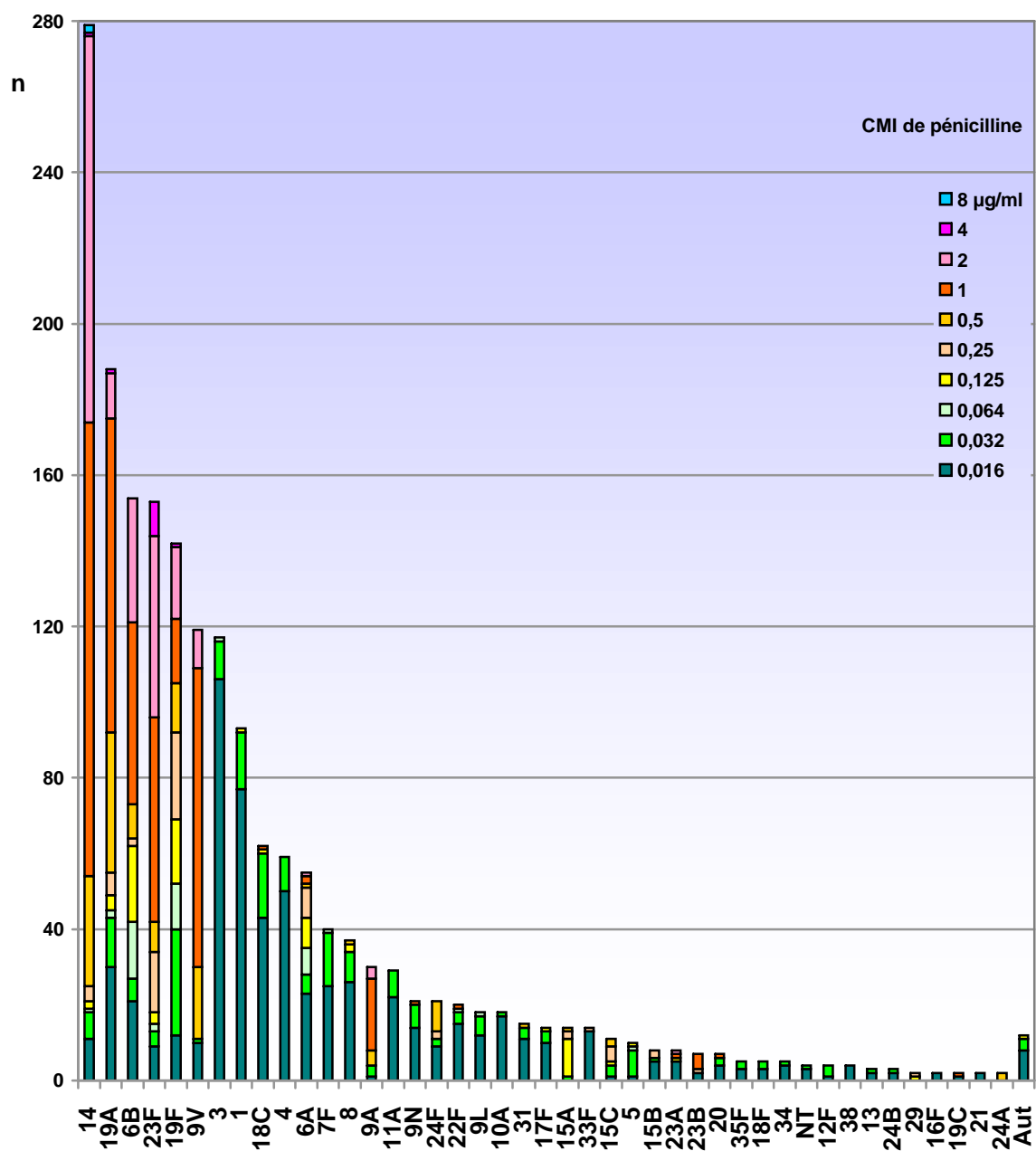


Figure 17 - Sensibilité à la *pénicilline* des sérotypes de *S. pneumoniae* (n=1818) isolés en 2001

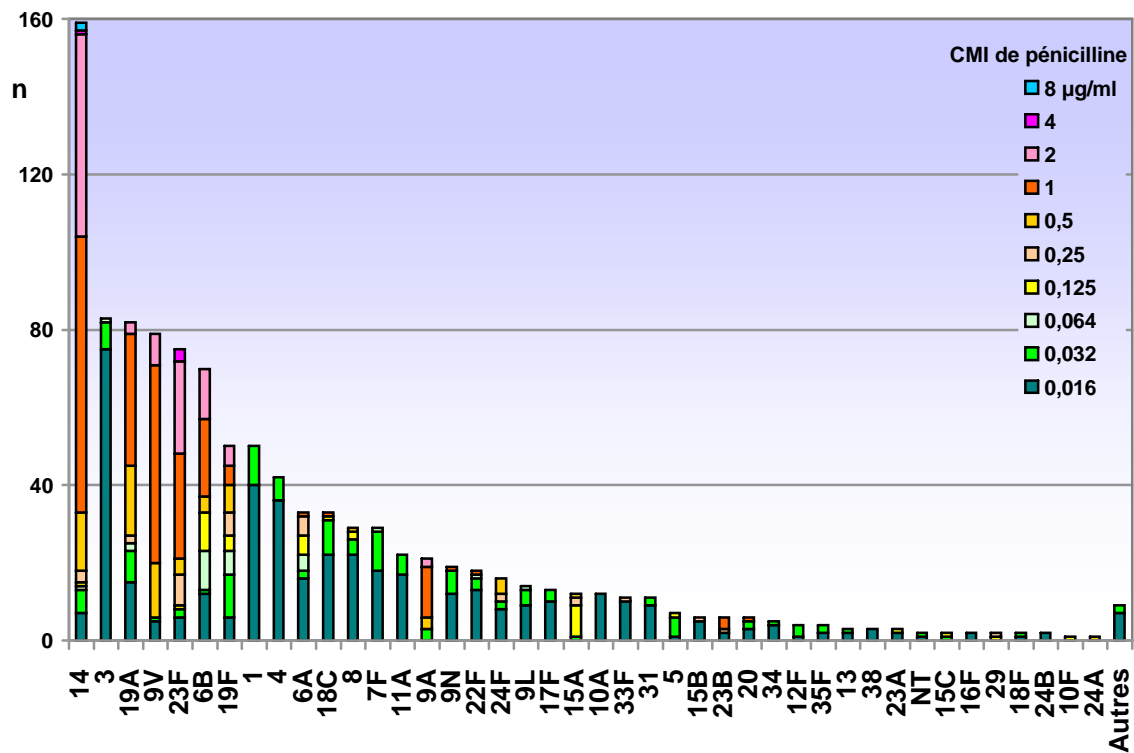


Figure 18 – Sensibilité à la *pénicilline* des sérotypes de *S. pneumoniae* (n=1052) isolés chez l'adulte ( $\geq 16$  ans).

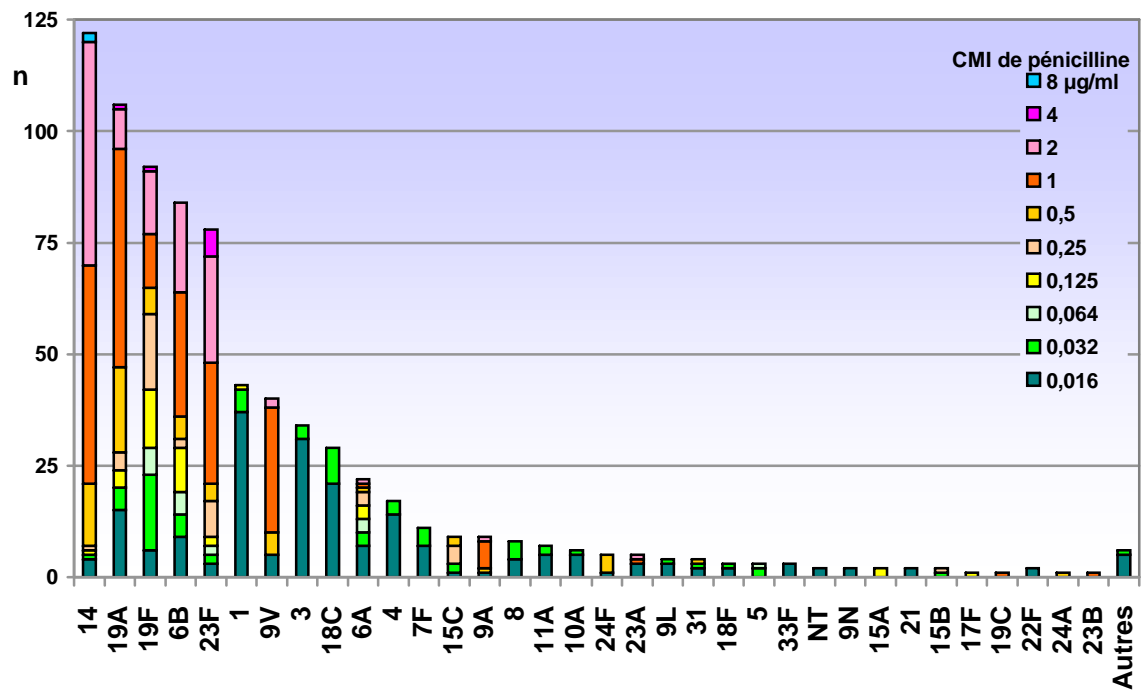


Figure 19 – Sensibilité à la *pénicilline* des sérotypes de *S. pneumoniae* (n=766) isolés chez l'enfant (< 16 ans).

## Surveillance des infections à *S. pneumoniae*

Pour l'année 2001, notre effort a porté 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 nombre de ces cas enregistrés au CNRP, permettra d'estimer sur la base des données sanitaires existant (PMSI, InVS, ..) le nombre de cas d'infections et leur incidence.

### Méningites à *S. pneumoniae*

En 2001, 350 cas de méningites ont été signalés au CNRP et 342 souches de *S. pneumoniae* isolées au cours de ces méningites ont été transmises. D'après les données de l'InVS, ce chiffre recouvre 60% des cas annuels de méningites à pneumocoque en France.

### Répartition géographique

La répartition géographique des cas de méningites à *S. pneumoniae* est indiquée en Figure 20.

Si 10 à 22 cas de méningites ont été observés dans la plupart des régions en 2001, l'Ile-de-France et Rhône-Alpes en ont compté plus de 40, et à l'inverse, c'est en Limousin et Franche-Comté que le plus petit nombre de cas ont été observés.

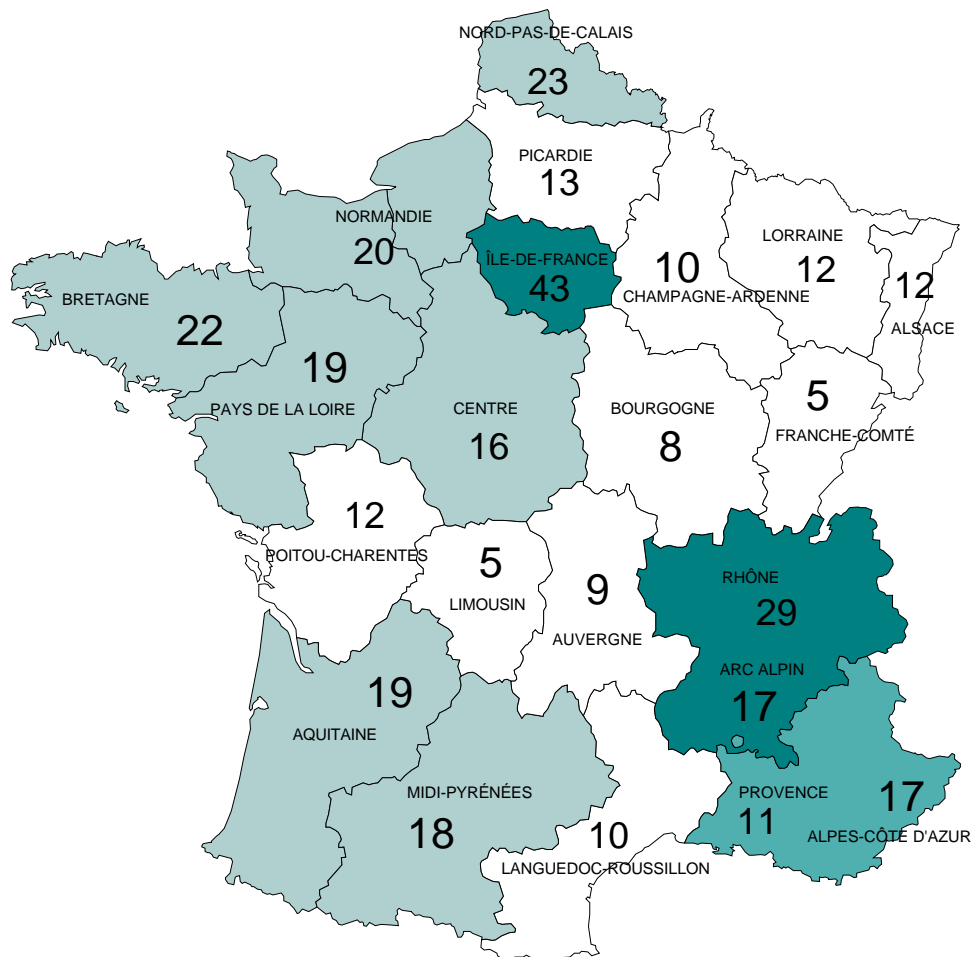


Figure 20 – Répartition régionale de 350 cas de méningites à pneumocoque signalés au CNRP en 2001

Dans leur immense majorité, ces cas de méningite ont été signalés au CNRP par les laboratoires participant aux ORP (n=337) (Tableau 5), 13 cas ayant été signalés par des correspondants ne participant pas à ce

réseau. (Tableau 3, Figure 21). Dans 347 cas, la souche avait été isolée dans le LCR et dans 3 cas à partir d'hémocultures.

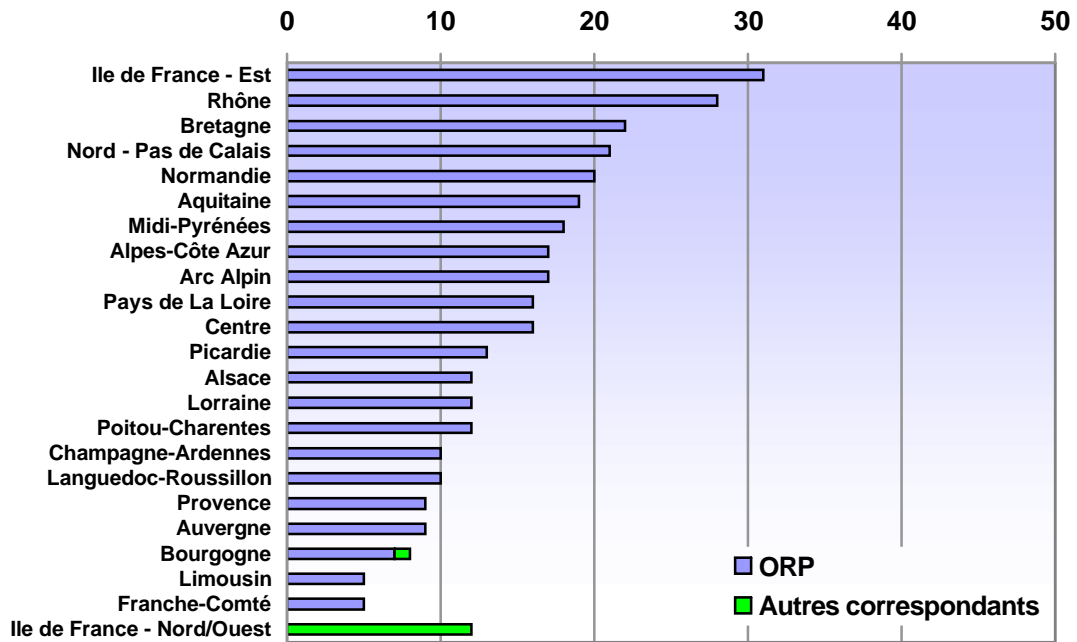


Figure 21 – Origine du signalement des 350 cas de méningite à *S. pneumoniae* au CNRP en 2001.

### Distribution temporelle

La Figure 22 permet d'apprécier la répartition sur l'année de 348 cas de méningites à pneumocoque dont la date de diagnostic était renseignée. C'est durant les mois d'hiver (janvier, février et décembre) qu'ont été enregistrés le plus de cas.

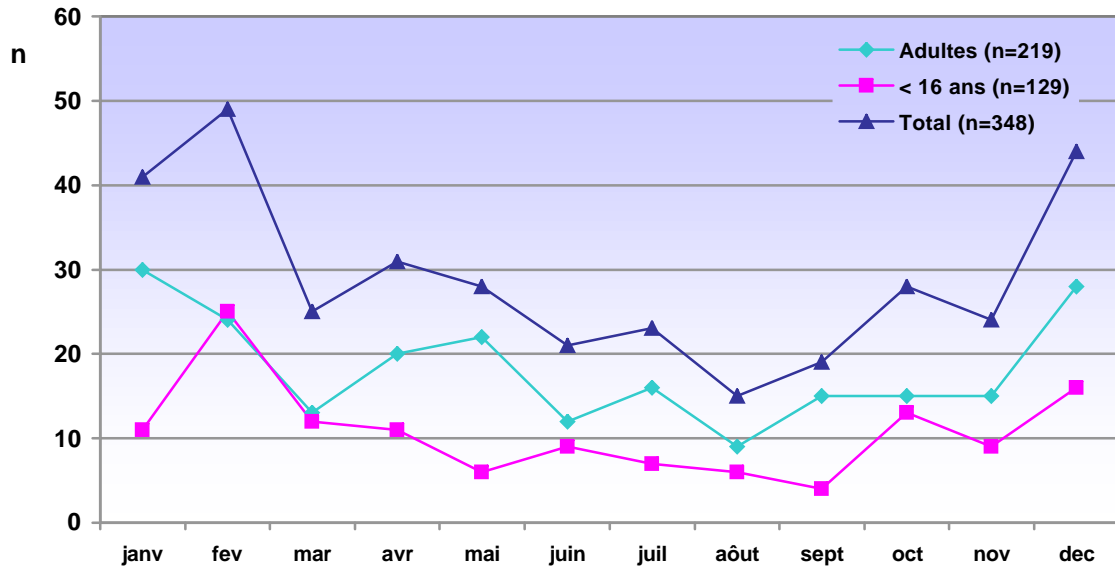


Figure 22 - Fréquence mensuelle des méningites à pneumocoque en France en 2001.

## Répartition par classes d'âges

Les méningites à pneumocoque sont observées à tous les âges, mais concernent surtout les jeunes enfants de 2 à 12 mois, ainsi que les adultes après 30 ans (Figure 23, Figure 24).

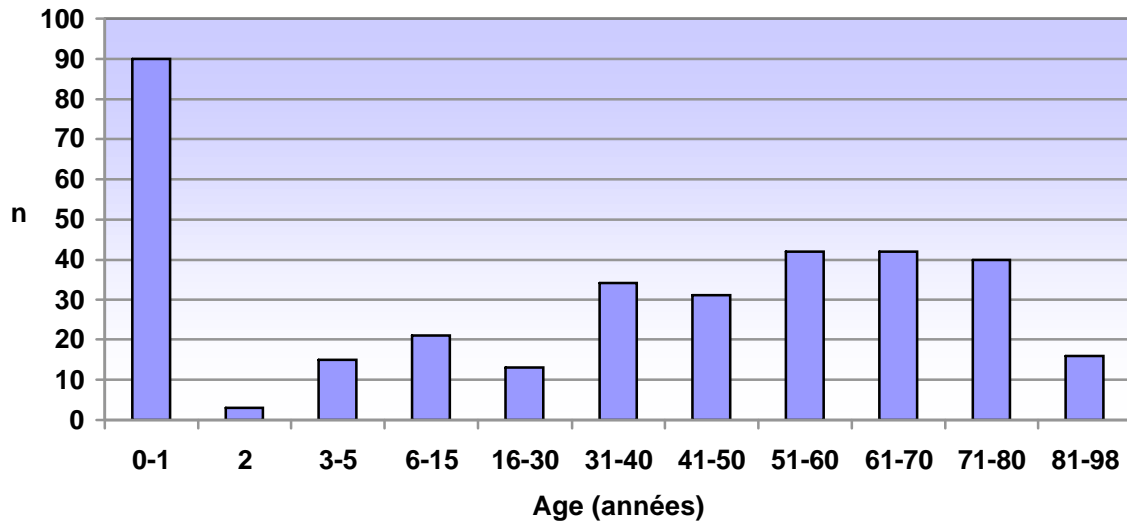


Figure 23 – Fréquence des méningites à pneumocoque (n=347) en fonction de l'âge.

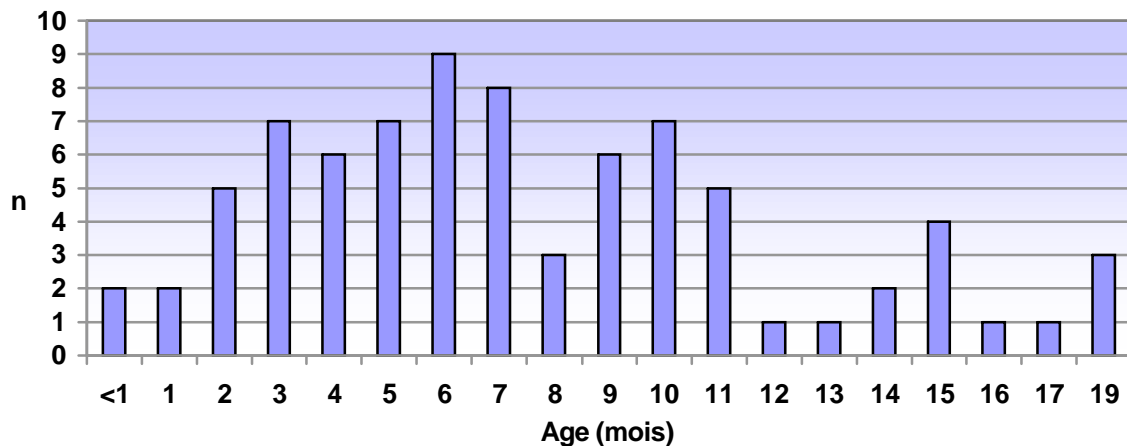


Figure 24 – Fréquence des méningites à pneumocoque en fonction de l'âge chez les enfants de moins de 2 ans pour lesquels l'âge en mois était renseigné (n=78 sur 90).

## Surveillance des sérotypes

Cette surveillance revêt un intérêt particulier en raison de l'introduction récente du vaccin conjugué heptavalent Prevenar® dans le programme vaccinal des nourrissons.

Au total, le CNRP a reçu 342 souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites en 2001. Les sérotypes de ces souches sont présentés dans la Figure 25. Quatre sérotypes représentent chacun près de 10% des souches de méningites : 6B, 14, 23F et 19F. Viennent ensuite les sérotypes 19A, 3, 6A et 9V (près de 6%) parmi lesquels seul le 6A n'est pas un sérotype vaccinal. Ceci explique que la couverture sérotypique du vaccin 23-valent atteigne 80% chez l'adulte (Figure 26), et 77% chez l'enfant à partir de 2 ans (Figure 29). Chez l'enfant de moins de 24 mois, la couverture sérotypique du vaccin conjugué heptavalent atteint près de 64% (Figure 28).

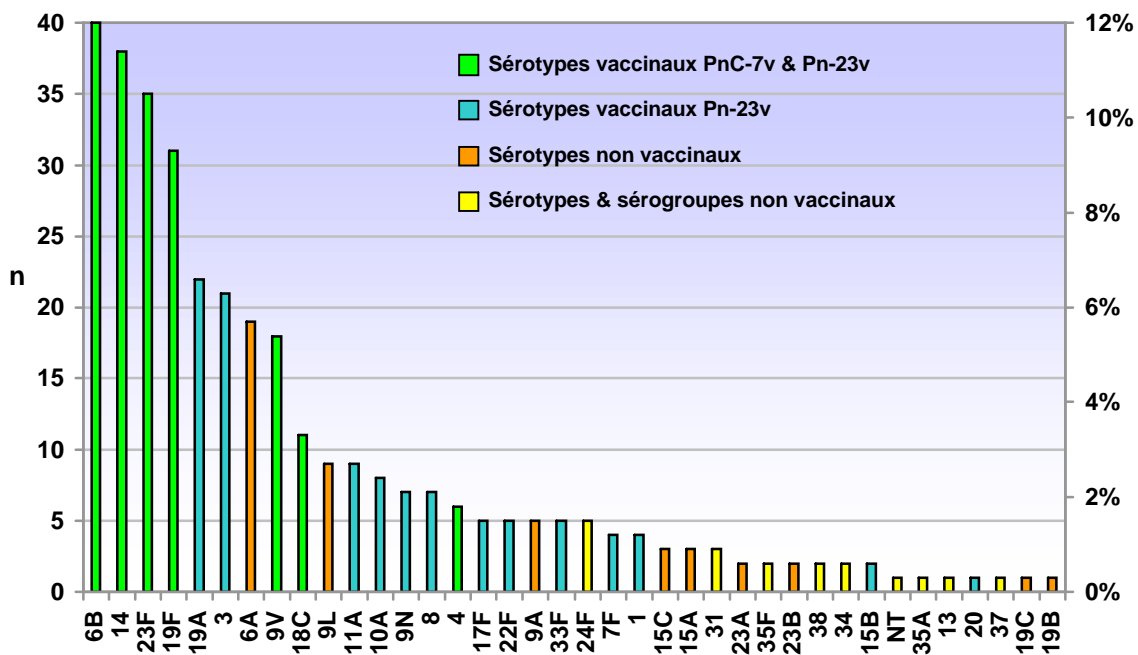


Figure 25 - Fréquence des sérotypes isolés de méningites en 2001 (n=342)

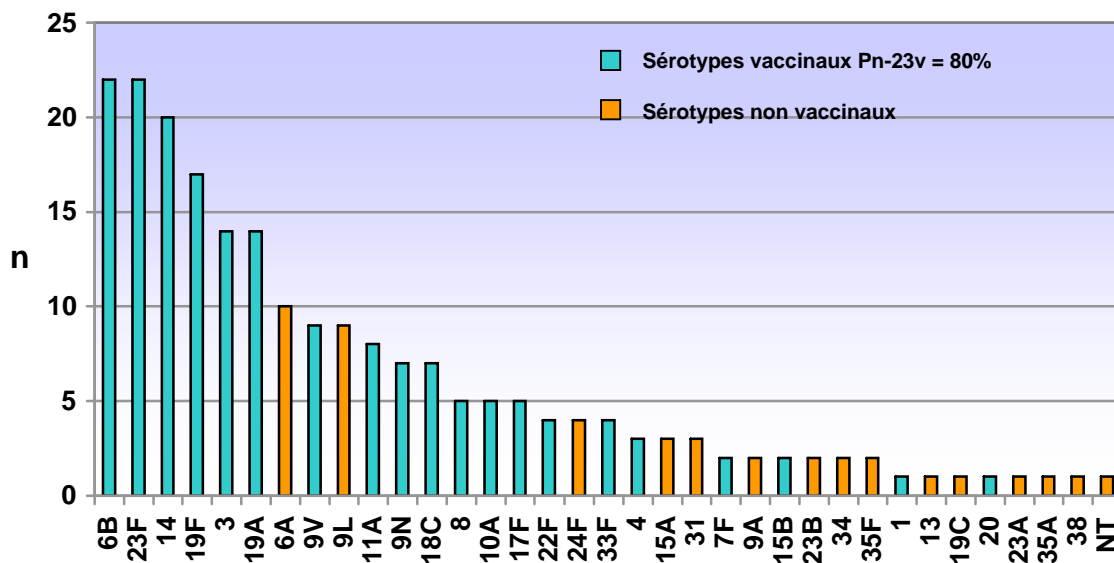


Figure 26 – Fréquence des sérotypes isolés de méningites chez l'adulte (n=215)

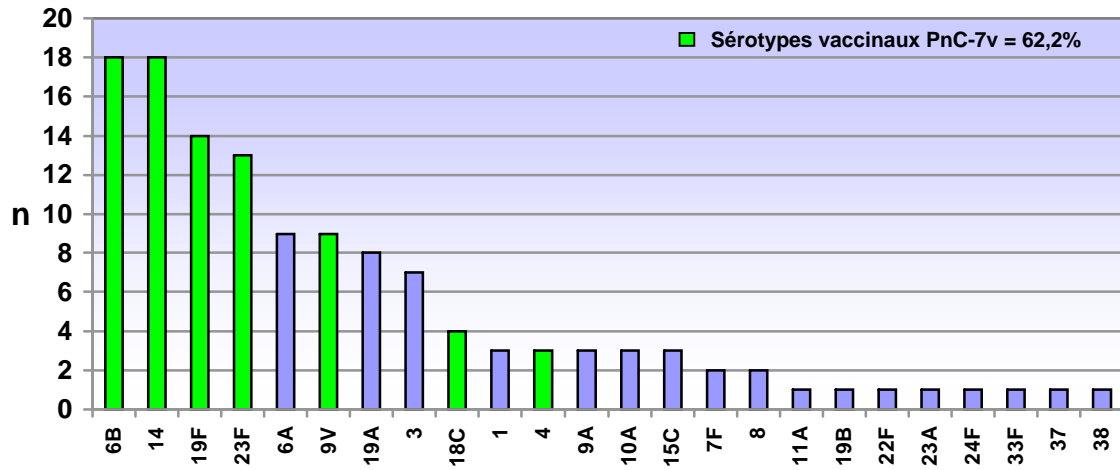


Figure 27 - Fréquence des sérotypes isolés de méningites chez l'enfant (< 16 ans) (n=127)

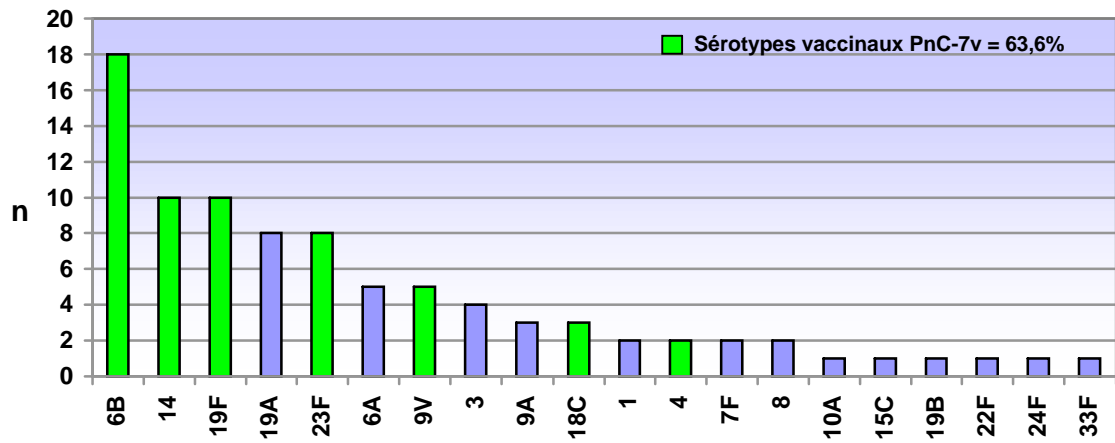


Figure 28 - Fréquence des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites chez l'enfant âgé de moins de 24 mois (n=88).

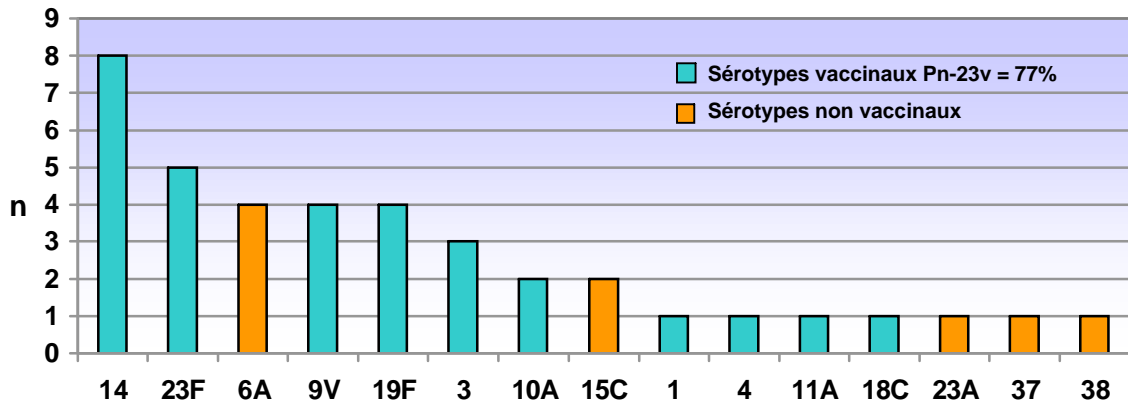


Figure 29 - Fréquence des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites chez l'enfant âgé de 2 à 15 ans (n=39).

### Activité comparée des bêta-lactamines

La Figure 30 montre la distribution des souches de méningites en fonction de leurs CMI de bêta-lactamines.

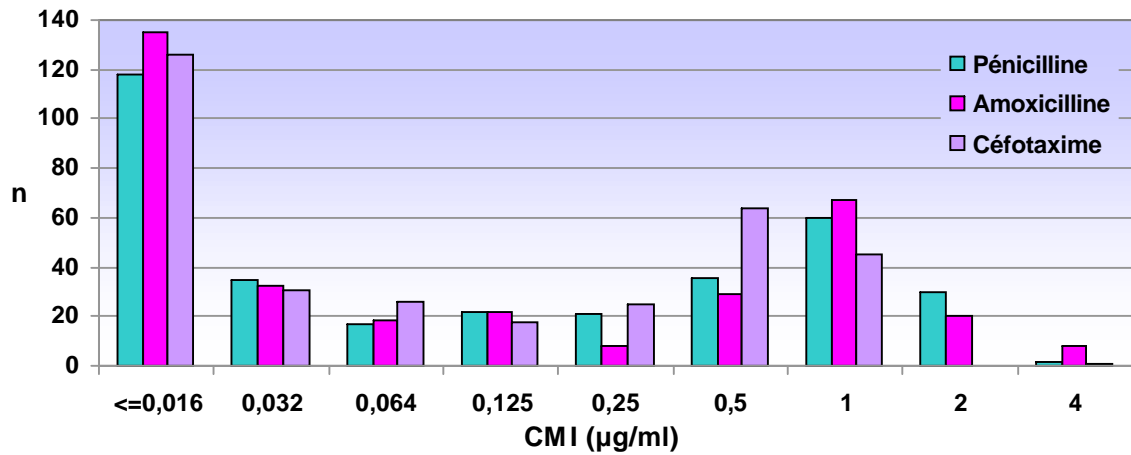


Figure 30 – Distribution des souches isolées de méningites (n=341) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.

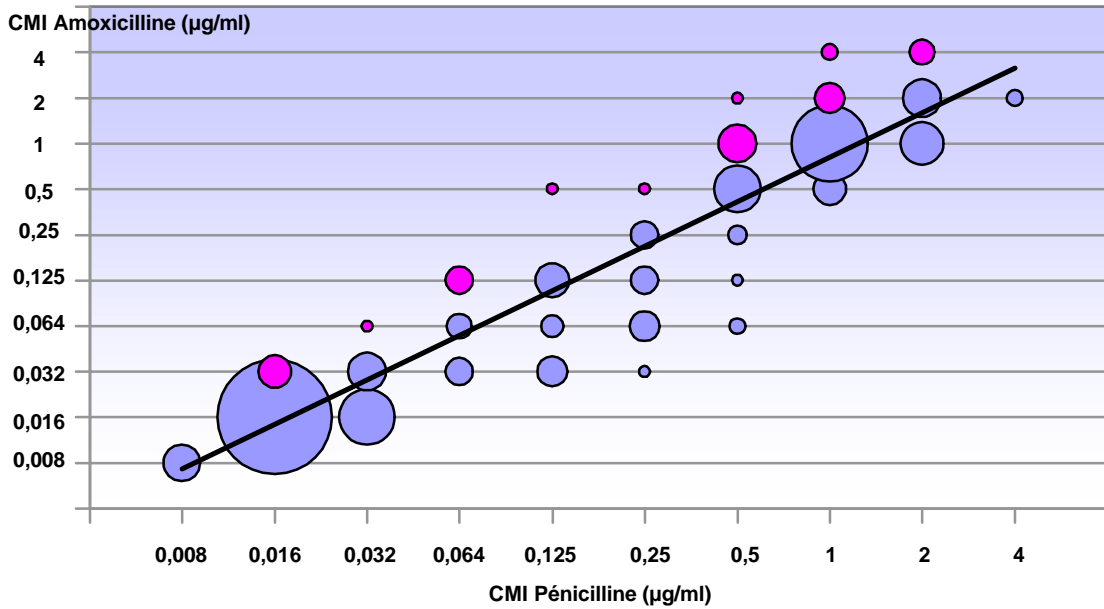


Figure 31 – Comparaison de la sensibilité à la **pénicilline** et à l'**amoxicilline** des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites (n=342). Les bulles rouges indiquent les souches ayant une CMI d'amoxicilline supérieure à la CMI de pénicilline



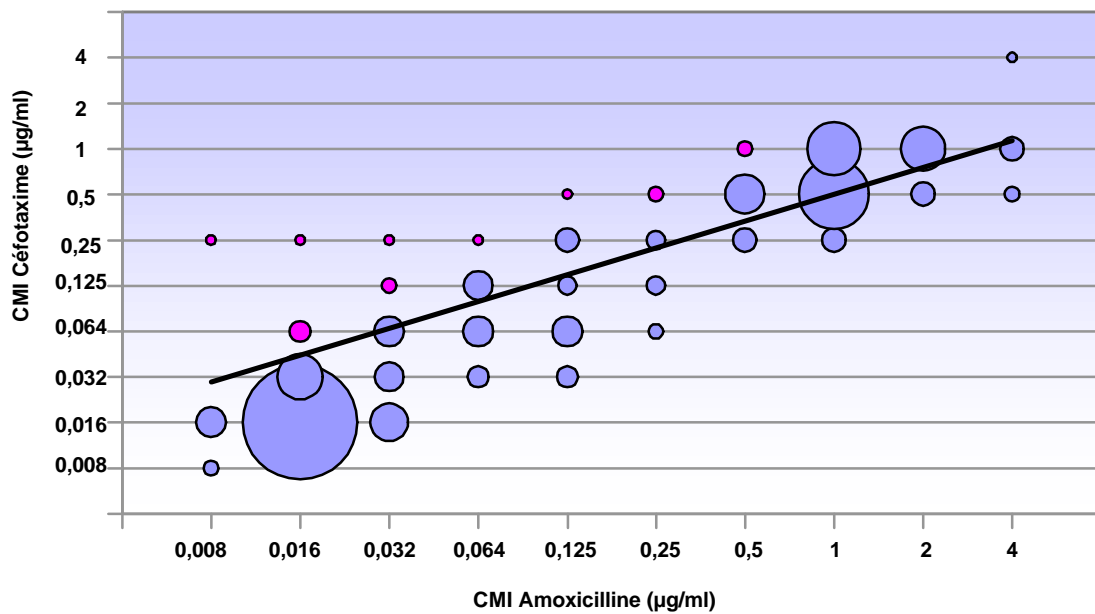


Figure 32 - Comparaison de la sensibilité à l'amoxicilline et au céfotaxime des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites (n=342). Les bulles rouges indiquent les souches ayant une CMI de céfotaxime supérieure d'au moins deux dilutions à la CMI d'amoxicilline

#### Activité des fluoroquinolones

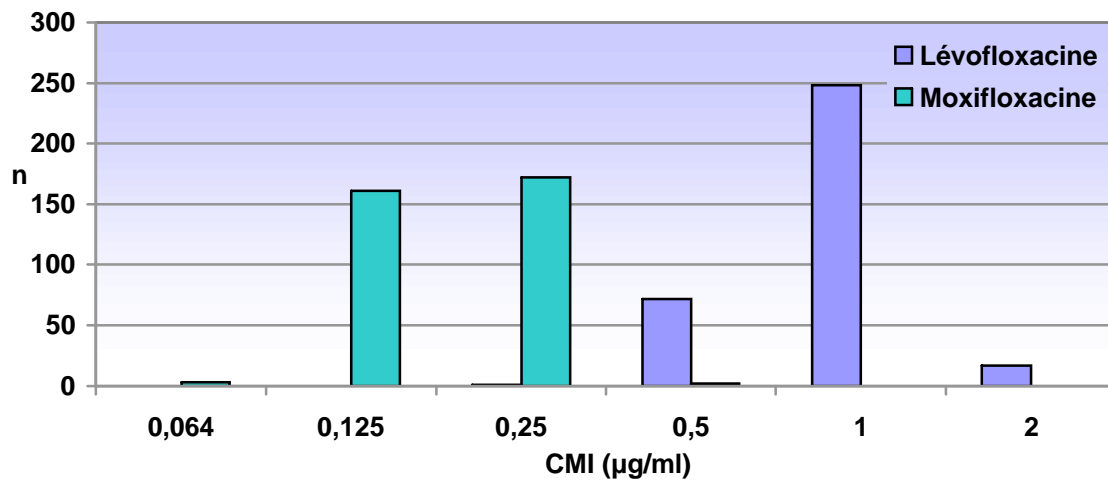


Figure 33 – Sensibilité aux fluoroquinolones des souches de *S. pneumoniae* isolées de méningites (n=338)

#### Résistance aux bêta-lactamines des sérotypes isolés de méningites

Les figures 34 à 36 pour l'enfant, et 37 à 39 pour l'adulte, permettent de comparer la sensibilité de chaque sérotype à la pénicilline, à l'amoxicilline et au céfotaxime.

Deux souches (1 adulte et 1 enfant) de sérotype 3, sérotype réputé pathogène au moins en raison de la production d'une volumineuse capsule et jusqu'ici régulièrement sensible aux antibiotiques, présentent la particularité d'avoir des CMI de céfotaxime augmentées (CMI = 0,25 µg/ml) et supérieures aux CMI d'amoxicilline (0,008 et 0,032 µg/ml) et de pénicilline (0,008 et 0,064 µg/ml).

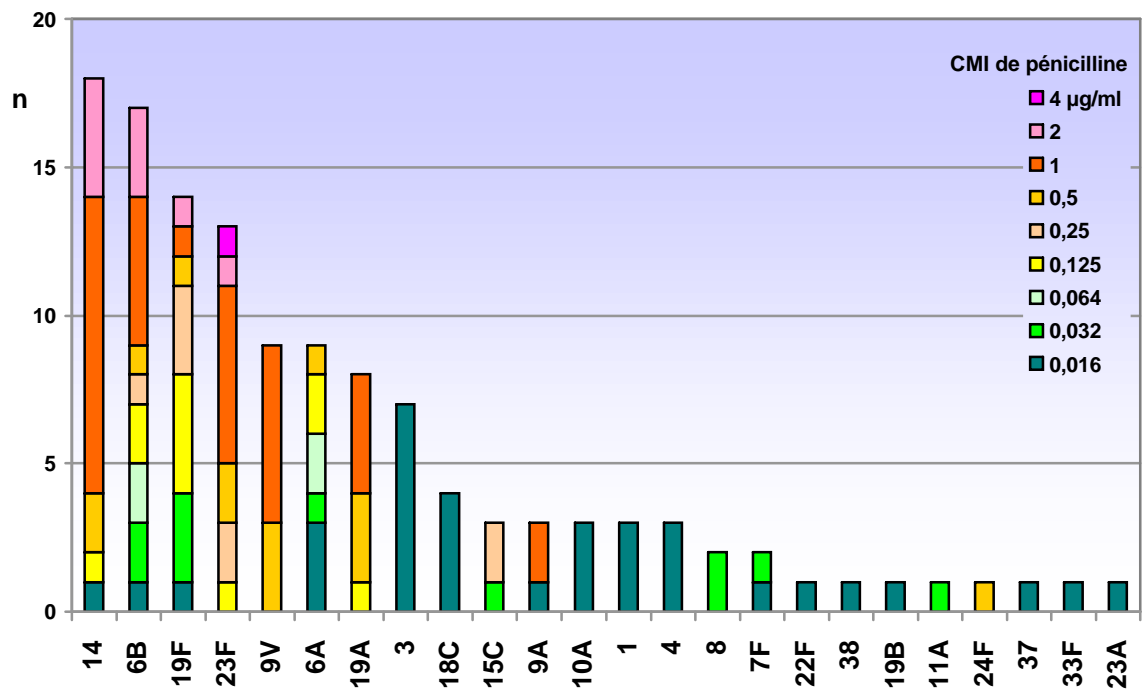


Figure 34 – Sensibilité à la *pénicilline* des sérotypes isolés de méningite chez l'enfant (< 16 ans) (n=126).

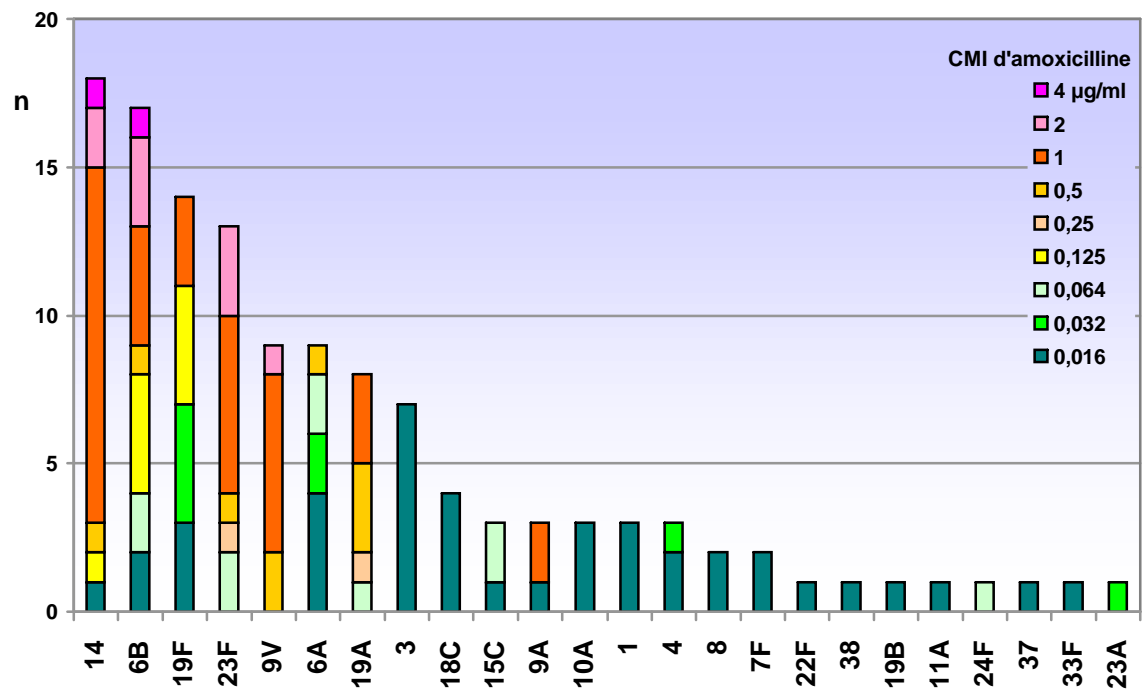


Figure 35 - Sensibilité à l'*amoxicilline* des sérotypes isolés de méningite chez l'enfant (< 16 ans) (n=126).

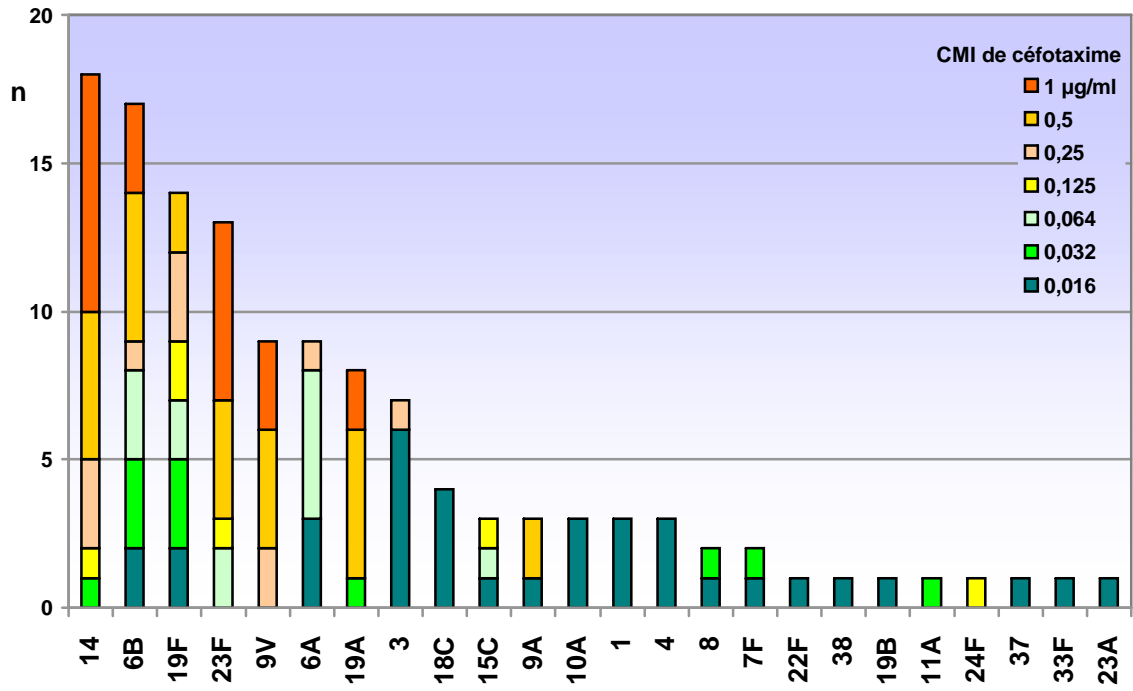


Figure 36 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de méningite chez l'enfant (< 16 ans) (n=126).

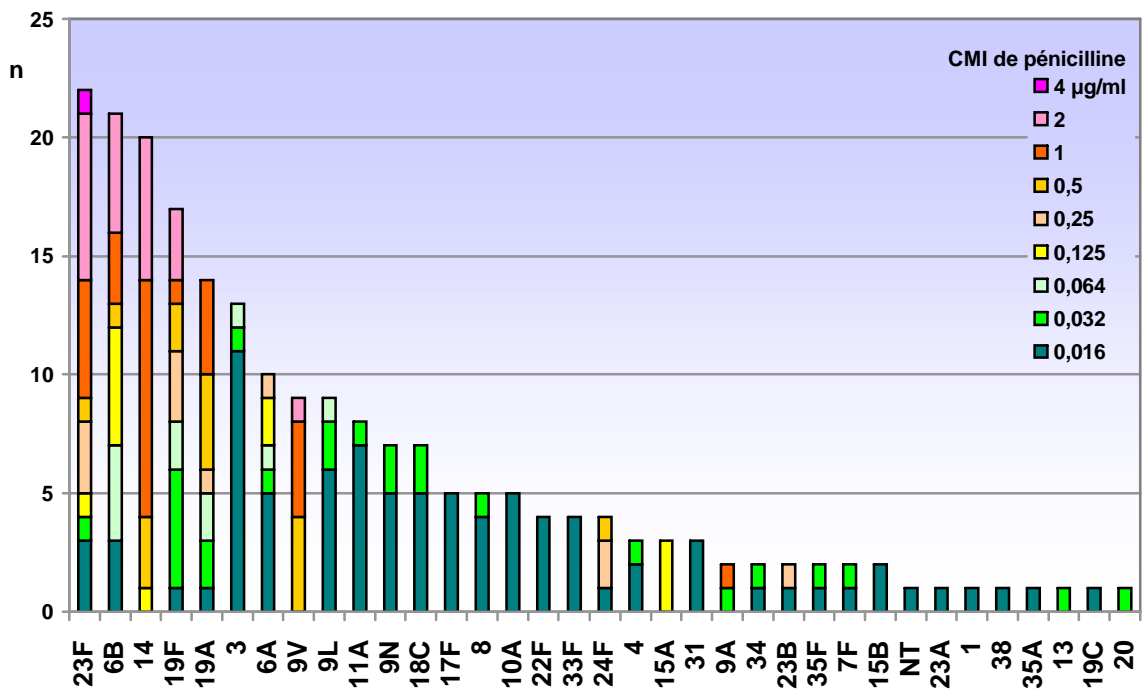


Figure 37 - Sensibilité à la pénicilline des sérotypes isolés de méningites chez l'adulte (≥ 16 ans) (n=213).

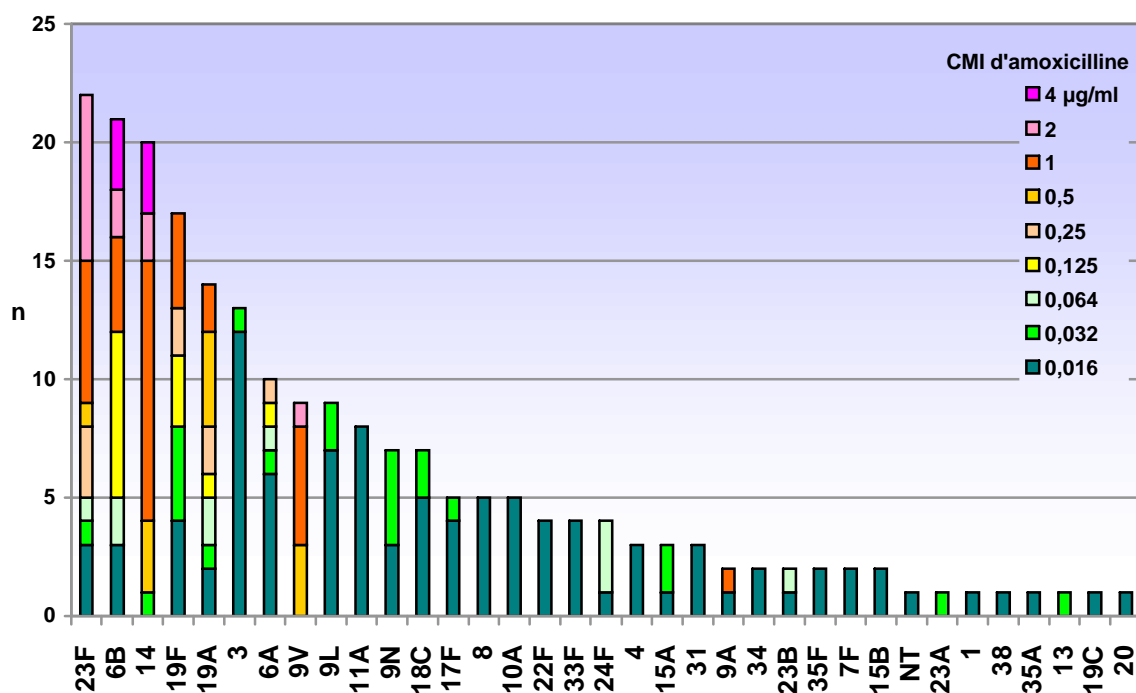


Figure 38 - Sensibilité à l'amoxicilline des sérotypes isolés de méningites chez l'adulte ( $\geq 16$  ans) (n=213).

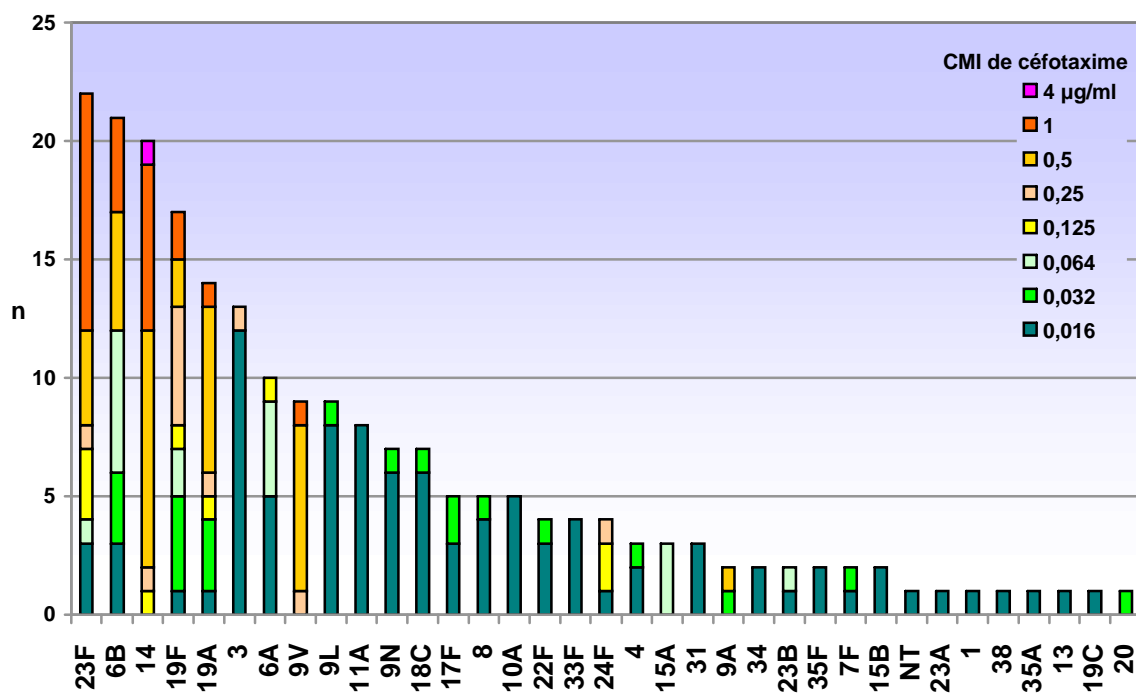


Figure 39 - Sensibilité au céfotaxime des sérotypes isolés de méningites chez l'adulte ( $\geq 16$  ans) (n=213).

## Infections sévères à pneumocoques (méningites et bactériémies)

### Etude comparée de la résistance aux antibiotiques

La fréquence des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline est un peu plus faible pour les souches isolées de méningites que pour celles isolées d'hémoculture chez l'adulte (42,2% vs 46,6%). La tendance est inversée chez l'enfant (61,1% vs 45,7%) (Tableau 14).

Tableau 14 – Sensibilité aux *bêta-lactamines*, à l'*érythromycine* et aux *fluoroquinolones* des souches de pneumocoques isolées de *bactériémies*, *méningites* et *OMA* chez l'enfant (< 16 ans) et chez l'adulte (≥ 16 ans).

Résistance	Bactériémies				Méningites				OMA	
	Adulte (≥ 16 ans)		Enfant		Adulte (≥ 16 ans)		Enfant		Enfant	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Pénicilline</b>	<b>(n=841)</b>		<b>(n=295)</b>		<b>(n=211)</b>		<b>(n=126)</b>		<b>(n=345)</b>	
S	449	53,4%	160	54,2%	122	57,8%	49	38,9%	82	23,8%
I	304	36,1%	93	31,5%	66	31,3%	67	53,2%	183	53,0%
R	88	10,5%	42	14,2%	23	10,9%	10	7,9%	80	23,2%
I+R	392	46,6%	135	45,7%	89	42,2%	77	61,1%	263	76,2%
<b>Amoxicilline</b>	<b>(n=841)</b>		<b>(n=295)</b>		<b>(n=211)</b>		<b>(n=126)</b>		<b>(n=345)</b>	
S	588	69,9%	213	72,2%	160	75,8%	79	62,7%	184	53,3%
I	238	28,3%	74	25,1%	45	21,3%	45	35,7%	145	42,0%
R	15	1,8%	8	2,7%	6	2,8%	2	1,6%	16	4,6%
I+R	253	30,1%	82	27,8%	51	24,1%	47	37,3%	161	46,6%
<b>Céfotaxime</b>	<b>(n=841)</b>		<b>(n=295)</b>		<b>(n=211)</b>		<b>(n=126)</b>		<b>(n=345)</b>	
S	717	85,3%	244	82,7%	185	87,7%	104	82,5%	240	69,6%
I	123	14,6%	49	16,6%	25	11,8%	22	17,5%	102	29,6%
R	1	0,1%	2	0,7%	1	0,5%	-	-	3	0,9%
I+R	124	14,7%	51	17,3%	26	12,3%	22	17,5%	105	30,5%
<b>Erythromycine</b>	<b>(n=452)</b>		<b>(n=154)</b>		<b>(n=180)</b>		<b>(n=102)</b>		<b>(n=142)</b>	
S	248	54,9%	88	57,1%	100	55,6%	43	42,2%	28	19,7%
I	1	0,2%	0	-	0	-	0	-	1	0,7%
R	203	44,9%	66	42,9%	80	44,4%	59	57,8%	113	79,6%
<b>Fluoroquinolones</b>	<b>(n=746)</b>		<b>(n=265)</b>		<b>(n=210)</b>		<b>(n=126)</b>		<b>(n=302)</b>	
S (sauvage)	733	98,3%	264	99,6%	210	100%	126	100%	301	99,7%
I (ParC ou efflux)	9	1,2%	1	0,4%	0	-	0	-	1	0,3%
R (ParC + GyrA)	4	0,5%	0	-	0	-	0	-	0	-

En ce qui concerne l'amoxicilline, 24,1% des souches de méningite sont de sensibilité diminuée chez l'adulte (vs 30,1% dans les bactériémies), alors que ce chiffre atteint 37,3% chez l'enfant. Quelque soit l'âge, le pourcentage de souches de bactériémies ou de méningites résistantes à l'amoxicilline reste faible : moins de 2% chez l'enfant, et moins de 3% chez l'adulte. Par contre, ce pourcentage est sensiblement plus élevé parmi les souches responsables d'OMA (4,6%).

En ce qui concerne le céfotaxime, qui est l'antibiotique recommandé en 1<sup>ère</sup> intention dans le traitement des méningites, le pourcentage de souches sensibles dépasse 80%. Les souches résistantes au céfotaxime sont très rares chez l'adulte (0,5% des méningites et 0,1% des bactériémies). Nous n'en n'avons pas trouvé chez l'enfant.

La Figure 40 permet de comparer la distribution des CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime pour les souches isolées de bactériémies.

### Activité comparée des bêta-lactamines

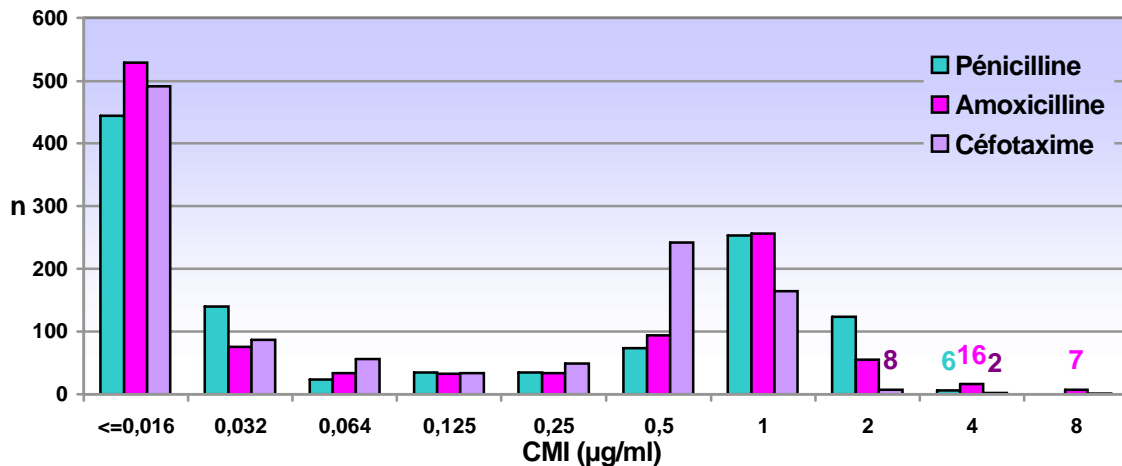


Figure 40 - Distribution des souches isolées de *bactériémies* (n=1134) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.

### Otitis moyennes aiguës (OMA)

Ce sont les souches isolées d'OMA qui sont les plus résistantes aux antibiotiques (Tableau 14). Les principales raisons en sont :

- la pression de sélection : c'est chez les enfants de moins de 3 ans que le volume de prescription d'antibiotiques, bêta-lactamines et macrolides, est le plus important.
- chez l'enfant, c'est dans cette classe d'âge que l'on isole le plus souvent des pneumocoques.
- il s'agit dans la très grande majorité des cas de souches responsables d'un échec thérapeutique qui a justifié une paracentèse pour examen bactériologique du pus d'oreille.

Ainsi pour les souches isolées d'OMA, la fréquence de sensibilité diminuée atteint 76,2% pour la pénicilline, 46,6% pour l'amoxicilline et 30,5% pour le céfotaxime. Plus de 80% des souches isolées d'OMA sont résistantes aux macrolides et parmi les souches sensibilité diminuée aux bêta-lactamines, 95% sont résistantes aux macrolides (Tableau 14).

Les CMI extrêmes vont jusqu'à 16 µg/ml pour l'amoxicilline, et jusqu'à 8 µg/ml pour la pénicilline et le céfotaxime (Figure 41).

L'étude comparative des CMI de pénicilline et d'amoxicilline pour une souche donnée montre que 8,4% des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline (22/263) ont une CMI d'amoxicilline plus élevée, vs 4,9% pour les souches sensibles (4/82) (Figure 42).

Le Tableau 15 permet de comparer la fréquence des souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines par classe d'âge.

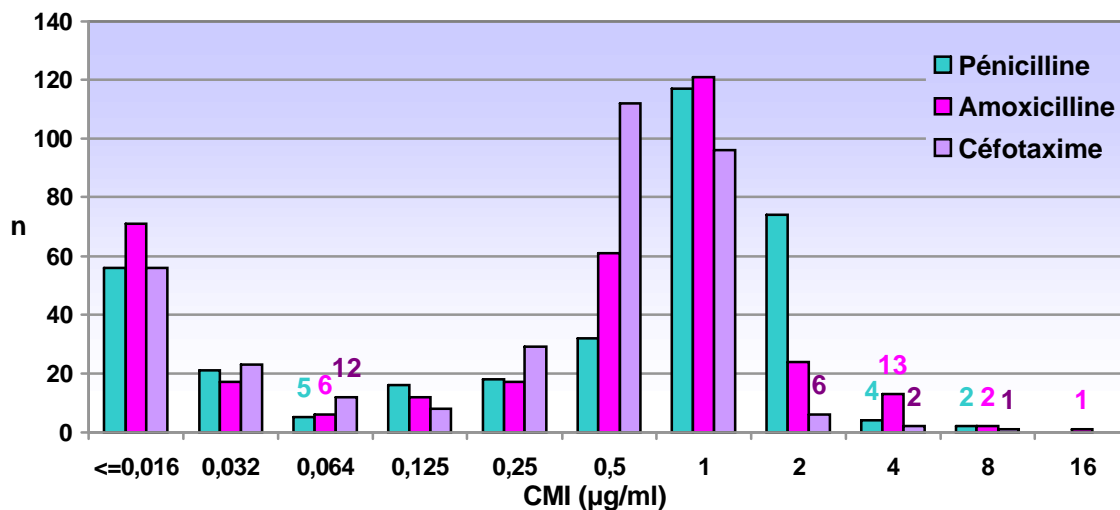


Figure 41 - Distribution des souches isolées d'OMA chez l'enfant (n=345) en fonction de leur CMI de pénicilline, amoxicilline et céfotaxime.

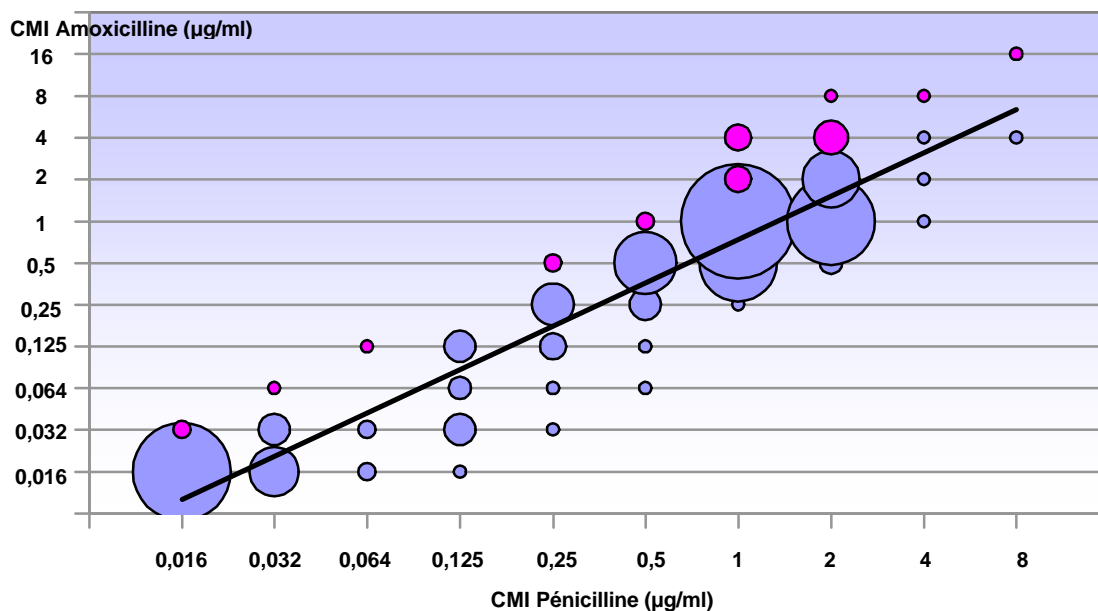


Figure 42 – Comparaison de la sensibilité à la **pénicilline** et à l'**amoxicilline** des souches de *S. pneumoniae* isolées d'OMA (n=345). Les bulles rouges indiquent les souches ayant une CMI d'amoxicilline supérieure à la CMI de pénicilline

Tableau 15 – Sensibilité aux bêta-lactamines des souches isolées chez l'enfant, par groupe d'âge et type d'infection.

Age (ans)		Bactériémies (n=295)			Méningites (n=126)			OMA (n=344)		
		PEN	AMX	CTX	PEN	AMX	CTX	PEN	AMX	CTX
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<1	n	74			68			140		
	S*	31 (42)	51 (69)	55 (74)	24 (35)	41 (60)	58 (85)	31 (22)	80 (57)	95 (68)
	I	25 (34)	20 (27)	17 (23)	39 (57)	25 (37)	10 (15)	77 (55)	55 (39)	43 (31)
	R	18 (24)	3 (4)	2 (3)	5 (7)	2 (3)		32 (23)	5 (4)	2 (1)
1	n	67			19			112		
	S	22 (33)	35 (52)	53 (79)	6 (32)	15 (79)	17 (89)	19 (17)	53 (47)	82 (73)
	I	33 (49)	30 (45)	14 (21)	13 (68)	4 (21)	2 (11)	67 (60)	53 (47)	29 (26)
	R	12 (18)	2 (3)	-	-	-	-	26 (23)	6 (5)	1 (1)
2	n	32			3			29		
	S	15 (47)	25 (78)	25 (78)	1	2	2	5 (17)	10 (34)	15 (52)
	I	13 (41)	6 (19)	7 (22)	1	1	1	15 (52)	15 (52)	14 (48)
	R	4 (13)	1 (3)	-	1	-	-	9 (31)	4 (14)	-
3-5	n	72			15			53		
	S	50 (69)	57 (79)	63 (88)	5	5	8	20 (38)	32 (60)	39 (74)
	I	15 (21)	14 (19)	9 (13)	7	10	7	22 (42)	20 (38)	14 (26)
	R	7 (10)	1 (1)	-	3	-	-	11 (21)	1 (2)	-
6-15	n	50			21			10		
	S	42 (84)	45 (90)	48 (96)	13 (62)	16 (76)	19 (90)	7	8	8
	I	7 (14)	4 (8)	2 (4)	7 (33)	5 (24)	2 (10)	1	2	2
	R	1 (2)	1 (2)	-	1 (5)	-	-	2	-	-

## Participation à des réseaux internationaux de surveillance

Le CNRP participe au réseau de surveillance européen EARSS. Le CNRP a participé en 2000 et 2001 au contrôle de qualité et fourni, sous une forme agrégée pour l'année 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.

## Conseil

L'ensemble des activités du CNRP permet d'assurer un conseil technique d'expert.

A la demande du Directeur Général de la Santé, le CNRP est membre du Comité de Suivi de la Vaccination par le vaccin anti-pneumococcique conjugué Prevenar®.



# L'essentiel

Tableau 16 – Résumé de la surveillance de la **résistance aux antibiotiques** de *S. pneumoniae* en 2001

% I+R	Bactériémies		Méningites		OMA
	Adulte (≥ 16 ans)	Enfant	Adulte (≥ 16 ans)	Enfant	Enfant
Pénicilline	46,6	45,7	42,2	61,1	76,2
Amoxicilline	30,1	27,8	24,1	37,3	46,6
Céfotaxime	14,7	17,3	12,3	17,5	30,5
Vancomycine	0	0	0	0	0
Rifampicine	0,2	0	0,7	0	0
Erythromycine	44,9	43	44,4	57,8	80,3
Triméthoprim	34,9	40	33	37,4	47,9
Sulfamides	17	14	14,2	17,2	31,7
Fluoroquinolones*	1,7	0,4	0	0	0,3

\*Souches de bas niveau de résistance (ParC ou efflux) et de haut niveau de résistance (ParC+GyrA).

Tableau 17 – Fréquence (%) des **principaux sérotypes** par type de prélèvement chez l'adulte et chez l'enfant.

Sérotipe	Bactériémies		Méningites		OMA	Total
	Adulte (≥ 16 ans)	Enfant	Adulte (≥ 16 ans)	Enfant	Enfant	
14*	16,9%	13,7%	9,4%	14,2%	19,8%	15,9%
19A**	8,4%	9,9%	6,1%	6,3%	19,0%	10,4%
23F*	6,4%	9,6%	10,3%	10,2%	9,9%	8,3%
6B*	5,5%	9,3%	10,3%	14,2%	10,2%	8,1%
19F*	3,9%	7,8%	8,0%	11,0%	14,8%	7,6%
3**	8,8%	3,7%	6,6%	5,5%	5,5%	6,9%
9V*	8,2%	5,0%	4,2%	7,1%	5,2%	6,6%
1**	5,5%	12,1%	0,5%	2,4%	1,0%	5,0%
18C*	3,1%	6,8%	3,3%	3,1%	1,3%	3,4%
6A	2,8%	2,2%	4,7%	7,1%	2,6%	3,1%
4*	4,3%	4,0%	1,4%	2,4%	0,5%	3,1%

\* Sérotipe contenu dans le vaccin conjugué 7-valent et dans le vaccin polysaccharidique 23-valent

\*\*Sérotipe contenu dans le vaccin polysaccharidique 23-valent.

Tableau 18 –Fréquence (%) des sérotypes des souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines.

Sérotype	Bactériémies		Méningites		OMA	Total
	Adulte (≥ 16 ans)	Enfant	Adulte (≥ 16 ans)	Enfant	Enfant	
14*	31,4%	27,4%	22,5%	22,1%	24,0%	27,2%
19A**	12,5%	11,9%	9,0%	10,4%	23,6%	15,0%
23F*	12,5%	15,6%	20,2%	16,9%	14,1%	14,4%
6B*	8,4%	14,8%	15,7%	15,6%	12,5%	11,7%
9V*	16,3%	8,1%	10,1%	11,7%	5,7%	11,3%
19F*	4,6%	10,4%	10,1%	13,0%	14,8%	9,4%
9A	4,3%	1,5%	1,1%	2,6%	1,5%	2,7%
6A	2,0%	1,5%	3,4%	3,9%	1,5%	2,1%

\* Sérotype contenu dans le vaccin conjugué 7-valent et dans le vaccin polysaccharidique 23-valent

\*\*Sérotype contenu dans le vaccin polysaccharidique 23-valent.

Tableau 19 – Sensibilité aux bêta-lactamines des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'enfant (< 16 ans)

	Antibiotique	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	CMI <sub>MOD1</sub>	CMI <sub>MOD2</sub>	CMI <sub>MAX</sub>
		µg/ml				
Méningites	Péni	0,25	1	0,016	1	4
	AMX	0,125	1	0,016	1	4
	CTX	0,125	0,5	0,016	0,5	1
Bactériémies	Péni	0,032	2	0,016	1	4
	AMX	0,032	1	0,016	1	8
	CTX	0,032	1	0,016	0,5	8
OMA	Péni	1	2	0,016	1	8
	AMX	0,5	2	0,016	1	16
	CTX	0,5	1	0,016	0,5	8
Total	Péni	0,5	2	0,016	1	8
	AMX	0,25	1	0,016	1	16
	CTX	0,25	1	0,016	0,5	8

Tableau 20 - Sensibilité aux bêta-lactamines des souches de *S. pneumoniae* isolées chez l'adulte (≥ 16 ans)

	Antibiotique	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	CMI <sub>MOD1</sub>	CMI <sub>MOD2</sub>	CMI <sub>MAX</sub>
		µg/ml				
Méningites	Péni	0,032	2	0,016	1	4
	AMX	0,032	1	0,016	1	4
	CTX	0,032	1	0,016	0,5	4
Bactériémies	Péni	0,032	2	0,016	1	4
	AMX	0,032	1	0,016	1	8
	CTX	0,032	1	0,016	0,5	4
Total	Péni	0,032	2	0,016	1	4
	AMX	0,032	1	0,016	1	8
	CTX	0,032	1	0,016	0,5	4

CMI<sub>MOD</sub>, CMI modale.

# Perspectives

Pour les années 2002 et 2003, nous maintiendrons la surveillance épidémiologique vis-à-vis des infections sévères : méningites, pneumopathies bactériémiques hospitalisées et OMA en échec de traitement. Ce suivi sur un échantillon stable permettra de comparer les données de chaque année et de dégager les tendances tant en ce qui concerne la résistance aux antibiotiques, que l'évolution des sérotypes. De plus, nous avons prévu de recueillir en 2003 un échantillon de souches responsables d'infections respiratoires chez l'adulte, afin d'y évaluer la résistance aux fluoroquinolones, puisque c'est ce type de souches qui sont le plus souvent résistantes aux fluoroquinolones. La surveillance systématique de la résistance aux antibiotiques devra être complétée par des enquêtes dont le but sera d'identifier des facteurs de risque d'acquisition d'une souche résistante, ou encore de mesurer l'impact de la résistance (morbidité, mortalité). Un tel projet concernant l'impact de la résistance dans les méningites de l'enfant est actuellement en cours de préparation en collaboration avec Didier Guillemot (Institut Pasteur).

En ce qui concerne la surveillance des méningites, le CNRP participe à deux études prospectives. D'une part chez l'enfant, l'Observatoire des Méningites Bactériennes de l'Enfant (Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique), d'autre part, pour les années 2002-2003, l'étude « PneumoRéa » (Société Française de Réanimation de Langue Française) portant sur les méningites à pneumocoques hospitalisées dans les services français de Réanimation. Ces travaux devraient permettre d'estimer la mortalité et les séquelles attribuables à cette pathologie dans ces deux populations.

Dans un second temps, les infections pneumococciques étant principalement communautaires, un réseau de laboratoires de ville pourrait être constitué. Toutefois, les infections à pneumocoque donnant rarement lieu à un prélèvement microbiologique en particulier lorsqu'elles sont peu sévères et non récidivantes, l'appréciation de la fréquence des principaux sérotypes ainsi que des principaux phénotypes de résistance dans la communauté ne pourra se faire qu'à l'aide d'enquêtes spécifiques. Le CNRP pourra être aidé dans ce domaine par le réseau des ORP qui comporte des laboratoires d'analyses de Biologie Médicale, l'Association Clinique et Thérapeutique du Val de Marne (Dr R. Cohen) qui coordonne un réseau de médecins (généralistes, pédiatres et ORL) répartis sur l'ensemble du territoire, ou encore par des réseaux de laboratoires de ville entraînés à cet exercice, fédérés au sein de l'ONERBA.

Après 2 ou 3 ans de fonctionnement, une fois le réseau de correspondants du CNRP stabilisé, son exhaustivité et sa représentativité seront évalués en croisant les données avec celles issues du réseau EPIBAC (Institut de Veille Sanitaire), à l'aide d'approches statistiques appropriées (capture-recapture) en collaboration avec l'Institut de Veille Sanitaire.

# Publications et communications réalisées dans le cadre des missions du CNRP

## *Publications*

1. Varon E., Gutmann L. Mechanisms and spread of fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Res Microbiol, 2000 ; 151 : 471-473
2. Varon E., Levy C., De La Rocque F., Boucherat M., Deforche D., Podglajen I., Navel M., Cohen R. Impact of antimicrobial therapy on nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Branhamella catarrhalis* in children with respiratory tract infections. Clin Infect Dis, 2000 ; 31 : 477-481.
3. Guerin F., Varon E., Buu Hoi A., Gutmann L., Podglajen I. Fluoroquinolone resistance associated with target mutations and active efflux in oropharyngeal colonizing isolates of viridans group streptococci. Antimicrob Agents Chemother, 2000 ; 44 : 2197-2200.
4. Janoir C., Varon E., Kitzis M. D., Gutmann L. New mutation in ParE in a pneumococcal *in vitro* mutant resistant to fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother, 2001 ; 45 : 952-955.
5. Varon E., Gutmann L. Epidémiologie des infections à pneumocoque ; épidémiologie des résistances. Med Ther Ped, 2001.
6. Varon E. Infections graves à pneumocoques : facteurs de pathogénicité. Arch Pediatr, 2001 ; 8 (S4) : 752-6.
7. Gutmann L., Varon E. Epidémiologie de la résistance. Med Mal Infect, 2001.
8. Varon E. How to evaluate and predict the ecological impact of antibiotics: The contribution of *in vitro* bacteriological experiments. Clin Micr Inf, 2001.

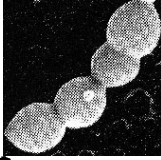
## Communications

1. Varon E., Gutmann L. Mechanisms and spread of fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae*. 17th European Meeting on Bacterial transformation & 5th European Meeting on the Molecular Biology of the Pneumococcus, Kaiserslautern, 2000.
2. Varon E. Maurice Rapin Colloquium, « How to evaluate and predict the ecological impact of antibiotics » : *In vitro* studies. Les Baux de Provence, 2000.
3. Varon E. Colloque de la Société Française de Microbiologie, « Résistance et virulence des cocci à gram positif » : Acquisition interspécifique de la résistance aux bêta-lactamines et fluoroquinolones par *S. pneumoniae*. Institut Pasteur, Paris, 2000.
4. Varon E. Journées du Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique, « Infections graves à pneumocoques : facteurs de pathogénicité », Paris, 2001.
5. Varon E. Epidémiologie de la résistance des pneumocoques 2ème journée Maurice Rapin, Paris, 2001.
6. Varon E. Epidémiologie de la résistance aux bêta-lactamines et aux macrolides des pneumocoques Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2001.

# Annexe A

## Fiche clinique et bactériologique

(A joindre pour toute souche de pneumocoque adressée au CNRP)



CNRP

Cadre réservé au CNRP (ne pas remplir)

Réf Souche :  
Date de réception : . . . / . . . / 2001  
Date de réponse : . . . / . . . / 2001

Nom (3 premières lettres) : \_ \_ \_  
Prénom (3 premières lettres) : \_ \_ \_  
Date de naissance : . . . / . . . / . . . . .  
Ou âge : \_ \_ \_  
Sexe :  M  F

Service : .....  
 Hospitalisation  Consultation

**SITE D'ISOLEMENT**  
 LCR  
 Hémoculture  
 Liquide pleural  
 Prélèvement distal protégé, brosse  
 Expectoration, asp. bronchique  
 Oreille moyenne  
 Sinus  
 Conjonctive  
 Autre (préciser).....

LABORATOIRE EXPEDITEUR :  
(cachet)  
  
Responsable de l'envoi : .....  
Date de l'envoi : . . . / . . . / 2001

N° de souche : .....  
Date du prélèvement : . . . / . . . / 2001

**DIAGNOSTIC**  
 Méningite  
 Pneumopathie  
 Otite Moyenne Aiguë  
 Bronchite  
 Sinusite  
 Conjonctivite  
 Autre (préciser) : .....

**TERRAIN**  
 HIV  Drépanocytose  
 Splénectomie

**VACCINATION** :  oui  non  ?  
 Polysaccharidique (23 valences)  
 Conjugué (7 valences)

**Notion de CAS GROUPÉS**  
 non  oui

**BACTÉRIOLOGIE**  
Sérotype ou séro groupe (si déjà déterminé) : ..... ,  Non effectué  
CMI (Méthode :  E-Test®,  Dilution en gélose ,  Autre : .....)  
- Pénicilline G = ..... µg/ml      - Céfotaxime = ..... µg/ml  
- Amoxicilline = ..... µg/ml      - ..... = ..... µg/ml

Cette souche présente-t-elle une particularité ? (identification, sensibilité...) :  
 non  
 oui (précisez) : .....

**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 B

## *Données recueillies en 2001 par les microbiologistes participant aux Observatoires Régionaux du Pneumocoque*

**IDENTIFIANT**

N° de souche : .....

Nom (3 premières lettres) : \_ \_ \_

Prénom (3 premières lettres) : \_ \_ \_

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

Ou âge : \_ \_ \_

Sexe :  M  F

Date du prélèvement : . . / . . / 2001

**SITE D'ISOLEMENT**

LCR

Hémoculture

Oreille moyenne

Sérogroupe (si déterminé) :

**Sensibilité aux antibiotiques**

Résultats de l'antibiogramme pour les antibiotiques suivants :

- Oxacilline (Diamètre)
- Erythromycine (Sensible, Intermédiaire, Résistant)
- Tétracycline (SIR)
- Chloramphénicol (SIR)
- Cotrimoxazole (SIR)
- Rifampicine (SIR)

CMI des bêta-lactamines suivantes (E-Test® et/ou dilution en gélose) :

- Pénicilline G
- Amoxicilline
- Céfotaxime

# Annexe C

## *Protocole d'étude du CNRP pour chaque souche de l'échantillon dans le cadre de l'étude épidémiologique*

### Sérotypage

Un ensemble de sérums et de factor sérums, fournis par le Statens SerumInstitut de Copenhague, permet de déterminer les 90 sérotypes ou sérogroupe connus. Chaque souche est testée successivement avec les différents antiserum :

- “Omni-serum” : antiserum contenant un mélange de 83 anticorps de lapins dirigés contre les 83 antigènes capsulaires pneumococciques connus.
- Serum poolés “A” à “I” et “P” à “T” : chacun des 14 pools d'antiserum se compose d'un mélange de 7 à 11 anticorps. L'ensemble des 14 pools couvre les 90 sérogroupe et sérotypes connus.
- Les souches ne réagissant ni avec le serum “Omni-serum”, ni avec aucun de ces 14 pools d'antiserum sont déclarées “non typables” (NT).
- Factor Serum (n = 60) : permettant de déterminer le sérotype dans un sérogroupe donné.

### Etude de la sensibilité aux antibiotiques

- **Antibiogramme** : optochine, oxacilline, amoxicilline, céfotaxime, chloramphénicol, tétracycline, érythromycine, lincomycine, pristinamycine, sulfamides, triméthoprim, vancomycine, teicoplanine, rifampicine, fosfomycine, kanamycine, streptomycine, gentamicine, péfloxacin, ciprofloxacine, sparfloxacine, norfloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine.
- **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, péfloxacin, ciprofloxacine, sparfloxacine, norfloxacine, lévofloxacine, et moxifloxacine.



# Annexe D

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

### Antibiogramme par diffusion en gélose

- A partir d'une culture fraîche (18 heures), préparer un inoculum de 0,5 McFarland 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 CO<sub>2</sub>

### Antibiotiques à tester

Déposer sur MHS un disque (Biorad®) de :

- Péfloxacin (détection des mutants de ParC)
- Ciprofloxacine (détection des mutants de ParC et d'efflux)
- Sparfloxacine (détection des mutants de GyrA)
- Norfloxacine (détection des mutants de ParC et d'efflux)

### 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 µg/ml (diamètre mm)			
	ParC <sup>a</sup>	GyrA <sup>b</sup>	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)

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

<sup>b</sup>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*.**

Phénotype		Diamètre d'inhibition (mm)			
		PEF	CIP	SPX	NOR
R6	WT	16	25	26	18
Spn*	FQ-WT	9-26	19-30	20-33	8-23
	ParC	C (ou<9)	↘	→	C
BNR	GyrA	→	→	↘	→
	Efflux	→	↘	→	C (ou<9)
HNR	ParC+GyrA	C	C	↘↘ ou C	C

\*1675 souches étudiées entre 2000 et 2002

WT : Wild-type

BNR : bas niveau de résistance (sensibilité apparente à lévofloxacine et moxifloxacine)

HNR : haut niveau de résistance (résistance à lévofloxacine et moxifloxacine )

→ : pas de changement par rapport à une souche sauvage

↘ : diminution (↘↘ diminution marquée) du diamètre d'inhibition par rapport à une souche sauvage

C : croissance au contact du disque.