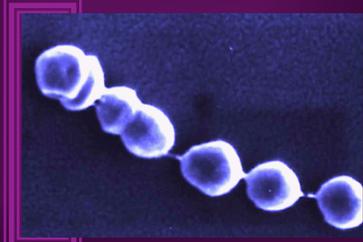


Centre National de Référence des Streptocoques

CNR-*Strep*



Rapport d'activités

2012

Dr Céline PLAINVERT

Dr Caroline JOUBREL

Pr. Claire POYART



Tables des matières

Résumé analytique	p.1
I. Introduction	p.2
2. Activité d'expertise	p.8
2.1. Capacités techniques du CNR	p.8
2.2. Activités d'expertise 2012	p.10
3. Activités de surveillance	p.12
3.1. Surveillance et Evolution des caractéristiques des infections	p.12
3.2. Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	p.28
3.3. Détection et investigation de cas groupés et phénomènes anormaux	p.41
3.4. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux	p.42
4. Alerte	p.42
5. Activités d'information, de formation et de conseil	p.42
6. Travaux de recherche en lien direct avec l'activité CNR	p.43
8. Programme d'activité 2013-2014	p.46
9. Annexes, Tableaux 8, 9	p.49

Résumé analytique des activités du CNR-*Strep* pour l'année 2012 : Faits marquants

1. Consolidation de la base de données streptocoques pour l'identification par MaldiTof (Partenariat industriel en cours).
2. Mise en place et démarrage du projet Col Strepto B permettant le suivi longitudinal de la colonisation des nouveaux nés par le SGB (Financement APHP-PASTEUR-Institut Mérieux). Ce projet a pour objectif de caractériser les mécanismes d'acquisition des infections néonatales tardives à Streptocoques du groupe B.
3. Mise au point d'une nouvelle technique de typage des SGB basée sur l'analyse des séquences CRISPR permettant de s'affranchir de la technique de MLST typage.
4. Séquençage des souches de SGA responsables de cas groupés dans le but de déterminer les déterminants génétiques bactériens permettant le passage du commensalisme à la pathogénicité.
5. Consolidation du site web <https://www.cnr-strep.fr>. Les utilisateurs ont accès à l'actualité concernant les infections à streptocoques, l'ensemble des prestations réalisées par le CNR-*Strep*, les liens utiles concernant les recommandations nationales et internationales sur les infections à streptocoques, les feuilles de demande téléchargeables, les résultats en ligne grâce à un accès sécurisé.
6. Traçabilité et comptabilité chiffrée des actes réalisés par le CNR-*Strep* grâce au paramétrage dans le SIL GLIMS de l'APHP. Le CNR-*Strep* a ainsi réalisé selon la nomenclature officielle « Montpellier » V4 **31 377 actes** correspondant à une activité de **1, 547 M B**.

1. Introduction

Missions et objectifs Majeurs du CNR-*Strep*

Les missions CNR-*Strep* sont multiples, mais deux sont primordiales : la première consiste en une expertise microbiologique d'excellence, la seconde apporte la contribution indispensable et nécessaire à la surveillance épidémiologique des infections et de leurs agents pathogènes et de leur sensibilité aux agents anti-infectieux. L'objectif est d'assurer un conseil technique d'expert auprès des différentes instances nationales (gouvernementales, agence sanitaire, professionnels de santé, et surtout en cas de phénomène épidémiologique inhabituel d'alerte auprès de l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) et du Ministre chargé de la Santé (JO Arrêté du 29 Novembre 2004).

Pour remplir ces missions, le CNR-*Strep* organise le recueil régulier de données cliniques et bactériologiques pertinentes à partir d'un réseau de laboratoires stables et représentatifs :

- de l'ensemble du territoire national et des Départements et Territoires d'Outre Mer
- des différentes structures sanitaires
 - Centres Hospitalo-Universitaires
 - Centres Hospitaliers Régionaux
 - Cliniques
- des spécificités géographiques et démographiques :
 - Adulte, Gynéco-Obstétrique, Maternité, Pédiatrie, Unités de soins intensifs, autres spécialités.

Le CNR-*Strep* a établi des collaborations avec les autres CNR ayant des problématiques communes comme le CNR des Pneumocoques (CNRP, dirigé par E. Varon et L. Gutmann).

Le CNR-*Strep* participe à la formation de biologistes, de cliniciens et de techniciens du territoire national mais également, dans le cadre d'échanges européens ou internationaux (stages pratiques sur demande, publications didactiques, recommandations techniques).

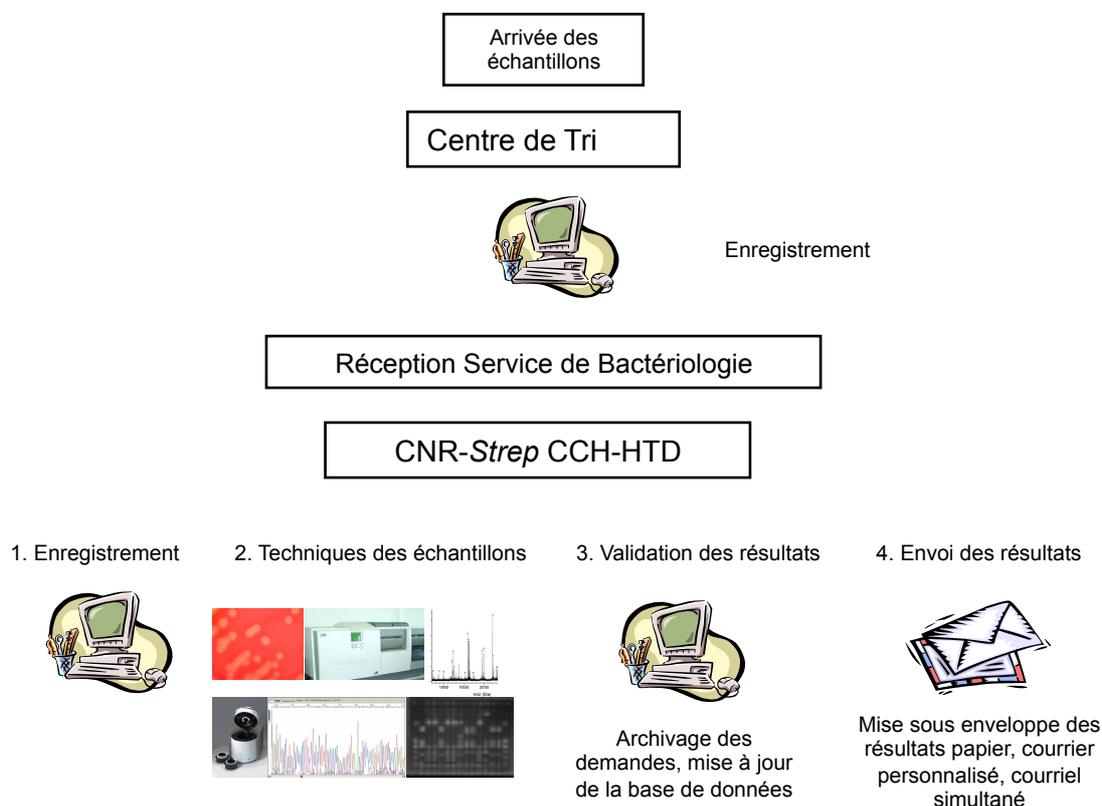
Equipes : Personnels dévolus dans les activités du CNR-Strep et des Laboratoires associés

Organisation du CNR-Strep

Le CNR-Strep a été réorganisé en janvier 2012 par le regroupement de l'ensemble des activités dans le Service de Bactériologie des Hôpitaux Universitaires Paris Centre, Cochin, Broca, Hôtel Dieu. Le regroupement des activités a largement facilité la mutualisation des personnels et des techniques existantes et l'efficacité du CNR-Strep.

Circuit des échantillons

Les échantillons biologiques sont réceptionnés dans un centre de tri, enregistrés dans le système informatique (GLIMS) (traçabilité de la réception), puis acheminés au laboratoire de bactériologie où l'échantillon sera enregistré dans le système de gestion informatique du laboratoire dans une rubrique dédiée à l'activité du CNR-Strep selon le schéma suivant. L'enregistrement dans le logiciel GLIMS permet d'avoir une activité chiffrée en actes et B de l'activité du CNR-Strep. **Pour l'année 2012, le CNR-Strep a réalisé selon le code de la nomenclature officielle « Montpellier » V4, 31 377 actes correspondant à 1 546 970 B.**



Transmission des résultats expertisés.

Les résultats d'expertise sont envoyés par courrier aux correspondants dans des délais qui sont fonction de l'urgence de l'expertise demandée. Le délai moyen pour l'envoi d'un résultat est de 2 semaines. En cas d'urgence, cas groupés et investigations d'épidémies les premiers résultats sont envoyés en moins de 7 j et en complément, des résultats intermédiaires sont discutés par téléphone et transmis par courriel. Un site web a été créé fin 2011 (<https://www.cnr-strep.fr/>). Ce site, maintenu par l'équipe du CNR fournit les actualités concernant les infections à streptocoques, l'ensemble des prestations réalisées par le CNR-

Strep, les liens utiles concernant les recommandations nationales et internationales sur les infections à streptocoques, les feuilles de demande téléchargeables, et les résultats en ligne grâce à un accès sécurisé.

Moyens affectés au CNR-*Strep*

Le regroupement des activités à faciliter la mutualisation des personnels et des techniques existantes. Le laboratoire est constitué et organisé depuis janvier 2011 en personnels, locaux et équipements comme suit.

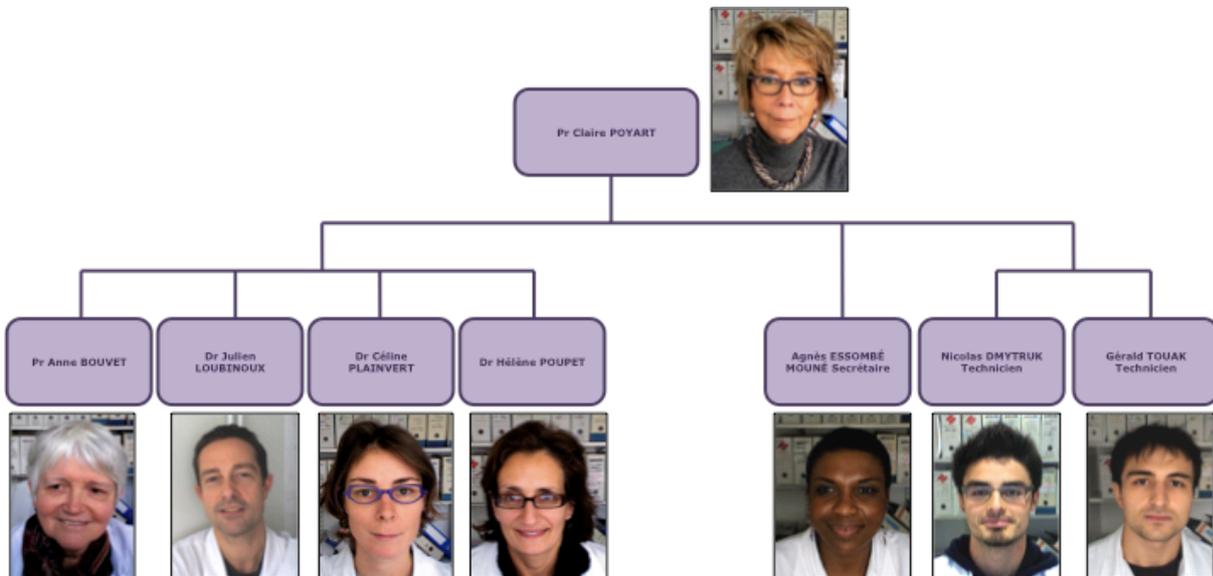
Equipe

Nom Prénom	Fonction/qualification	ETP
POYART Claire	PU-PH, Chef de service de Bactériologie GH Cochin-Hôtel Dieu-Broca, Co-Directeur équipe « Barrières et pathogènes », INSERM U1016, Institut COCHIN, Responsable scientifique du CNR- <i>Strep</i>	0,125
BOUVET Anne	PU-PH, adjoint et co-responsable du CNR- <i>Strep</i> service de Bactériologie GH Cochin-Hôtel Dieu-Broca	0,125
LOUBINOUX Julien	MCU-PH, service de Bactériologie GH Bactériologie GH Cochin-Hôtel Dieu-Broca	0,125
PLAINVERT Céline	AHU, service de Bactériologie GH Bactériologie GH Cochin-Hôtel Dieu-Broca, équipe « Barrières et Pathogènes », INSERM U1016, Institut COCHIN,	0,125
DMYTRUK Nicolas	Technicien (financement InVS)	1 ETP
TOUAK Gérald	Technicien (financement InVS)	1 ETP

Deux techniciens financés par l'InVS sont nécessaires pour assurer l'intégralité de la prise en charge des missions du CNR-*Strep*. Le CNR-*Strep* agit en synergie avec l'équipe de recherche « Barrières et Pathogènes » de l'Institut Cochin INSERM 1016, dirigée par Claire Poyart. Un biologiste est présent ou joignable par téléphone directement ou par l'intermédiaire d'une secrétaire ou d'un technicien tous les jours, y compris les samedis, dimanches et jours fériés, de 7 h 30 à 18 h 30 au 01 58 41 15 44 ; 15 60 ; 15 61.

Fax : 01 58 41 15 48 ; Portables : Claire Poyart 06 43 43 37 92 ; Anne Bouvet 06 17 08 21 80.

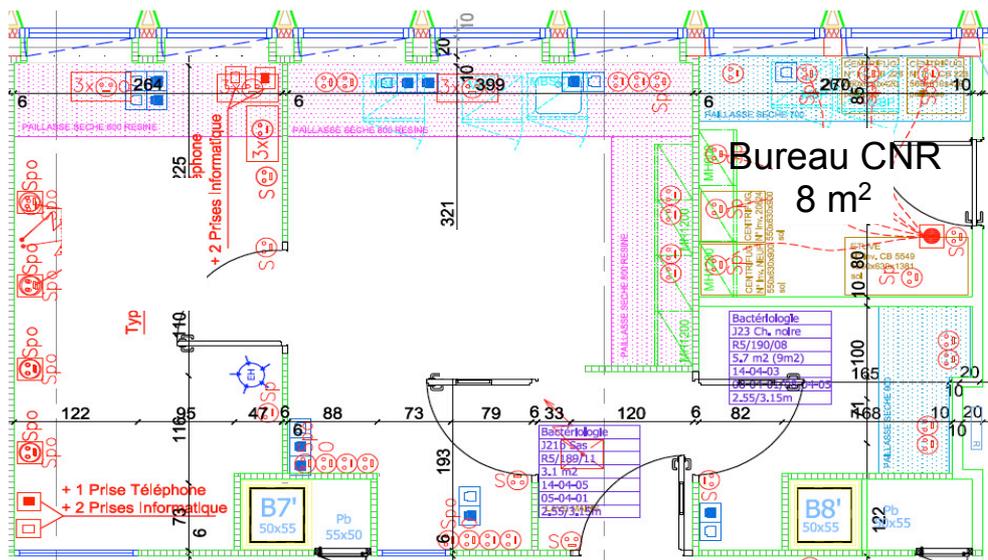
Courriel : claire.poyart@cch.aphp.fr ; celine.plainvert@inserm.fr ; julien.loubinoux@htd.aphp.fr ; anne.bouvet@htd.aphp.fr



Locaux et Equipements

Le CNR-Strep est localisé dans laboratoire de bactériologie du groupe hospitalier Cochin-Hôtel Dieu-Broca. Le laboratoire de bactériologie est localisé au 5^{ème} étage du Bâtiment de biologie Jean Dausset, dont il occupe l'intégralité de l'étage sur une surface d'environ 900 m². Une surface de 38 m² se répartissant en 30 m² de laboratoire de type L2 et 8 m² de bureau est dédiée à l'activité du CNR-Strep (plan représenté ci-dessous). Il bénéficie de l'ensemble de la structure du service et partage notamment: un secrétariat, des bureaux pour les responsables et les biologistes, une bibliothèque – salle de réunion.

CNR-Strep : 38,4 m²



Equipements

Un équipement propre à l'activité du CNR est localisé dans ce laboratoire, les autres équipements étant mutualisés avec ceux des laboratoires hospitaliers, INSERM1016 et universitaires.

L'équipement dédié dans les locaux du CNR :

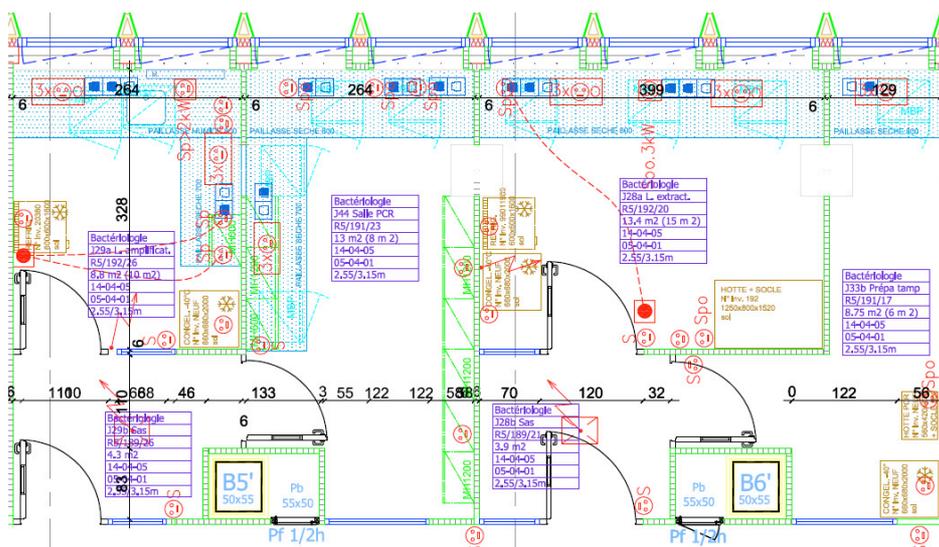
- Equipement de base pour cultures de bactéries
- Microscope
- Etuve atmosphère normale et CO₂
- Une centrifugeuse de paillasse
- Des blocs chauffants
- 2 Congélateurs à -20°C et 2 réfrigérateurs
- Poste de sécurité microbiologique de type II
- Rangements pour conservation des archives
- Equipements informatiques (3 Ordinateurs, 2 imprimantes) de bureau en réseau protégé avec sauvegarde en salle informatique centrale de l'hôpital.
- Logiciel de gestion de laboratoire (Glims, Mai 2011)
- Logiciels de bureautique (Pack Office)
- Logiciel d'analyse de séquence
- Accès Internet protégé.

L'équipement mutualisé avec le laboratoire hospitalier et l'équipe INSERM :

Techniques de microbiologie phénotypique

- 1 Spectromètre de Masse MalDI-ToF (depuis Février 2011, Bruker)
- 2 Automates d'identification et d'antibiogramme de type Vitek2 (bioMérieux)
- 2 Appareils SirScan permettant une Lecture Interprétative des Antibiogrammes (I2A)
- 8 Congélateurs à -80°C

Techniques de biologie moléculaire sont réalisées dans des pièces dédiées organisées selon le plan ci dessous (surface 52 m²)



- Une pièce pré-PCR avec 1 poste de sécurité PCR
- Une pièce extraction comprenant 2 extracteurs d'ADN (EasyMag, bioMérieux)
- Une pièce « amplification » comprenant :
 - 4 Thermocycleurs
 - 2 Thermocycleurs de PCR en temps réel (LC480, Roche)

- Une Pièce post-PCR comprenant :
 - Appareil d'électrophorèse en champ pulsé (Chef mapper Biorad)
 - Matériel d'électrophorèse en gel d'agarose
 - Appareils de capture électronique des images (Gel docXRS /Biorad)

Le laboratoire possède un équipement informatique qui lui permet d'utiliser *in situ* les programmes informatiques nécessaires à l'analyse des séquences d'ADN et de génomes (Geneious), les analyses phylogénétiques (Geneious, Splitsree), la confection d'amorces pour la PCR en temps réel (Beacon Designer) pour lesquels les licences d'utilisation sont à jour.

Par ailleurs, nous avons accès à a certaines plates-formes techniques de l'Institut Pasteur et notamment la plate-forme 8 "Santé Publique" pour le séquençage de l'ADN (identification bactérienne et séquençage de génomes) et pour le développement et la mise en place des études de clonalité et de biodiversité (MLSTypage et comparaison génomique par hybridation -CGH- avec des microarrays Agilent).

Description de la démarche qualité du laboratoire :

Le CNR-*Strep*, est de par son implication dans une activité de biologie médicale hospitalière, dans l'obligation de suivre des procédures écrites en respect du GBEA. Nous participons au contrôle national de qualité.

Une démarche pour l'accréditation du CNR-*Strep* a débuté en 2011 et s'est poursuivi au cours de l'année 2012 afin d'améliorer le fonctionnement interne, de fidéliser les demandes d'expertise et de collaboration des correspondants nationaux et internationaux, et de favoriser la reconnaissance de la qualité de son expertise par les autres partenaires d'organismes de santé publique, de recherche ou de l'industrie.

Le programme de mise en place de la démarche d'accréditation comprend à la fois la validation des techniques d'analyse déjà éprouvées et celles en cours de développement, la formalisation des processus d'analyse et de rendu des résultats, l'identification d'indices d'appréciation de la qualité, et l'habilitation des personnes participant aux missions du CNR. Les contrôles de qualité interne seront étendus aux techniques de biologie moléculaires par l'analyse de souches de notre propre collection et de souches de référence dont les caractéristiques génomiques ont été publiées dans les revues scientifiques internationales.

La participation à des contrôles de qualité externe a été organisé pour un démarrage effectif en janvier 2013, de même que des audits de pratique par des collègues externes au CNR. Le CNR-*Strep* a participé à plusieurs reprises à ce type de démarche à l'occasion de travaux en coopération avec d'autres pays européens (harmonisation des procédures, contrôles de qualité internes et externes) (**Publication XXX**).

Plusieurs services supports du CNR-*Strep*, tels que le système de gestion informatique des laboratoires et la maintenance des équipements sont partagés avec les Services du Pôle de Biologie du Groupe Hospitalier Cochin-Broca-Hôtel Dieu. L'engagement dans la démarche d'accréditation devra être effectif pour le Pôle en 2013 pour obtention de l'accréditation totale en 2020. Elle devra suivre la norme EN ISO 15189 qui décrit les exigences particulières concernant la qualité et la compétence requise pour la réalisation d'analyses biologiques médicales.

Le site internet sécurisé du CNR-*Strep* préparé pour le début de l'année 2012 a été également l'occasion de revoir les moyens de communication avec nos correspondants, notamment pour les comptes rendus d'expertise.

2. Activités d'expertise

2.1 Capacités Techniques du CNR-*Strep*

Les techniques réalisées par le CNR-*Strep* (Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel Dieu-Broca) et les Laboratoires associés SGA-enfants (Robert Debré) et Technologies innovantes (Institut Pasteur) sont indiquées dans le tableau qui suit :

Techniques	Streptocoque du Groupe A (SGA)	Streptocoque du Groupe B (SGB)	autres streptocoques
Identification			
phénotypique	+	+	+
Moléculaire	Ns	+	+
Maldi-Tof MS	+	+	+
Antibiogramme	+	+	+
Détermination des CMI	Ns	+ (β -lactamines)	+
Détection génotypique de la résistance aux antibiotiques	+	+	+
Génotypage <i>emm</i>	+	-	-
Typage capsulaire par PCR	-	+	-
Détection de gènes de virulence / clone hypervirulent	Toxines	ST-17	sur demande
PFGE ^a	+	+	+
REP-PCR, DiversiLab	+	+	
MLST ^b	+	+	ns

^a, Electrophorèse en champ pulsé, technique réalisée dans le cadre d'épidémie ou de cas groupés ; ^b, Multi locus sequence typing, typage réalisé dans le cadre de programme de recherche pour analyse d'une population ; Ns, non systématique.

Collection de souches

Le CNR réceptionne l'intégralité des souches à expertiser. Le CNR-*Strep* dispose également des souches de références achetées à la collection de l'IP. Un souchier global informatisé sur une base de données Excel a été réalisé depuis la création du CNR-*Strep* en Avril 2006 pour lesquelles l'ensemble des données figurant sur les fiches de demande ainsi que les résultats d'expertise sont renseignés. Les souches sont systématiquement réisolées, vérifiées quant à leur identification, congelées à -80°C en bouillon BHI glycérolé. L'ensemble des congélateurs est placé sous surveillance informatique et localisés dans des pièces dédiées climatisées. Toutes les données sont sauvegardées sur le système informatique de l'hôpital et sur deux disques durs de manière automatique et journalière.

Les souches bactériennes qui sont confiées au CNR-*Strep* restent la propriété du « microbiologiste correspondant ». Dans le cas où une expertise complémentaire d'intérêt scientifique ou épidémiologique est envisagée, celle-ci est réalisée avec l'accord de celui-ci et le choix du laboratoire expert lui revient de droit.

Le CNR-*Strep* tient à la disposition de la communauté scientifique les souches de référence de sa collection ainsi que des isolats caractérisés phénotypiquement et génotypiquement qui auront fait l'objet de publications.

Collection de l'Equipe INSERM « Barrières et pathogènes ».

L'équipe INSERM associée possède toutes les souches types nécessaires à son activité (streptocoques et germes apparentés) ainsi que les souches dont le génome a été séquencé. Ces souches sont incluses dans le souchier commun qui inclus également de nombreux mutants de streptocoques construits dans le laboratoire ou obtenus de collègues. Ces mutants sont utilisés pour des études de virulence et/ou de sensibilité aux antibiotiques. Notre souchier contient 3074 entrées accessibles par recherche indépendantes dans une base de données "Filemaker Pro11" automatiquement sauvegardée sur 2 disques durs. Les souches bactériennes sont dupliquées et conservées à -80°C en bouillon glycérolé dans 2 congélateurs placés sous surveillance et situés à des bâtiments différents.

2.2 Activités d'expertise du CNR-Strep en 2012

Activité au titre de l'expertise microbiologique 2012

Entre Janvier 2012 et Décembre 2012, le CNR-Strep a reçu pour expertise 1609 isolats. Le réseau des correspondants du CNR est constitué de 290 laboratoires, dont 42 (14,5%) sont localisés dans des CHU (40, 5% Ile de France et 59,5% hors Ile de France). La répartition géographique est indiquée dans la figure 1.

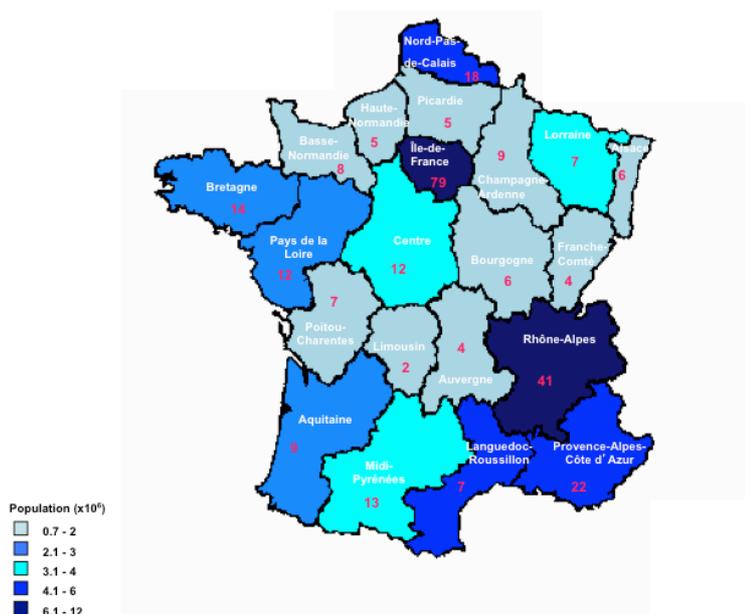


Figure 1. Répartition des laboratoires correspondants du CNR-Strep

Le nombre de souches reçues par an depuis 2007, est en augmentation croissante. Globalement, les souches de SGA représentent 60% (n= 961) des souches expertisées dont 81 % sont isolées chez les adultes (n=780) (Fig.2). Les SGB et les autres espèces de streptocoques et germes apparentés représentent, respectivement 22 % et 17% des isolats reçus. Le recrutement important des streptocoques non SGA et non SGB à partir de 2008, correspond au recrutement des souches dans le cadre de l'enquête nationale sur les endocardites infectieuses (EI 2008) qui a perduré en 2009 et 2010. Enfin, il est à noter que le nombre de SGB reçus est également en augmentation passant de 280 en 2007 à 340 isolats en 2012. La description détaillée de l'ensemble des expertises réalisées sur les souches est exposée par la suite en fonction de l'espèce bactérienne.

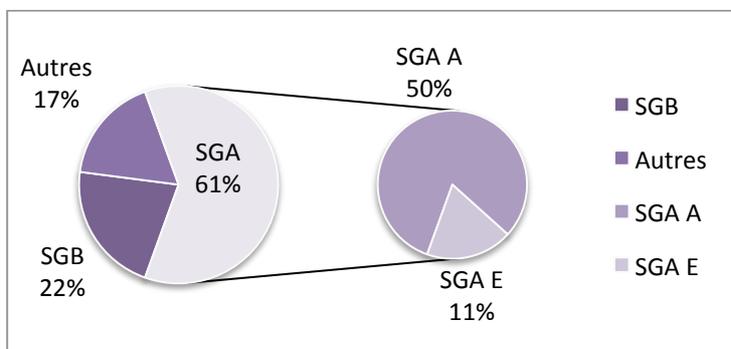


Figure 2. Répartition des souches en fonction des espèces expertisées par CNR-Strep en 2012

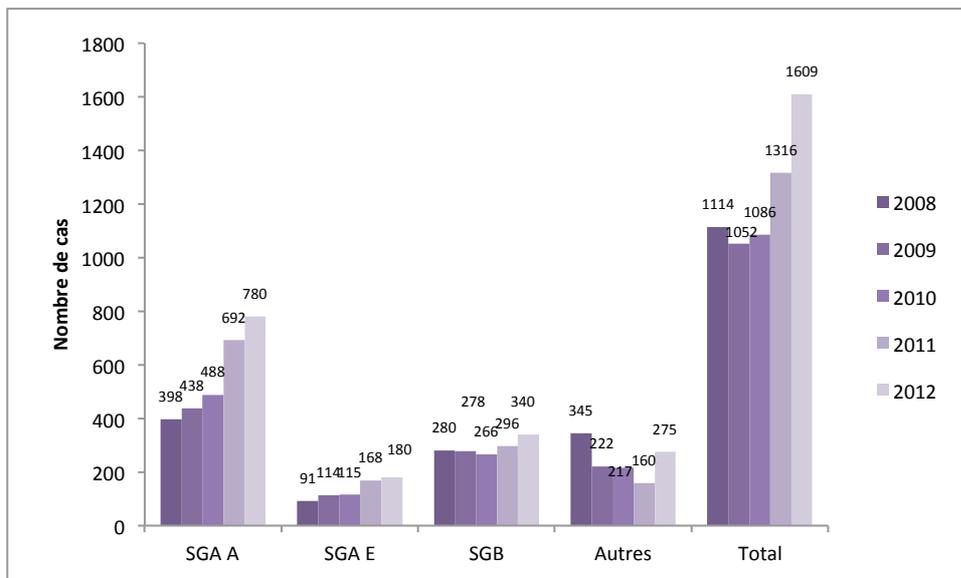


Figure 3. Evolution de la répartition des souches en fonction des espèces expertisées par CNR-Strep entre 2008-2012

3. Activités de surveillance :

3.1. A. Streptocoques du Groupe B (SGB ; *S. agalactiae*)

Entre janvier 2012 et décembre 2012, 348 souches de SGB ont été expertisées par le CNR-Strep et se répartissaient sur l'ensemble du territoire national indiqué sur la figure 4. Cette répartition est plus équilibrée par rapport à celle des années précédentes (2007-2011), une plus grande proportion de souches provenant de régions autres que l'Île de France. Les correspondants du CNR envoient régulièrement leurs souches sur la base du volontariat depuis 6 ans.

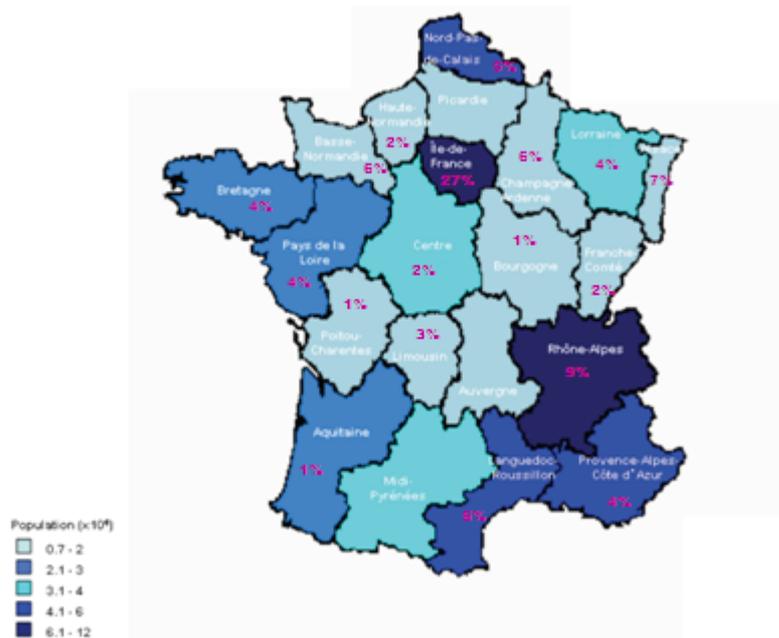


Figure 4 : Répartition des souches de SGB expertisées en 2012 en fonction de l'origine géographique

Pour permettre une analyse épidémiologique pertinente, nous avons dédoublonné les souches : dans les résultats exposés, un cas clinique est représenté par une souche.

Seules les souches responsables d'infections invasives (*ie* souches isolées de sites normalement stériles ; hémoculture, liquide de ponction) ont été considérées dans l'analyse des résultats décrits dans ce rapport et nous avons individualisé deux catégories de patients infectés par le SGB : 1) les nouveau-nés ; 2) les adultes \geq 18 ans.

***S. agalactiae* et infections néonatales invasives**

En 2012, 67 épisodes d'infections néonatales invasives prouvées *ie* : souches isolées à partir de sites normalement stériles (hémocultures (Hc) et/ou liquide céphalorachidien (LCR), ponction pleurale, articulaire, pus profond) ont été analysées par le CNR-Strep. La répartition entre les souches responsables d'infections précoces (IP) nouveau-né < 7 jours, tardive (IT) nouveau-né 7-89 jours est relativement stable au cours des années 2008-2012. Nous confirmons la tendance observée du nombre plus important d'IT que d'IP depuis la mise en place du dépistage systématique du SGB chez les femmes enceintes à la 35-37 SA et de l'antibioprophylaxie au moment de l'accouchement en cas de positivité (Fig. 5). En 2012, les infections tardives représentaient 71 % des infections néonatales à SGB. **De plus, il semblerait que le nombre d'IP soit également en diminution, évolution qui devra être confirmée en 2013.** Par ailleurs, compte-tenu de l'incidence des bactériémies et méningites néonatales à SGB en France estimée par le réseau Epibac pour l'année 2011 (51/100.000 enfants de moins de 1 an, soit environ 405 infections), le CNR-Strep collige approximativement 16.5 % des souches responsables d'infections néonatales invasives prouvées en France.

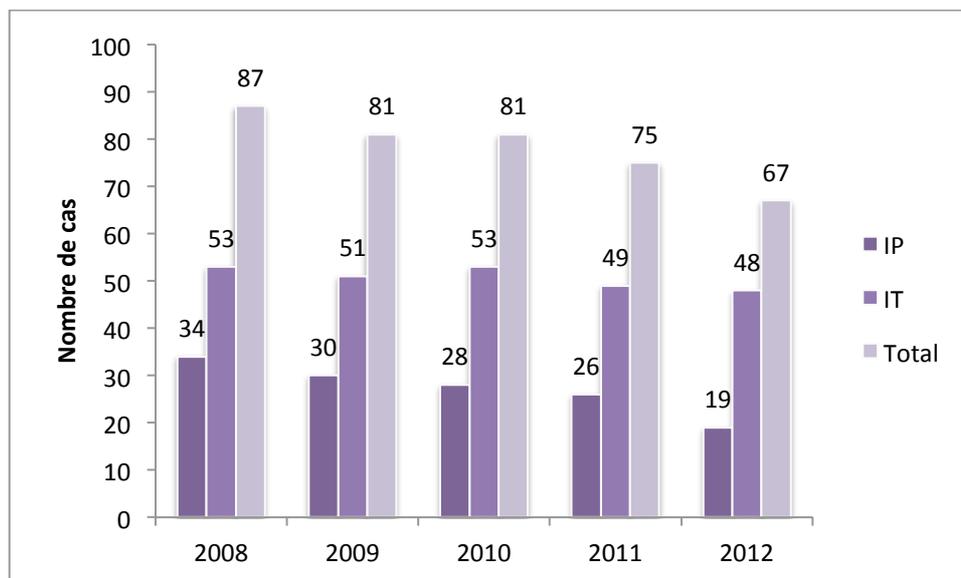


Figure 5 : Répartition des infections invasives néonatales à SGB en fonction du type d'infection (IP : infection précoce ; IT : infection tardive)

Infections précoces à SGB

En 2012, 19 (28.5%) étaient responsables d'une infection précoce (IP, infection survenue avant la fin de la première semaine) et dans 85% des cas, l'infection était déclarée dans les 48 premières heures suivant la naissance. En 2012, dans 84% (n=16) l'IP se traduisait par une bactériémie, dans 16% (n=3) par une méningite. Cette répartition est restée stable au cours de la période 2008-2012 (Fig. 6).

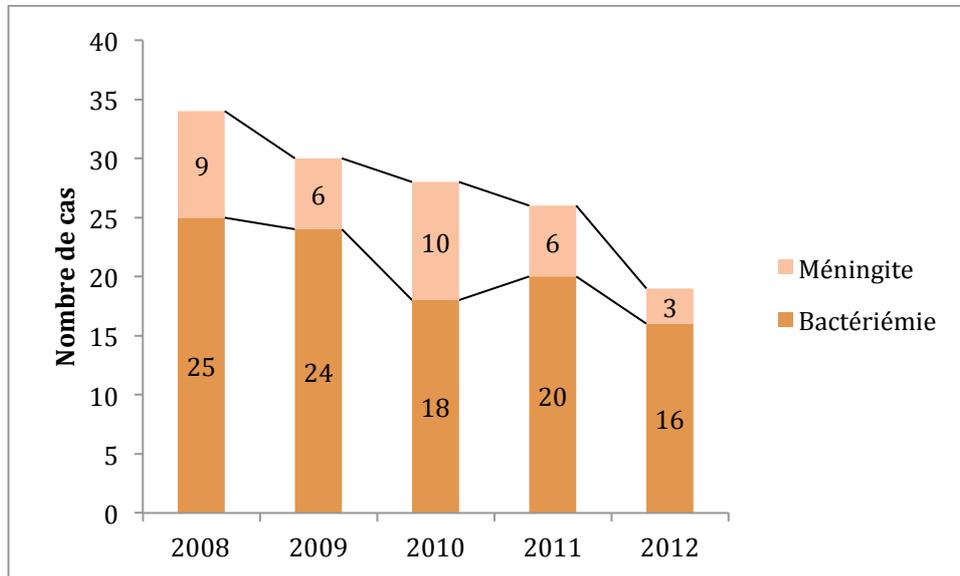


Figure 6 : Répartition 2008-2012 des infections invasives néonatales précoces (IP) à SGB en fonction de la symptomatologie clinique. Les chiffres dans les barres représentent le nombre de cas de méningite ou bactériémie ou autre infection pour l'année correspondante.

Le typage moléculaire de la capsule de ces souches a montré en 2012 que les sérotypes capsulaires (SC) se répartissent de la façon suivante par ordre de fréquence décroissante, III (64%), Ia (26%), II (5%) et V (5%). Cette répartition est parfaitement stable depuis 2007 et les données représentées dans la figure 7 correspondent à la distribution en % cumulé depuis 2007 en fonction de la symptomatologie.

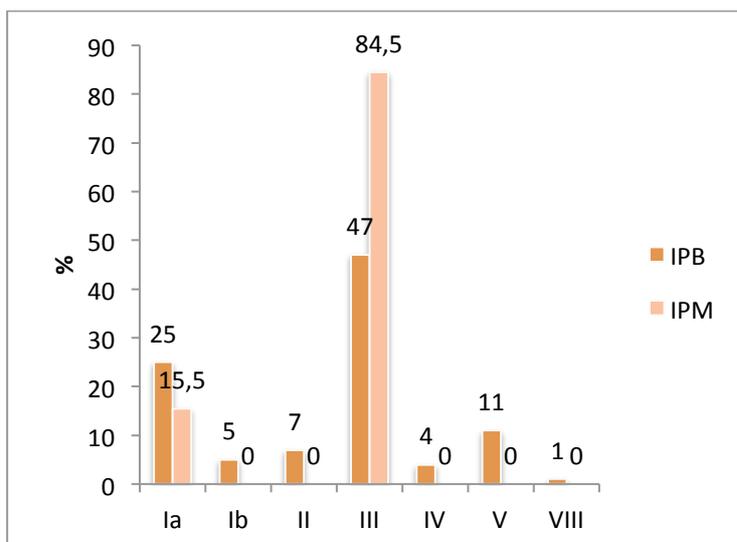


Figure 7 : Répartition des SC des souches de SGB responsables d'infections invasives néonatales précoces (IP) en fonction de la symptomatologie clinique (B : bactériémie , M: méningite)

La répartition des SC en fonction de la symptomatologie montre que les souches de SC III représentent 100% des souches isolées de méningites et 100% appartiennent au clone « hypervirulent » ST-17. Ces données confirment que des souches de SC Ib, II, IV et V sont rarement responsables d'infections néonatales et qu'aucune n'a jamais été associée à une méningite dans le cadre d'une IP.

Infections tardives à SGB

Quarante-huit souches étaient isolées dans un contexte d'infection tardive (IT, infection survenant après la première semaine de vie). Dans 25 (52%) cas, l'infection se manifestait par une bactériémie isolée, 20 (42%) sous forme de méningite (LCR dont la culture était positive à SGB). Un cas d'ostéite et un de pleurésie ont été répertoriés (Fig. 8). Enfin, dans un cas les prélèvements provenaient d'une autopsie.

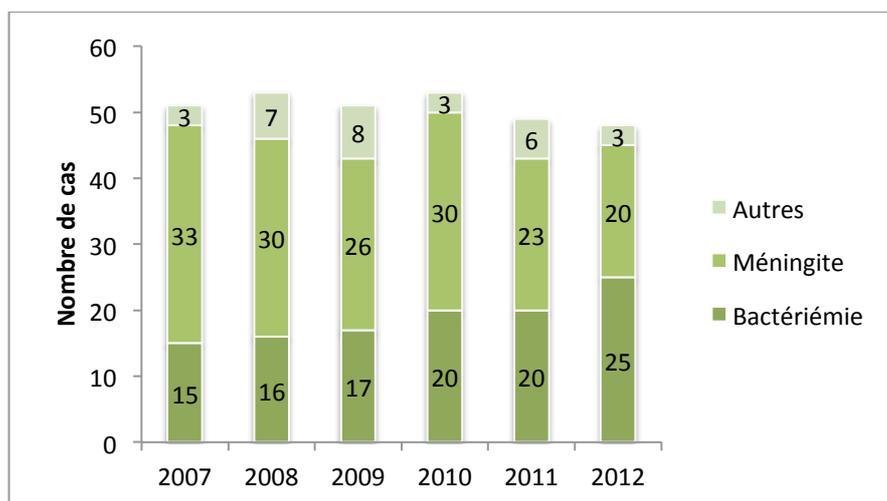


Figure 8 : Répartition des infections invasives néonatales tardives (IT) à SGB en fonction de la symptomatologie clinique

La répartition des SC a montré que 73% des souches étaient de SC III, 10% de SC Ia, 8% de SC Ib, 6% du SC V et 2% du SC II. La répartition en fonction de la symptomatologie est sensiblement différente puisque le SC III représente 85% des isolats isolés de méningites et 94% appartenait également au complexe clonal hypervirulent CC17 (Fig 9 et 10). Comparativement à l'année 2011 qui avait vu l'émergence du SC Ia et Ib parmi les souches responsables de méningites, en 2012 il n'y a pas de souche de SC Ia isolée dans un contexte de méningite. En revanche on observe toujours 10% de souches de méningite de SC Ib. L'évolution de cette tendance sera intéressante à surveiller dans les années à venir.

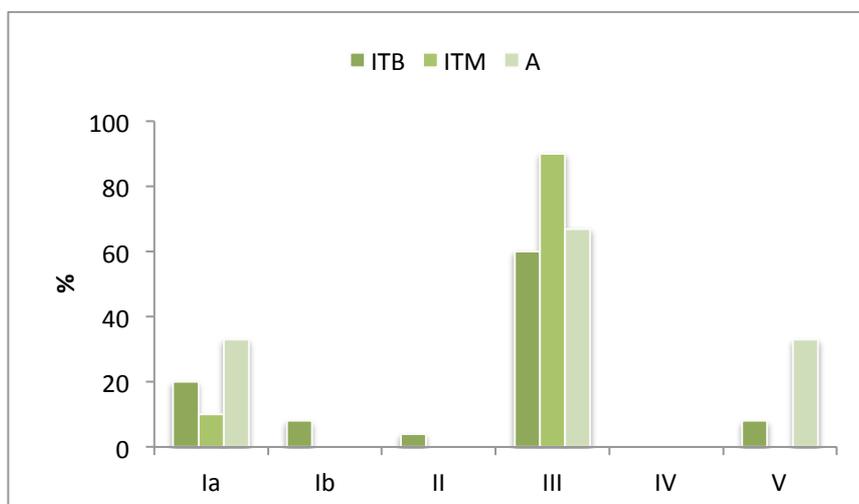


Figure 9 : Répartition en 2012 des SC des souches de SGB responsables d'infections invasives néonatales tardives (IT) en fonction de la symptomatologie clinique (B : bactériémie ; M : méningite ; Autres : A).

Infections néonatales dues aux SGB appartenant au complexe clonal CC-17

Les études épidémiologiques du CNR-*Strep* ont permis de démontrer formellement que les souches de SGB appartenant au CC-17 étaient responsables de la majorité des infections néonatales et de la quasi-totalité des cas de méningites.

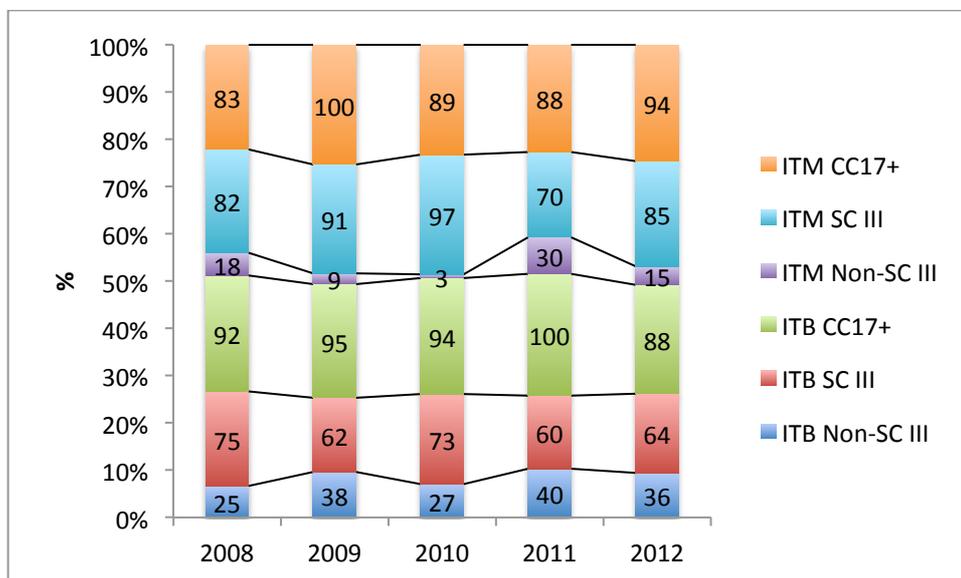


Figure 10 : Répartition entre 2008-2012 des souches appartenant au CC-17 responsables d'infections tardives en fonction de la symptomatologie (ITM : infection tardive méningite ; ITB : Infection tardive bactériémie ; SC : sérotype capsulaire) Les chiffres indiqués dans les barres correspondent au nombre de cas.

Nous avons élucidé les bases moléculaires de l'hypervirulence du clone ST-17, et découvert ce qui lui permet d'être un pathogène redoutable chez le nouveau-né. Les données 2012 confirment comme pour les années précédentes que le clone ST-17 représente plus de 80% des souches de SC-III responsables de méningites néonatales tardives (Fig. 10).

Les résultats du CNR-*Strep* en matière d'épidémiologie d'infections néonatales à SGB confirment les tendances observées depuis 6 ans :

1. Les infections précoces sont moins fréquentes que les infections tardives, représentant moins de 30%.
2. Les syndromes tardifs représentent 72% des cas.
3. Le SC III est majoritaire (70%) toutes infections confondues et le clone hypervirulent CC17 est retrouvé dans plus de 80% de souches responsables de méningites.

***S.agalactiae* et infections invasives de l'adulte**

En s'appuyant sur les données du réseau Epibac, l'incidence des bactériémies et des méningites à SGB chez l'adulte a été déterminé. En 2011 elle est de 4.0/100.000 habitants et similaires à celles des trois années précédentes. Les données Epibac 2011 confirment ce qui avait été observé en 2010, à savoir l'augmentation de l'incidence des infections invasives à SGB chez les sujets de 65 ans ou plus, qui présentent un risque plus élevé pour ce type d'infections.

En 2012, nous avons analysé 211 souches dédoublonnées responsables d'infections invasives. Les souches étaient isolées principalement d'hémocultures (80%), de prélèvements ostéo-articulaires (os ou liquide articulaire, 7.5%), de liquide céphalorachidien (3%) ou d'autres prélèvements (9.5%).

Les caractéristiques cliniques des infections en fonction de l'âge et du sexe sont représentées dans le tableau 1. L'âge moyen était de 61 ans (écart 18-97 ans), et 51% étaient de sexe masculin. Les bactériémies isolées sans localisation secondaire et sans porte d'entrée apparente représentaient 75% des cas. Les autres infections invasives se répartissent de la façon suivante par ordre de fréquence décroissante : Infections ostéo-articulaires (9%) ; infections de la peau et des tissus mous (8%) ; méningites (3%) et endocardites (0.5%).

Variables	Total n = 211 (%)	Nombre de cas (%)		
		18-39 ans n = 34 (16 %)	40-64 ans n = 60 (28,5 %)	> 65 ans n = 117 (55,5 %)
Homme	108 (51)	8 (24)	42 (70)	58 (49,5)
Femme	103 (49)	26 (76)	18 (30)	59 (50,5)
Manifestations cliniques				
Bactériémie isolée	159 (75)	18 (53)	47 (78,5)	94 (80,5)
Infection de la peau et des tissus mous	17 (8)	9 (26)	3 (5)	5 (4)
Méningite	6 (3)	2 (6)	1 (1,5)	3 (2,5)
Endocardite	1 (0,5)	1 (3)	0 (0)	0 (0)
Infection ostéo-articulaire	19 (9)	3 (9)	5 (8,5)	11 (9,5)
Infection urinaire	2 (1)	0 (0)	1 (1,5)	1 (1)
Autre	7 (3,5)	1 (3)	3 (5)	3 (2,5)

La répartition des sérotypes capsulaires (SC) en fonction de l'année d'isolement est représentée dans la figure 11. On constate une stabilité globale dans la répartition des SC, avec toujours en 2012 le SC Ia (15.5%), III (27.5%) et V (31%) représentant 74 % des souches (Figure 11), la proportion de SC V augmentant légèrement au détriment de celle du SC Ia. Les autres SC se répartissent de la façon suivante : Ib (8.5%), II (11%), IV (3.5%), VI (1.5%) et VII (1.5%). A l'inverse de ce qui est observé chez le nouveau né, les méningites de l'adulte à SGB sont très rares représentant moins de 5% de la totalité des infections et surtout les souches appartenant au CC-17 représentent moins de 12% de la totalité des souches de SGB responsables d'infections invasives de l'adulte et 43% des souches de SC III.

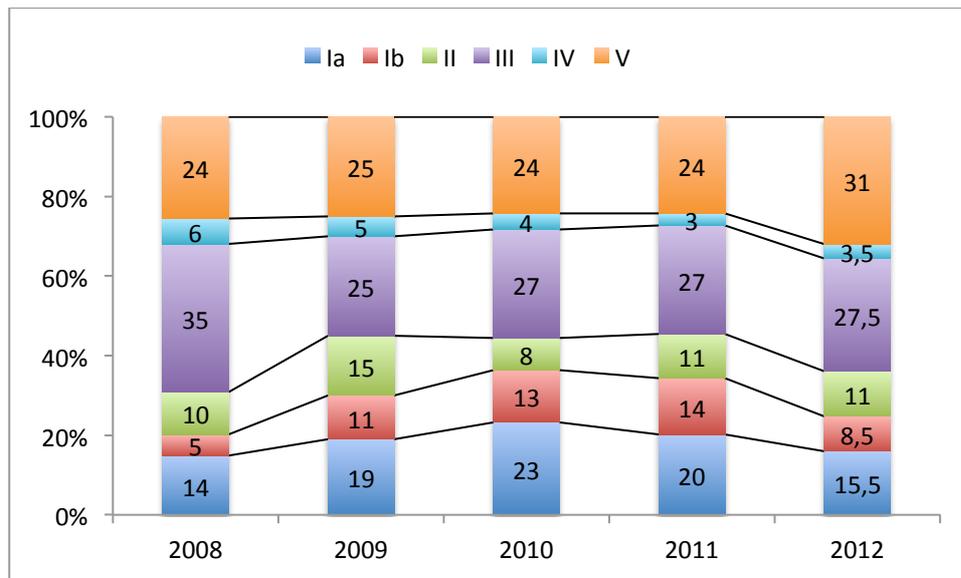


Figure 11 : Répartition des sérotypes capsulaires (SC) des souches de SGB responsables d'infections invasives chez l'adulte en fonction de l'année. Les chiffres indiqués correspondent à la valeur des %.

3.1. B. Streptocoques du Groupe A (SGA ; *S. pyogenes*)

En 2012, **944 isolats de *Streptococcus pyogenes*** (ou Streptocoques du Groupe A, SGA) ont été reçus au CNR-Strep (Fig. 12).

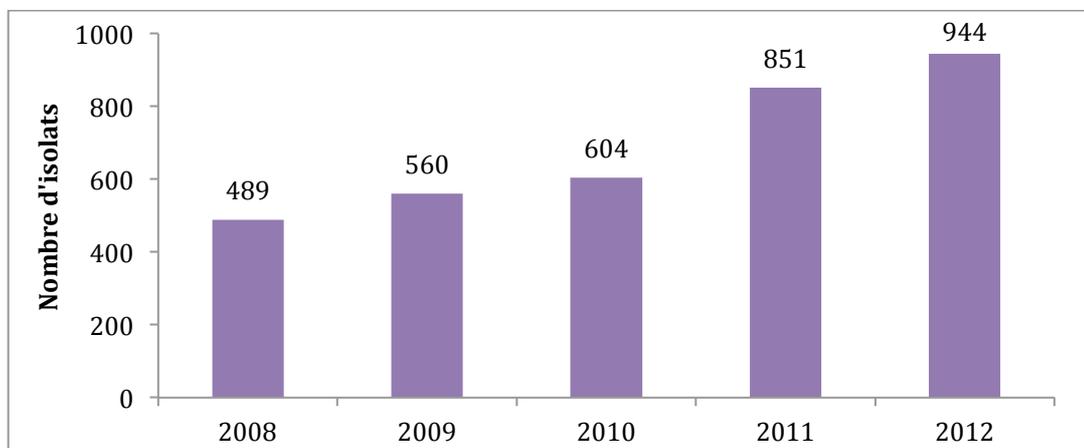


Figure 12 : Répartition annuelle des isolats de SGA reçus au CNR-Strep depuis 2008.

En 2012, l'augmentation du nombre d'isolats de SGA décrite depuis 2008 se confirme avec un taux de croissance de l'ordre de 35% par rapport à 2011.

La répartition mensuelle des isolats de SGA reçus au CNR-Strep depuis Janvier 2008 est représentée en fonction de la date d'isolement dans la Fig. 13.

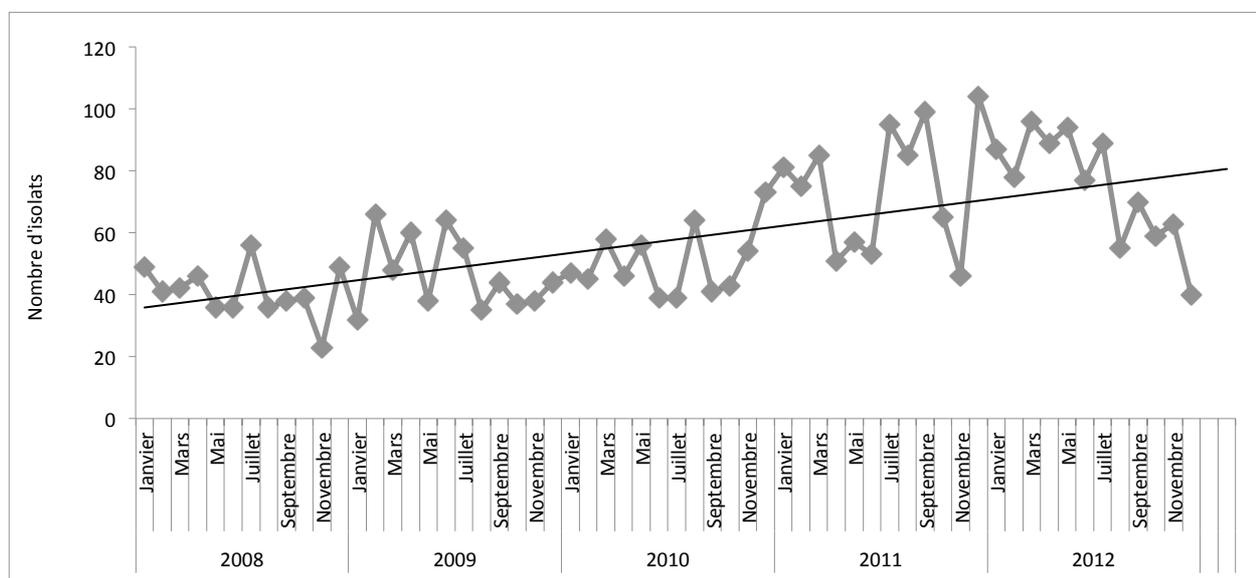


Figure 13 : Distribution des isolats de SGA reçus au CNR-Strep depuis Janvier 2008 en fonction de la date d'isolement.

L'augmentation du nombre d'isolats de SGA reçus en 2012 s'observe surtout au cours du premier semestre.

L'origine géographique des 944 isolats de *S. pyogenes* reçus au CNR-Strep est représentée sur la Fig. 14.

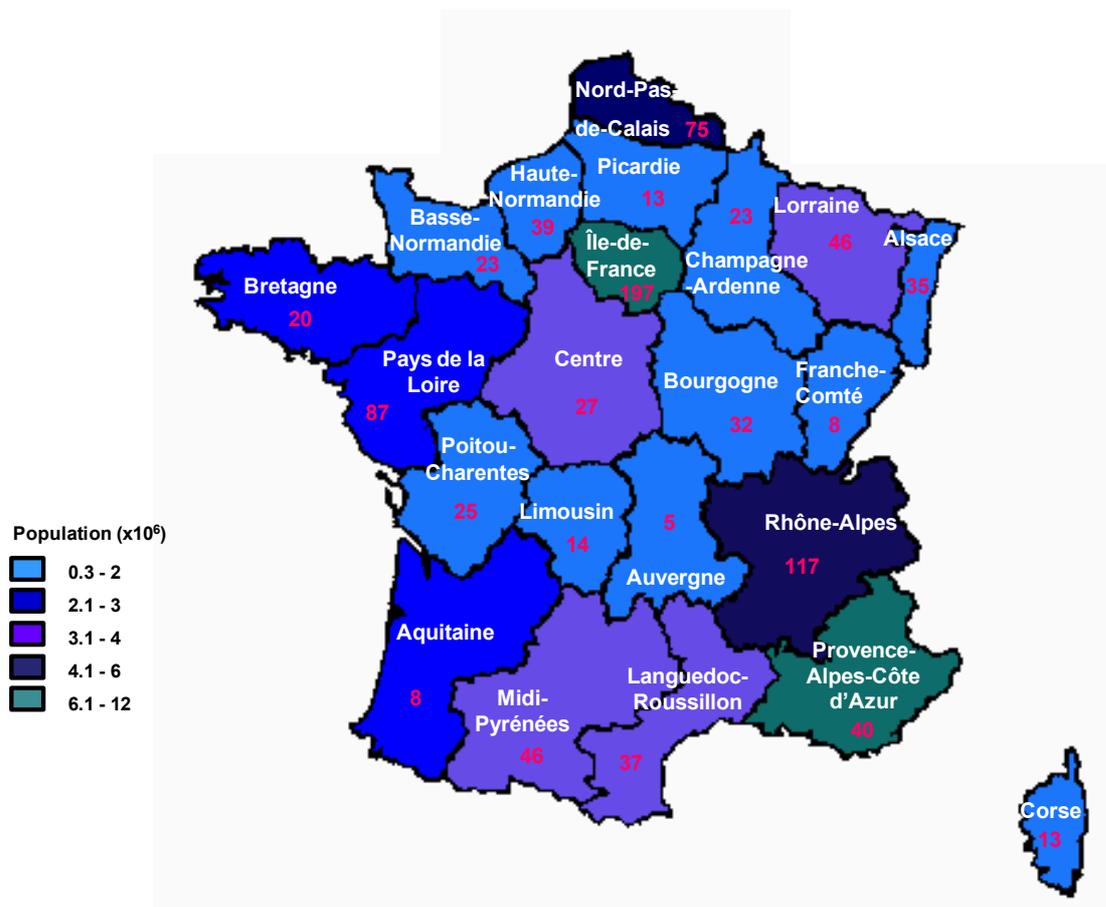


Figure 14 : Répartition géographique des 944 isolats de *Streptococcus pyogenes* reçus au CNR-Strep en 2012 par rapport à la population des régions en France (INSEE 1^{er} Janvier 2013)

En 2012, comme depuis 2007, les laboratoires situés en Ile-de-France sont les plus importants pourvoyeurs (N=197/944, soit 20,9%).

Il est à noter que parmi les 944 isolats reçus au CNR-Strep en 2012, 14 isolats provenaient des DOM-TOM (Martinique (n=1), Guadeloupe (n=1), La Réunion (n=11) et Tahiti (n=1)).

Après dédoublement, les **897 souches** de SGA ont été expertisées et l'ensemble des techniques disponibles a été mis en œuvre. Dans le cas où plusieurs isolats sont reçus pour un même patient et que les premiers marqueurs moléculaires sont identiques, le génotypage moléculaire est appliqué sur l'isolat le plus invasif, les autres étant considérés comme doublons.

Parmi les **897 souches** de SGA reçues en 2012, **159 avaient été isolées chez des enfants (<18 ans) et 738 souches provenaient de patients adultes (>18 ans).**

Activités d'expertise de l'année 2012 des souches de SGA isolées chez l'adulte

Au cours de l'année 2012, 738 souches non redondantes de SGA isolées chez des adultes ont été expertisées dont **620** étaient responsables d'**infections invasives** et **118** isolées au cours d'**infections non-invasives** ou de **colonisations**.

Les sites d'isolement des **738 souches de SGA** sont indiqués ci-dessous dans la Fig.15.

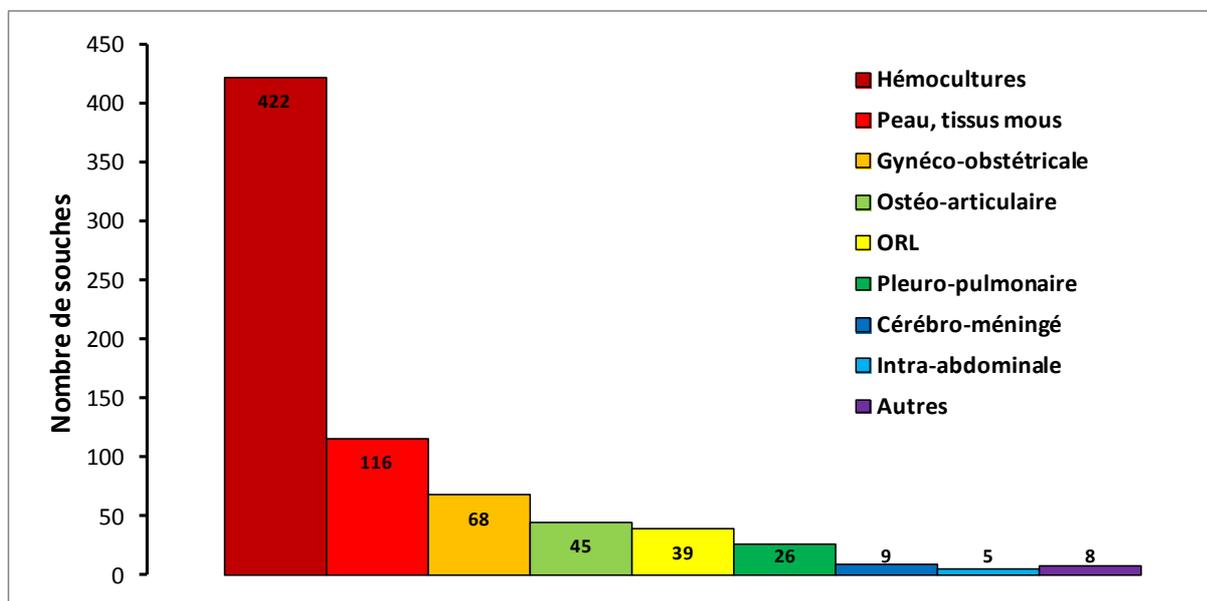


Figure 15. Répartition par type de prélèvement des 738 souches de *Streptococcus pyogenes* expertisées par le CNR-Strep en 2012.

La majorité des souches a été isolée par hémocultures (422/738 soit 57,2%). Les prélèvements dermatologiques (116/738 soit 15,7%) ont été faits au niveau d'infections profondes, ou de lésions superficielles prélevées à l'occasion de cas groupés. Les prélèvements ORL comportent notamment des souches du pharynx de sujets présentant une angine aiguë ou un portage dans l'entourage de malades atteints d'infections invasives.

Le détail des 620 infections invasives est présenté dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Infections invasives dues aux 620 souches de SGA expertisées par le CNR-Strep en 2012.

Type d'infection	Infections invasives		Hémocultures positives		SCTS		Décès	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Septicémie sans foyer	104	16,8	104	100	26	25	25	24
Infections dermatologiques								
DHN	103	16,6	54	52,4	41	39,8	14	13,6
Erysipèle	84	13,5	75	89,3	11	13,1	5	6
Autres infections cutanées	75	12,1	59	78,7	14	18,7	8	10,7
Infections gynéco-obstétriques	93	15	48	51,6	16	17,2	4	4,3
Infections pleuro-pulmonaires	57	9,2	36	63,2	17	29,8	4	7
Infections ostéo-articulaires	62	10	16	25,8	3	4,8	5	8,1
Infections intra-abdominales	10	1,6	7	70	4	40	3	30
Méningites	12	1,9	3	25	5	41,7	2	16,7
ORL	11	1,8	11	100	2	18,2	2	18,2
Infections endo-vasculaires	9	1,5	9	100	3	33,3	0	0

*Syndrome de choc toxique streptococcique

Quatre-vingt quatre pour cent des souches étudiées étaient responsables d'infections invasives (620/738). Parmi celles-ci, les septicémies sans foyer infectieux identifié représentaient 16,8% des cas. Les manifestations dermatologiques représentaient 42,3% des cas incluant 103 cas de dermo-hypodermite nécrosante (DHN), 84 cas d'érysipèle et 75 autres infections cutanées. Parmi les 93 infections gynéco-obstétricales, qui représentent 15% des cas d'infections invasives, la majorité était des infections post-partum reconnues dans les quelques heures ou jours suivant l'accouchement (n=53). Du fait de l'application des recommandations du comité technique national des infections nosocomiales (Circulaire DHOS/E2 – DGS/SD5C N°21 du 22 janvier 2004) et de leur caractère rare ou particulier, ces infections post-partum sont signalées aux DDASS, CCLIN et InVS et font l'objet d'une investigation locale. Leurs manifestations les plus fréquentes sont des endométrites avec ou sans hémocultures positives; exceptionnellement des chorioamniotites. En dehors des cas d'endométrites survenues en post-partum, les autres endométrites étaient liées à un dispositif intra-utérin (n=3) ou étaient survenues en post abortum (n=7). Les autres infections gynéco-obstétricales comprenaient 7 chorioamniotites, 4 péritonites pelviennes, 11 salpingites dont 1 liée à un dispositif intra-utérin et 5 septicémies en dehors de tout contexte obstétrical et 3 batholinites.

La fréquence des autres types d'infections reste stable au regard aux années précédentes.

Un syndrome de choc toxique streptococcique (SCTS) a été identifié chez 142 patients (22,9% des infections invasives) pour lesquels le décès est survenu dans 32,4% des cas (46 patients). Les DHN, les infections pleuro-pulmonaires et les méningites ont été associées dans respectivement 39,8%, 29,8% et 41,7% des cas à un syndrome de choc toxique. Sur l'ensemble des infections invasives, 72 décès intra-hospitaliers ont été signalés lors de l'envoi de la souche, soit dans 11,6% des cas. Les taux les plus élevés de mortalité concernaient les septicémies sans foyer identifié (24%) . La relation entre syndrome de choc toxique streptococcique et génotype *emm* est analysée plus loin.

Les 118 infections non invasives comportaient : 49 infections dermatologiques, 25 infections ou portages vaginaux, 37 infections (angines, phlegmon amygdalien, otite) ou colonisations de la sphère ORL et 7 colonisations trachéo-bronchiques.

Les caractéristiques phénotypiques et moléculaires des 620 souches invasives sont détaillées dans les figures et tableau ci-dessous (Fig. 16, 17, 18, 19 et 20).

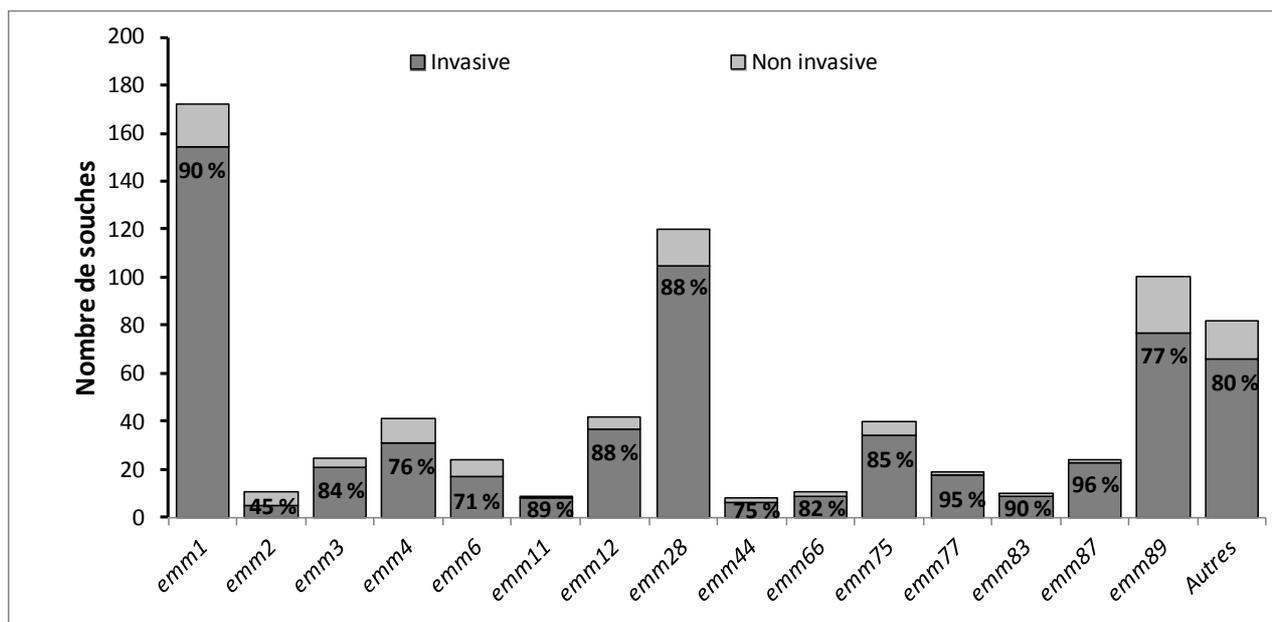


Figure 16. Distribution des différents génotypes *emm* des 738 souches de SGA expertisées en 2012 selon leur caractère invasif ou non invasif.

En 2012, 56 génotypes *emm* différents ont été identifiés parmi les 620 souches de SGA expertisées au CNR-Strep. La répartition des 14 génotypes *emm* les plus fréquemment identifiés dans les infections invasives est représentée Figure 17.

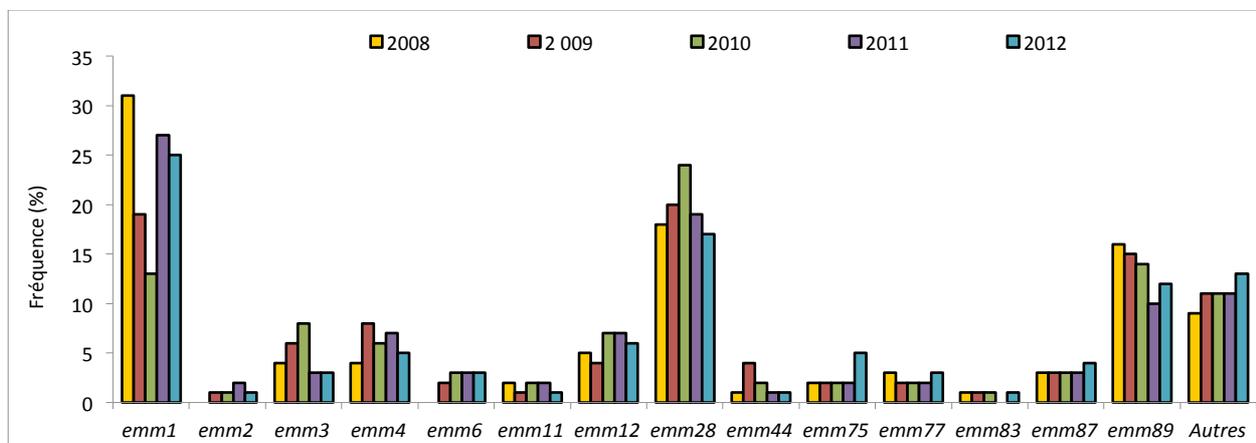


Figure 17. Evolution de la fréquence des principaux génotypes *emm* responsables d'infections invasives entre Janvier 2008 et Décembre 2012.

Parmi les 14 génotypes les plus fréquents, les trois génotypes prédominants sont : *emm1* (25%), *emm28* (17%), et *emm89* (12%), représentant 54% des souches invasives (n=336).

- Le génotype *emm1*, réputé le plus virulent, représente 25% des souches invasives (n= 154). L'augmentation de la fréquence des souches *emm1* amorcée en 2011 se confirme en 2012 constituant le génotype *emm* majoritaire.
- Le génotype *emm28* représente 17% des souches invasives (n=105). Alors que la fréquence des souches *emm28* était en constante augmentation depuis 2007 atteignant 24% des souches invasives en 2010, la diminution de leur fréquence observée en 2011 se poursuit en 2012 atteignant 17% des souches invasives. Cependant, le génotype *emm28* reste dominant et constitue le deuxième génotype en termes de fréquence.
- Les souches *emm89* représentent 12% des souches invasives (n=77) constituant le troisième génotype le plus fréquent.

Les 7 génotypes suivants : *emm3*, *emm4*, *emm6*, *emm12*, *emm75*, *emm77* et *emm87* représentent chacun 3 à 6% des souches invasives expertisées en 2012. Parmi eux, les souches de génotype *emm3*, réputées responsables d'infections sévères dans d'autres pays européens et nord américains qui étaient en augmentation depuis 2007 atteignant 8% en 2010, ont diminué en 2011, se stabilisant à 3% des souches invasives depuis 2011. De la même façon, l'augmentation des souches de génotype *emm6* décrite depuis 2009 se maintient à 3% en 2012. La fréquence des souches *emm12* en augmentation depuis 2007 se stabilise à 6% en 2012. En revanche, la fréquence des souches *emm75* stable à 3% depuis 2008 passe à 7% en 2012.

Les 4 génotypes *emm2*, *emm11*, *emm44* et *emm83* représentent chacun 1% du total des souches invasives.

Les 42 autres génotypes identifiés en 2012, regroupent 74 souches correspondant à 11,9% des souches invasives. Ils incluent chacun 1 à 4 souches et représentent chacun moins de 1% des souches.

Associations entre génotypes *emm* et syndrome de choc toxique streptococcique.

Les souches de génotype *emm1* sont associées dans 40% des cas à un syndrome de choc toxique streptococcique, alors que chez les deux autres génotypes les plus fréquents *emm28* et *emm89*, ce syndrome de choc n'est rapporté respectivement que dans 16 et 13% des cas. Les souches de génotype *emm3* sont également associées à une fréquence élevée de SCTS, à savoir 38% en 2012, alors que pour l'ensemble des infections invasives, tout génotype *emm* confondu, ce syndrome survient en moyenne dans 23% des cas (Fig. 18).

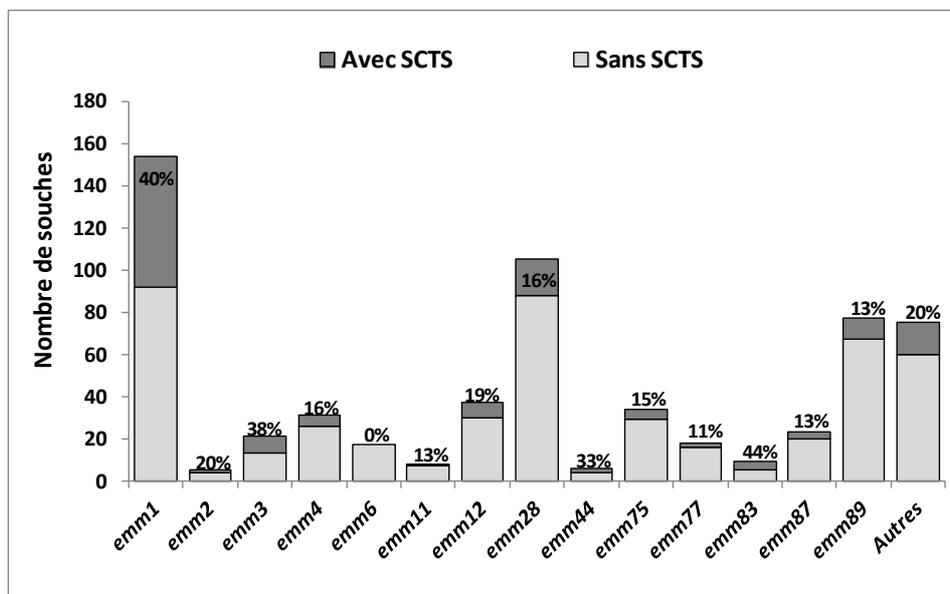


Figure 18. Répartition des génotypes *emm* des souches invasives associées ou non à un syndrome de choc toxique streptococcique (SCTS)

Les gènes *speA*, *speC*, *Ssa* et *SmeZ* codant les toxines ou superantigènes streptococciques sont présents respectivement dans 33%, 51%, 14% et 96% des souches de SGA responsables d'infections invasives (Fig. 19). Le gène chromosomique *speB*, codant la cystéine protéase, a été détecté chez toutes les souches expertisées.

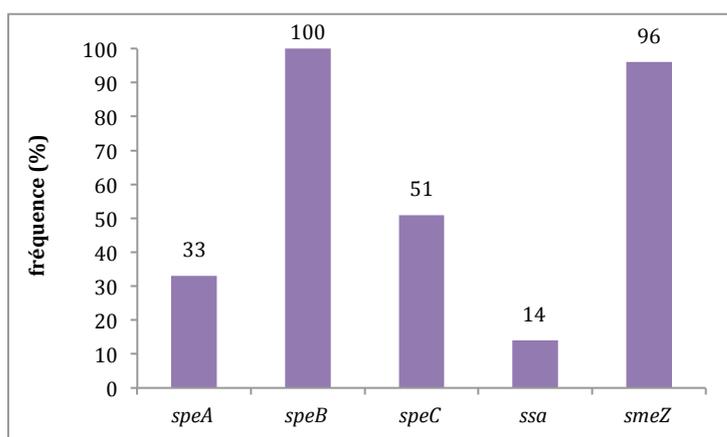


Figure 19. Fréquence des gènes codant les exotoxines ou superantigènes des 620 souches invasives de SGA expertisées en 2012.

La diversité des associations des différents gènes de toxines ou superantigènes en fonction des principaux génotypes *emm* identifiés en 2011 est représentée dans la figure 20.

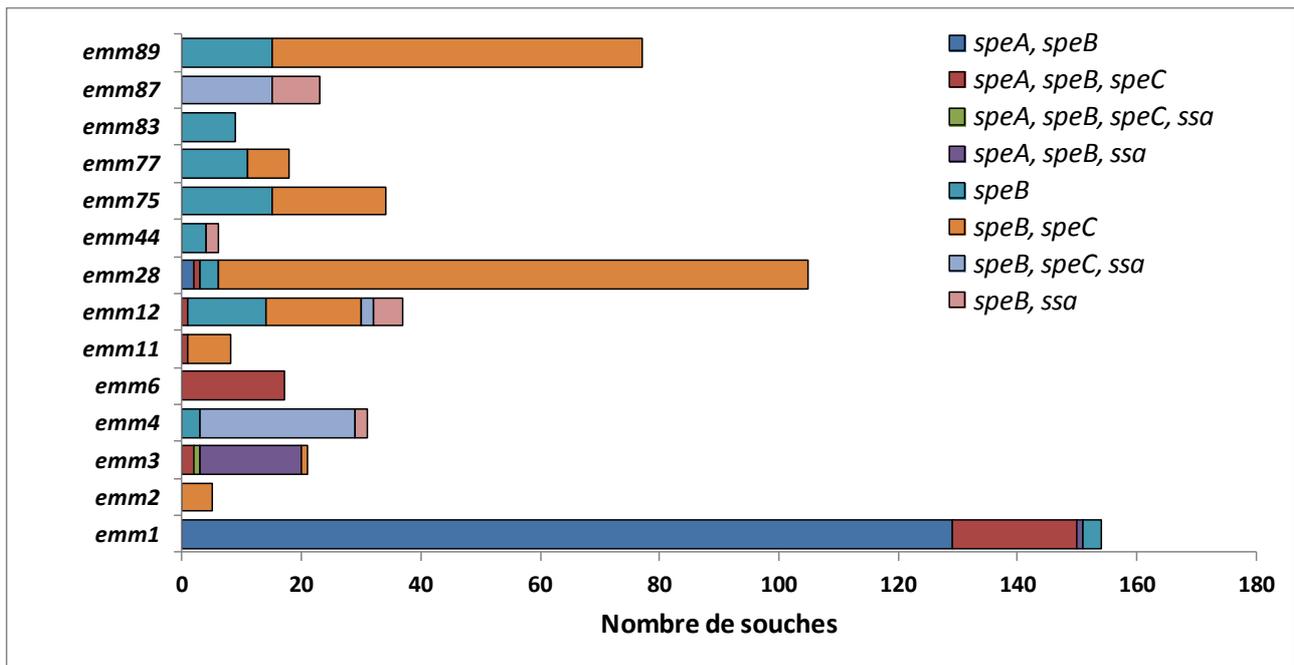


Figure 20. Corrélation entre les gènes codant les exotoxines ou superantigènes et les 14 génotypes emm majoritaires des 620 souches invasives de *Streptococcus pyogenes* expertisées en 2012.

speA localisé sur un prophage a été détecté chez 202 souches, en particulier de génotype *emm1* (n=151 ; 75%) et *emm3* (n=20; 10%). Les autres souches porteuses de *speA* (31; 15%) se répartissaient 12 génotypes différents. *speC* a été retrouvé parmi les 14 génotypes emm les plus fréquents à l'exception des génotypes *emm44* et *emm83*. notamment dans plus de 90% des souches de génotype *emm2*, *emm6*, *emm11* et *emm28*. Dix génotypes emm différents sont représentés parmi les souches porteuses de *ssa*, dont plus de 80% des souches de génotype *emm3*, *emm4* et *emm87*. Toutes les souches de génotype *emm1* possédaient le gène *sic*.

Activités d'expertise de l'année 2012 des souches de SGA isolées chez l'enfant

Au cours de l'année 2012, 159 souches non redondantes de SGA isolées chez des enfants (<18 ans) ont été expertisées dont **121** étaient responsables d'**infections invasives** et **38** isolées au cours d'**infections non-invasives** ou de **colonisations**.

Les sites d'isolement des 159 souches pédiatriques de SGA sont indiqués ci-dessous dans la Figure 21.

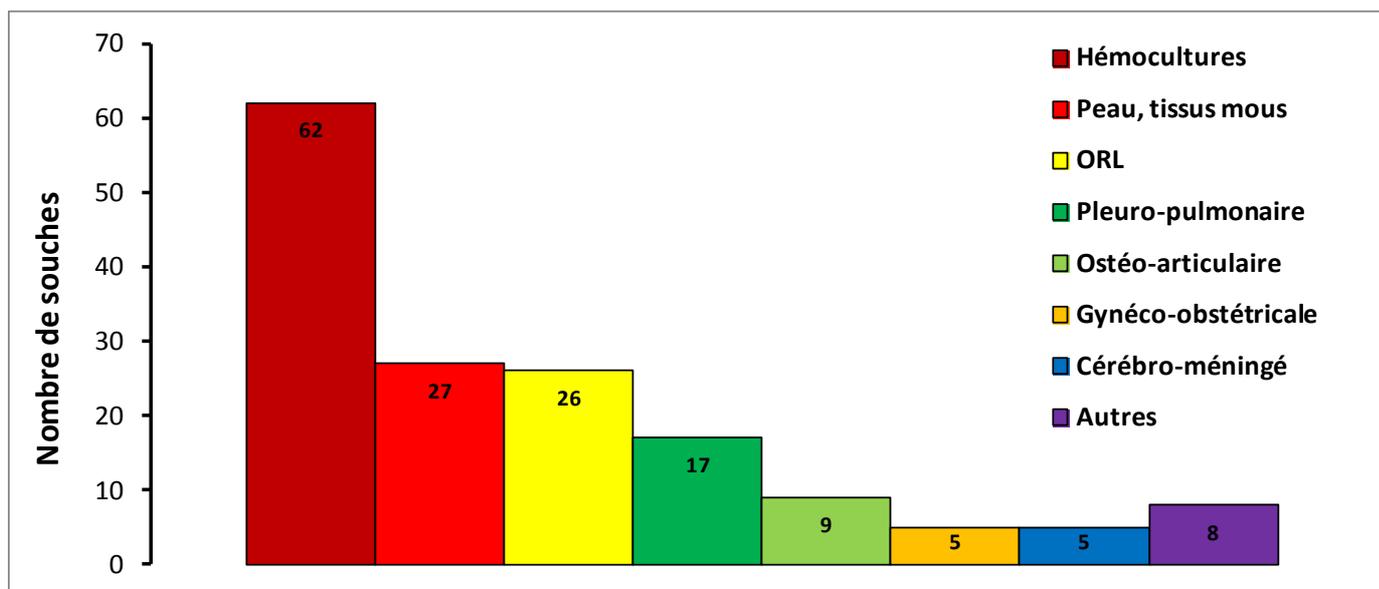


Figure 21 : Répartition par type de prélèvement des 159 souches pédiatriques de SGA expertisées par le CNR-Strep en 2012.

La majorité des souches a été isolée par hémocultures (62/159 soit 39%) puis de prélèvements dermatologiques superficiels ou profonds (27/159 soit 17%) et de prélèvements ORL (26/159 soit 16,4%).

Le détail des 121 infections invasives pédiatriques est présenté dans le Tableau 5.

Type d'infection	Infections invasives		Hémocultures positives		SCTS		Décès	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Septicémie sans foyer	21	17,4	21	100	3	11,7	5	14,9
Infections dermatologiques								
DHN	7	5,8	3	48,1	2	22,1	1	15,4
Erysipèle	2	1,7	0	92,3	1	7,7	0	5,8
Autres infections cutanées	29	24,0	18	45,8	4	8,3	1	4,2
Infections pleuro-pulmonaires	22	18,2	4	68,8	9	20,8	4	16,7
Infections ostéo-articulaires	18	14,9	9	22	1	4,9	0	0
Méningites	7	5,8	0	7,1	2	28,6	3	28,6
ORL	7	5,8	4	66,6	1	1	0	0
Infections gynéco-obstétriques	6	5,0	2	42,3	1	4,2	0	0
Infections intra-abdominales	1	0,8	1	66,7	1	25	0	16,7
Infections endo-vasculaires	1	0,8	0	100	0	16,7	0	16,7

Tableau 3 : Infections invasives de l'enfant dues aux 121 souches de SGA expertisées par le CNR-Strep en 2012.

Soixante-seize pour cent des souches étudiées étaient responsables d'infections invasives (121/159). Les septicémies sans foyer infectieux identifiées représentaient 17,3% des cas. Les infections dermatologiques représentaient 31,4% des cas incluant 7 cas de DHN, 2 cas d'érysipèle et 29 autres infections cutanées. Les infections pleuro-pulmonaires représentaient 18,2% des cas, accompagnées d'une pleurésie dans 50% des cas. Les infections ostéo-articulaires représentaient le troisième grand type d'infections invasives (14,9%), incluant 12 arthrites simples et 6 infections osseuses.

Un SCTS a été identifié chez 25 patients (20,7%) dont 8 cas (32%) ont évolué défavorablement et sont décédés. Parmi l'ensemble des infections invasives pédiatriques, 14 décès (11,6%) ont été signalés.

Les 38 infections non invasives comportaient : 20 infections (angines, phlegmon amygdalien, otite) ou colonisations de la sphère ORL, 14 infections dermatologiques, 2 anites et 2 vulvo-vaginites.

Les caractéristiques phénotypiques et moléculaires des 121 souches pédiatriques invasives sont détaillées dans les figures et tableau ci-dessous (Fig. 22).

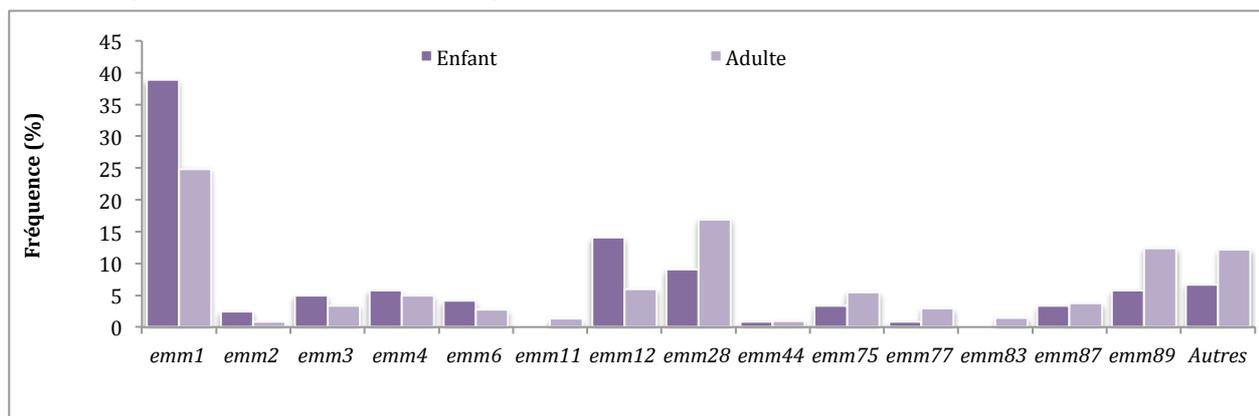


Figure 22 : Distribution des 14 génotypes emm les plus fréquents dans les infections invasives de l'enfant et de l'adulte.

Chez l'enfant 19 génotypes emm différents ont été identifiés dans les infections invasives. Parmi les 14 génotypes les plus fréquents, les trois génotypes prédominants sont : emm1 (39%), emm12 (14%), et emm28 (9%), représentant 62% des souches invasives (n=75).

- Le génotype emm1, réputé le plus virulent, représente 39% des souches invasives (n=47).
- Les souches emm12 représentent 14% des souches invasives (n=17). Ce génotype est beaucoup fréquent dans les infections invasives pédiatriques que parmi les infections invasives de l'adulte.
- Le génotype emm28 représente 9% des souches invasives pédiatriques (n=11), se situant en troisième position contrairement aux infections invasives adultes où il représente 17%.

Les 7 génotypes suivants : emm2, emm3, emm4, emm6, emm75, emm87 et emm89 représentent chacun 2 à 6% des souches pédiatriques invasives expertisées en 2012. Parmi eux, les souches de génotype emm89 sont 2 fois moins fréquentes dans les invasives pédiatriques que chez l'adulte ne représentant que 6% des souches. Au contraire, les génotypes emm3 et emm4 représentant respectivement 5% et 6% des infections invasives pédiatriques, sont plus fréquents que chez l'adulte où ils représentent respectivement 3% et 5%.

Les génotypes emm44 et emm77 représentent <1% des souches invasives pédiatriques.

Les génotypes emm1 et emm83 n'ont pas été identifiés dans les souches invasives pédiatriques.

3.1. D. Activités relatives à *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*

L'espèce *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* comprend des souches humaines appartenant au groupe de Lancefield C ou G, ou plus rarement au groupe A. Ces souches possèdent un pouvoir pathogène proche de celui de *S. pyogenes* dont les facteurs de pathogénicité comme la protéine M et des toxines ou superantigènes..

En 2012, le nombre d'isolats de *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* s'est élevé à 68 (Tableau 4).

Tableau 4 : Répartition annuelle des souches de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* reçues au CNR-Strep depuis Janvier 2007.

	2007	2008	2009	2010	2011	2012
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	17	38	45	54	37	68

Soixante-huit souches dédoublonnées de *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* ont été expertisées au CNR-Strep en 2012 **Figure23, et 24**.

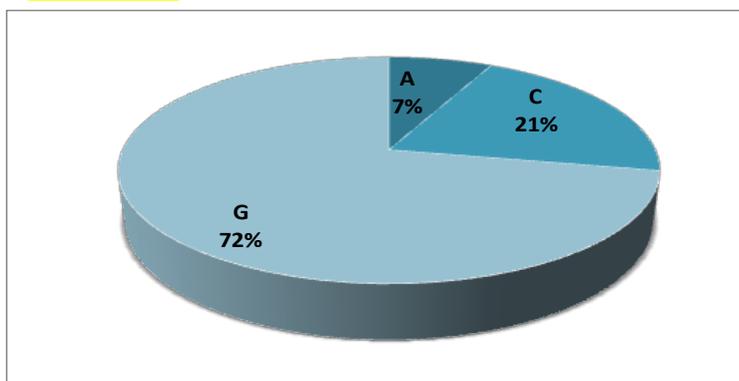


Figure 23. Distribution du groupe de Lancefield des 68 souches de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* expertisées en 2012.

Comme pour *S. pyogenes* le typage du gène *emm* de la protéine M a été réalisé. Dix-sept génotypes *emm* distincts ont été identifiés en 2012 (FigureXX).

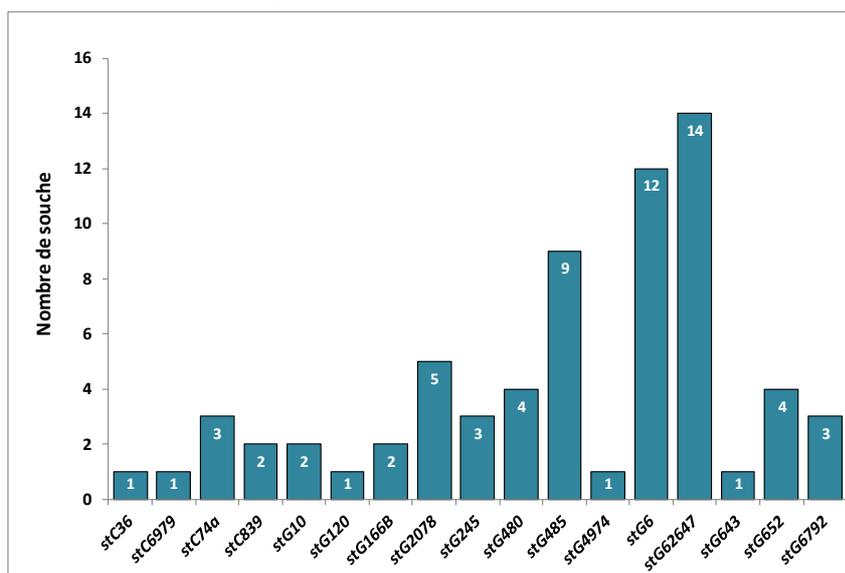


Figure 24. Distribution du génotype *emm* des 68 souches de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* expertisées en 2012.

Les génotypes prépondérants stG6 et stG62647 représentent respectivement 21% et 18% des souches.

La majorité des souches étudiées a été isolée d'infections invasives (48/68, soit 68%)

Toutes les souches sont sensibles aux β -lactamines (pénicilline G, amoxicilline et céfotaxime), aux glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) et présentent un bas niveau de résistance à la gentamicine.

La résistance à l'érythromycine concerne 18 souches (26%). La répartition des gènes de résistance aux macrolides et apparentés est la suivante *erm(A)* 72,2%, *erm(B)* 5,6% et *mef(A)* 22,2%.

La résistance à la tétracycline a été observée chez 15 souches (22%) dont 14 d'entre elles possèdent le gène de résistance *tet(M)*. La recherche du déterminant génétique support de la résistance à la tétracycline s'est révélée négative pour la dernière (*tet(M)*, *tet(O)*, *tet(L)*, *tet(K)*, *tet(D)*, *tet(S)* et *tet(T)* négatif). Parmi ces 15 souches résistantes à la tétracycline, 7 souches présentent également une résistance associée à l'érythromycine.

3.1. E. Activités relatives aux autres Streptocoques et espèces bactériennes apparentées.

1115 souches appartenant à la famille des *Streptococcaceae* en dehors des souches de streptocoques pyogènes (SGA, SGB, SGG, SGC) ont été reçues par le CNR-Strep pour expertise entre 2007 et 2012. En 2012, la constitution d'une base de donnée fiable de profil de spectre pour l'ensemble des espèces de cocci à gram positif catalase négative a été réalisée. Cette base est en cours de valorisation auprès de différents industriels, elle est utilisée en routine pour identifier la totalité des streptocoques au laboratoire et au CNR. Ainsi toutes les souches envoyées sont identifiées par les techniques usuelles dont la spectrométrie de masse (MALDI-TOF), ainsi que par séquençage du gène *sodA* en cas de nécessité.

3.2. Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

3.2. A. SGB et antibiotiques

β -lactamines

Les SGB restent très sensibles aux β -lactamines qui constituent le traitement de référence. Des souches de sensibilité diminuée aux β -lactamines ont été décrites en Asie et aux Etats Unis (Chu YW et al., J. Antimicrob Chemother. 2007, Nagano et al, Antimicrob Agents Chemother 2008; Kimura et al. Antimicrob , Agents Chemother 2008 ; Dahesh et al. Antimicrob Agents Chemother 2008). Les CMI aux β -lactamines de toutes les souches de SGB responsables d'infections invasives depuis la création du CNR-Strep sont déterminées. A ce jour aucune modification de sensibilité aux β -lactamines n'a été détectée chez les SGB.

Macrolides

Les données obtenues confirment que l'incidence de la résistance à l'érythromycine est supérieure à 20% des souches isolées (Fig. 25). Cette résistance est significativement plus élevée chez les souches responsables d'infections invasives de l'adulte. Il est noté de manière remarquable que l'incidence de la résistance à l'érythromycine pour les souches isolées d'infections invasives aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant est en nette diminution, passant respectivement chez l'adulte de 32,8 % en 2011 à 29,4 % en 2012 et surtout chez l'enfant passant de 21,3% en 2011 à moins de 15% en 2012. Cette tendance sera à surveiller dans les années qui viennent.

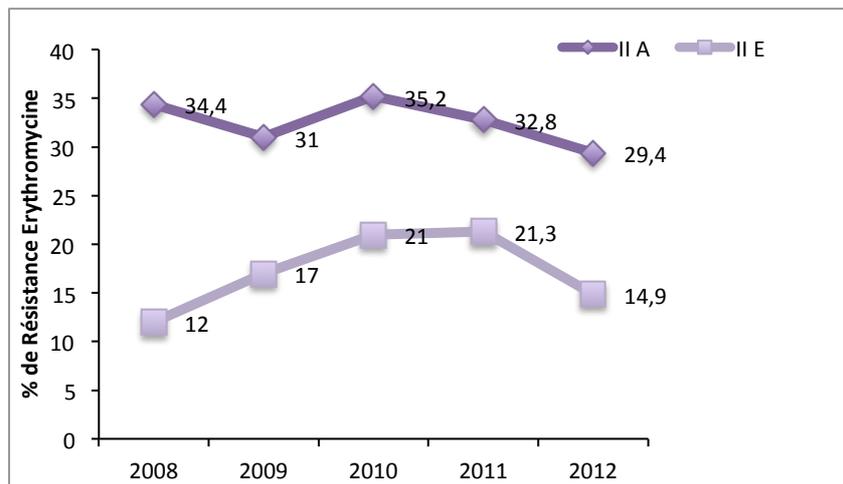


Figure 25. Evolution de la résistance à l'érythromycine des souches de SGB responsables d'infections invasives chez l'adulte (II A) et chez l'enfant (II E).

La résistance à l'érythromycine est corrélée à l'augmentation des souches de SC V pour lesquelles le pourcentage de souches résistantes à l'érythromycine atteint en 2012 plus de 50% chez les souches de l'adulte, 25% chez celles de l'enfant.

La répartition des gènes de résistance aux macrolides entre 2008 et 2012 est représenté dans la Figure 26. Le principal déterminant qui rend compte pour plus de 50% de la résistance à l'érythromycine est le gène *erm(B)* dont la fréquence est relativement stable depuis 5 ans. Le déterminant *mef(A)* semble être en augmentation en 2012 au profit du déterminant *erm(A)*. Ces tendances seront à confirmer dans les prochaines années. (Fig. ??).

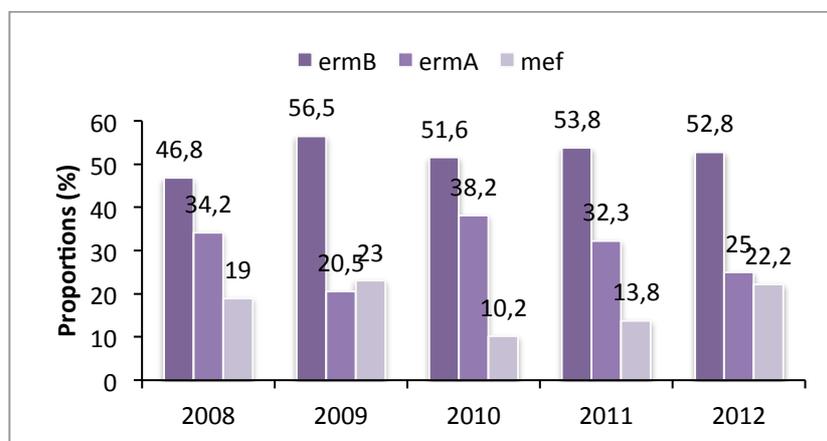


Figure 26. Distribution des gènes de résistance à l'érythromycine en fonction de l'année d'isolement chez les souches de SGB responsables d'infections invasives.

Tétracyclines

L'incidence de la résistance aux tétracyclines chez les SGB (classe d'antibiotiques qui constitue un marqueur épidémiologique chez ce streptocoque) reste très élevée, puisqu'elle concerne 91% des souches responsables d'infections invasives néo-natales et 81% des souches isolées chez l'adulte (Fig. ??). L'incidence de cette résistance reste très élevée depuis de nombreuses années. Le déterminant *tet(M)* est retrouvé dans 100% des cas en 2012.

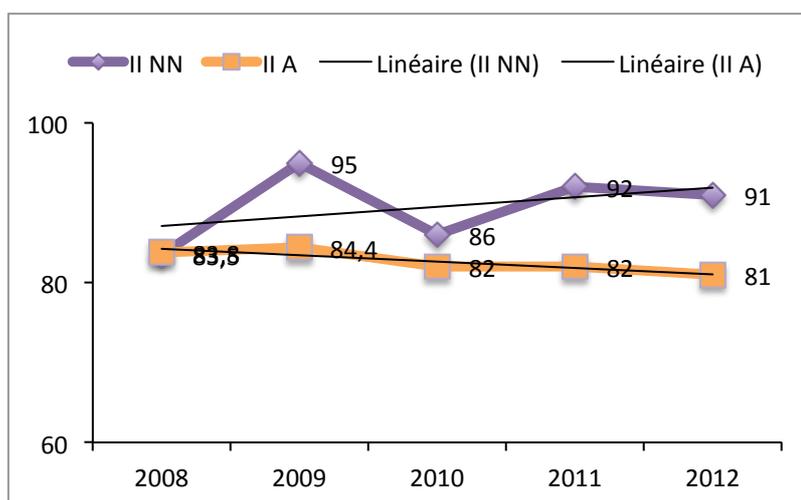


Figure 27. Evolution de la résistance à la tétracycline des souches de SGB responsables d'infections invasives chez l'adulte (II A) et chez l'enfant (II E) et fréquence du gène tet(M).

Aminosides

Les SGB, sont naturellement résistants à bas niveau aux aminosides. Au cours de l'année 2012, deux souches isolées d'infections invasives, présentaient un haut niveau de résistance a la gentamicine, due à la présence de l'enzyme bi-fonctionnelle aac6'-aph2 ". L'analyse du support génétique de ces souches est en cours.

Fluoroquinolones

La surveillance de la sensibilité aux FQs est poursuivie. En 2012, deux souches invasives présentaient une résistance acquise aux FQs avec des CMI à la lévofloxacine et à la ciprofloxacine > 32mg/L. Toutes les deux étaient de SC III, non ST-17, résistantes à la tétracycline (*tet(M)*), sensibles aux macrolides et de bas niveau de résistance aux amnosides. Elles ont été isolées chez des adultes, l'une d'une hémoculture et l'autre d'une hémoculture et d'un liquide articulaire. Le support génétique est en cours de caractérisation.

3.2. B. *Streptococcus pyogenes* et sensibilité aux antibiotiques (Adulte)

SGA adultes et antibiotiques

Toutes les souches de SGA restent sensibles aux β -lactamines (pénicilline G, amoxicilline et céfotaxime), aux glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) et présentent un bas niveau de résistance à la gentamicine.

La diminution de la fréquence des **souches résistantes à l'érythromycine** initiée il y a dix ans se poursuit avec un taux de résistance à l'érythromycine s'élevant à 4,3% en 2012. La légère tendance à la hausse du nombre de souches résistantes à l'érythromycine observée en 2010 et 2011 ne se confirme pas en 2012 (Fig. 21).

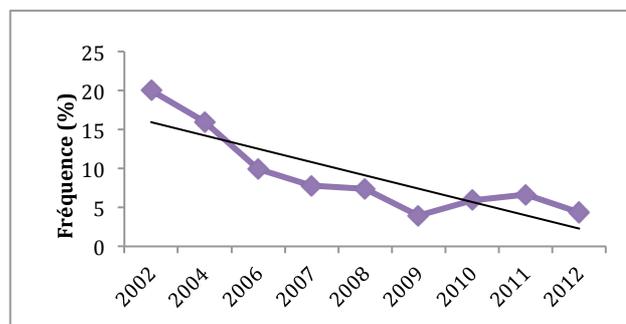


Figure 28. Evolution de la résistance à l'érythromycine des souches de SGA isolées chez l'adulte de 2002 à 2012.

Parmi les 32 souches de SGA résistantes à l'érythromycine en 2012, 18 souches sont porteuses du gène *erm(B)*, qui confère également une résistance à la clindamycine (phénotype MLS_B), 8 souches portent le gène *erm(A)* et 6 souches sont porteuses du gène *mef(A)* qui caractérise le mécanisme d'efflux (phénotype M) (Tableau 4 et Figure 22).

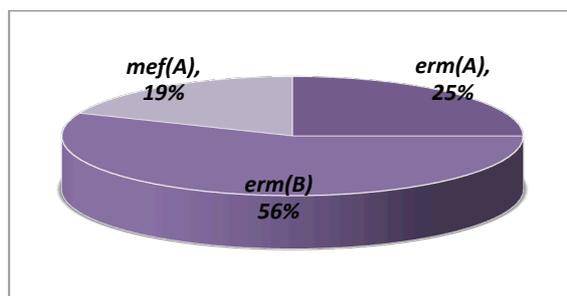


Figure 29. Fréquence des gènes de résistance à l'érythromycine chez les souches de SGA adultes expertisées en 2012.

Ce dernier mécanisme est observé chez des souches résistantes à l'érythromycine appartenant aux génotypes *emm4* (n=1), *emm6* (n=1), *emm8* (n=1), *emm9* (n=1), *emm113* (n=1), et stG1750 (n=1). Le phénotype MLS_B observé chez 18 souches résistantes à l'érythromycine est constitutif pour 14 souches et inducible pour les 4 autres souches. Parmi ces 18 souches, 5 présentent aussi un haut niveau de résistance à la kanamycine dont 3 d'entre elles sont de génotype *emm11*. Aucune souche de génotype *emm1* résistante à l'érythromycine *via* le gène de résistance *erm(B)* décrite en 2010, n'a été retrouvée parmi les souches de SGA expertisées au CNR-Strep.

Tableau 5. Corrélation entre le génotype *emm* et les gènes de résistance à l'érythromycine chez les souches de *S. pyogenes* expertisées en 2012.

	<i>erm(A)</i>	<i>erm(B)</i>	<i>mef(A)</i>
<i>emm1</i>		2	
<i>emm4</i>			1
<i>emm6</i>		1	1
<i>emm8</i>	1		1
<i>emm9</i>			1
<i>emm11</i>		4	
<i>emm12</i>		1	
<i>emm28</i>	1	1	
<i>emm44</i>	1		
<i>emm58</i>		1	
<i>emm65</i>	1		
<i>emm73</i>		1	
<i>emm77</i>	3	1	
<i>emm89</i>	1	5	
<i>emm113</i>			1
<i>emm144</i>		1	
st G1750			1

La répartition des gènes de résistance à l'érythromycine selon le génotype *emm* est présentée dans le tableau 5.

La **résistance à la tétracycline** a été observée pour 90 souches, soit 12,2% (18% en 2006, 15% en 2007, 13% en 2008, 19% en 2009, 18% en 2010 et 12% en 2011). Quatorze d'entre elles présentent une résistance associée à l'érythromycine et à la clindamycine et une seule souche présente une résistance associée à l'érythromycine seule. Les gènes de résistance à la tétracycline ont été recherchés chez les 78 souches résistantes. Leur répartition est la suivante : 68 souches sont porteuses du gène *tet(M)*, 10 souches ont le gène *tet(O)*, 1 souche a le gène *tet(L)* et 10 souches ont à la fois les gènes *tet(M)* et *tet(L)* (Fig. 23). Le support génétique de résistance à la tétracycline n'a pas été objectivé pour une souche ; la recherche des gènes de résistance *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(L)*, *tet(K)*, *tet(D)*, *tet(S)* et *tet(T)* étant négative. Les 90 souches résistantes à la tétracycline se répartissent parmi 38 génotypes *emm* différents.

Tableau 6. Résistance à l'érythromycine et à la tétracycline des souches expertisées en 2012.

Infections invasives (n=620)		Infections non-invasives (n=118)	
Ery-R (%)	Tétra-R (%)	Ery-R	Tétra-R
24 (3,9%)	75 (12,1%)	8 (6,8%)	15 (12,7%)

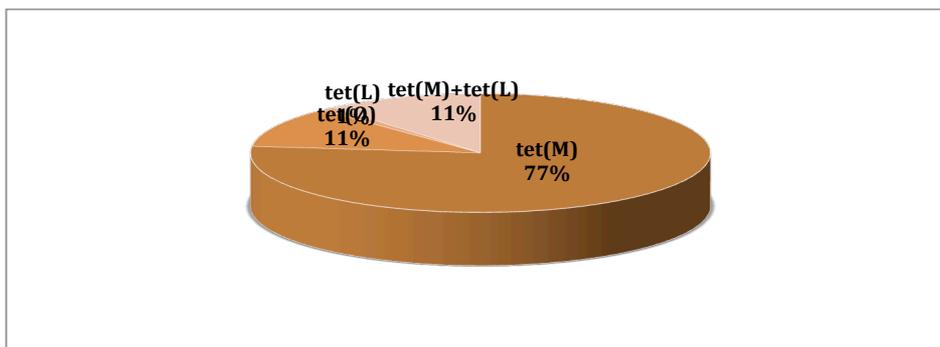


Figure 30. Fréquence des gènes de résistance à la tétracycline chez les souches de SGA expertisées en 2012.

Une diminution de sensibilité aux **fluoroquinolones** a été observée pour 21 souches, soit 2,8%. Dix-huit d'entre elles appartiennent à 3 génotypes majoritaires : *emm6* (n=5), *emm75* (n=8) et *emm89* (n=5). Parmi ces 18 souches, 2 présentent une résistance associée à la tétracycline et 2 autres à l'érythromycine.

SGA pédiatriques et antibiotiques

Parmi les souches invasives de SGA pédiatriques expertisées en 2012, seules 2 souches étaient résistantes à l'érythromycine soit 1,7%. On note donc une décroissance continue de la résistance à l'érythromycine depuis 2007 Figure 31 et Tableau 7.

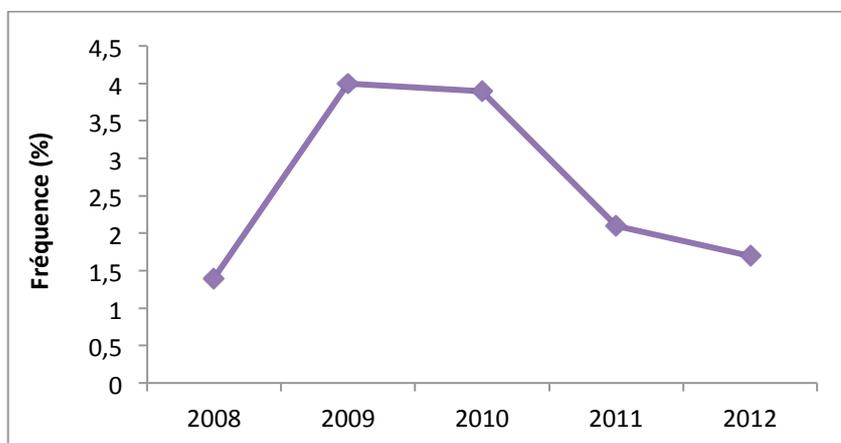


Figure 31. Evolution de la résistance à l'érythromycine des souches pédiatriques de SGA isolées entre 2008 et 2012.

Tableau 7. Profil de résistance des 2 souches invasives pédiatriques résistantes à l'érythromycine expertisées en 2012.

	KAN	GEN	ERY	CLI	TET	LVX	BAC	Gène de résistance
<i>emm4</i>	BNR	BNR	R	S	S		S	<i>mef(A)</i>
<i>emm12</i>	BNR	BNR	R	S	S		S	<i>mef(A)</i>

KAN=kanamycine, GEN=gentamicine, ERY=érythromycine, CLI=clindamycine, TET=tétracycline, LVX=lévofloxacine, BAC=bacitracine, BNR=bas niveau de résistance

Les 2 souches invasives pédiatriques résistantes à l'érythromycine expertisées en 2012 étaient respectivement de génotype *emm4* et *emm12*. Pour chacune d'entre elle le support de la résistance était le gène *mef(A)* et aucune résistance associée n'a été observée.

Une diminution de sensibilité aux fluoroquinolones a été observée pour 2 souches pédiatriques de génotype *emm75* impliquées dans une infection invasive.

3.3. Contribution à la surveillance épidémiologique

Investigation des cas groupés à SGA

En 2012, 104 souches de *Streptococcus pyogenes* ont été adressées au CNR-Strep dans le cadre d'une suspicion de cas groupés d'infections communautaires ou nosocomiales ainsi que 2 souches de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. Pour l'ensemble de ces 106 souches, l'expertise a été complétée par une comparaison des souches impliquées dans la suspicion de cas groupés. La comparaison des souches s'effectue le plus souvent par PFGE à l'exception des souches de génotype *emm1* pour lesquelles cette technique est peu discriminante. Dans ce cas le gène *sic* est séquencé et les séquences sont comparées entre elles.

1. Les échanges d'informations entre les équipes de l'InVS recevant les signalements d'infections sporadiques nosocomiales ou de cas groupés et le LA-SGA-A ont été formalisés au cours de l'année 2012. Seuls les épisodes pour lesquels l'identité des souches a été objectivée au CNR-Strep sont regroupés dans le Tableau 8.

Détail des 24 épisodes de cas groupés analysés en 2012 (Tableaux 8, 9 mis en annexe)

23 épisodes de cas groupés d'infection ou de colonisation par *Streptococcus pyogenes* et un épisode de cas groupés d'infection par *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* ont été confirmés par le CNR-Strep. L'origine clonale des souches a été confirmée par la similitude des marqueurs moléculaires.

Les 24 cas groupés ont concernés 84 personnes (62 malades, 2 nouveau-nés colonisés, et 20 contacts porteurs de SGA aux niveaux nasal, pharyngé, trachéal ou bronchique). Ces épisodes ont eu lieu dans 23 agglomérations métropolitaines distinctes.

Les 24 épisodes, incluant de 2 à 27 isolats chacun, ont concerné :

- 13 épisodes d'infections du post-partum, dont 4 avec transmission intra-familiale et un cas dû à une souche de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*.
- 1 cas groupé d'angines communautaires au sein d'une colonie incluant 4 enfants et 11 adultes.
- 3 cas groupés d'infections communautaires à transmission intra-familiale.
- 1 cas groupé d'infections chez des personnes âgées séjournant en EHPAD.
- 3 cas groupés nosocomiaux survenus dans des services de psychiatrie, dermatologie et chirurgie digestive.
- **1 cas groupé d'infections nosocomiales dans un centre de soins de suite incluant 27 personnes.**
- 2 cas groupés survenus chez des patients hospitalisés dans un même hôpital.

Sur un total de 62 malades, 6 SCTS ont été signalés chez 4 femmes entre 34 et 92 ans et 2 hommes de 58 ans et 82 ans. Six décès ont été rapportés, concernant 4 femmes de 34 ans à 98 ans atteintes respectivement d'un érysipèle, d'une septicémie sans foyer identifié associé, d'une nécrose utérine post-abortum et d'une DHN, chacun des cas étant associé à un SCTS. Les 2 derniers décès sont survenus chez des hommes âgés de 38 ans et 80 ans atteints respectivement d'une septicémie sans foyer identifié associé et d'une DHN compliquée d'un SCTS.

Les isolats de SGA des 62 malades et 22 contacts liés aux épisodes survenus en 2012 appartiennent à 9 génotypes *emm* différents. Parmi les génotypes *emm* impliqués dans ces cas groupés, 8 appartiennent à l'un des 15 génotypes *emm* majoritaires en 2012. Le cas groupé d'infections nosocomiales survenu dans un centre de soins de suite incluant 27 personnes, concernait un clone de souches de génotype *emm89*.

3.4 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens

Participation à un Contrat Européen EraNet : « Mechanisms and modulation of innate immune responses to *S. pyogenes* and *S. pneumoniae* » terminé fin 2012

Le thème du contrat a été d'étudier et de caractériser les mécanismes d'adaptation et de modulation à la réponse immunitaire innée des SGA et du pneumocoque, le coordonnateur et les participants sont :

Pavel KOVARIK, Max F. Perutz Laboratories University of Vienna

Emmanuelle CHARPENTIER Max F. Perutz Laboratories, University of Vienna, Austria

Ilka JULKUNEN, Virus infection unit, Department of vaccination and immune protection Helsinki, Finland

Sylvia KNAPP, Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences

& Dept. of Medicine 1, Div. of Infectious Diseases & Tropical Medicine, Medical University Vienna

Participation à un Contrat Franco-Israélien : A switch of beta hemolytic streptococci from benign colonizer to highly invasive pathogens. Le coordonnateur et les participants sont :

Philippe Glaser, Institut Pasteur

Emanuel Hanski, University Jérusalem.

Participation au réseau Européen DEVANI : Development of vaccine for neonatal infections

Participation à une demande Infect-ERA : Innovative Strep (ANR) (Avril 2013), sur la thématique SGA

Participation à une demande Meningitis Research Fondation (Mai 2013), sur la thématique SGB

4. Alertes. Sans objet cette année

5. Activités d'information, de formation et de conseil

5.1 Activité de Conseil aux professionnels :

Un courrier a été adressé avec le compte-rendu complet d'expertise de chaque souche, en complément des résultats intermédiaires transmis par courriel et discutés par téléphone. Les réponses aux appels téléphoniques ont été pluri-hebdomadaires et concernaient notamment les cas sévères et les cas groupés ; les conseils ont porté sur la prise en charge du malade et l'application des recommandations de prévention des cas secondaires dans la communauté et en milieu hospitalier ; les documents de référence ont été adressés par courriel aux nouveaux correspondants.

Création d'un site web. <https://www.cnr-strep.fr>. Les utilisateurs ont accès à l'actualité concernant les infections à streptocoques, l'ensemble des prestations réalisées par le CNR-Strep, les liens utiles concernant les recommandations nationales et internationales sur les infections à streptocoques, les feuilles de demande téléchargeables, les résultats en ligne grâce à un accès sécurisé.

5.2 Activités d'Enseignement

Pr. Claire Poyart

- Cours, séminaires et stages pour le Diplôme d'Enseignement Spécialisé de Biologie d'Île de France pour les internes en Médecine et en Pharmacie (DES et AFSA).
- 2^{ème} Cycle des Etudes Médicales, DCEM1, Module 7 « Santé et environnement – Maladies transmissibles ».

- Cours de Bactériologie Médicale de l'Institut Pasteur. Streptocoques : taxonomie, identification, pouvoir pathogène, résistance aux antibiotiques. Encadrement de la semaine de travaux pratiques sur les cocci à gram positif de l'Institut Pasteur.

Pr. Anne Bouvet

- Diplôme d'Enseignement Spécialisé de Biologie d'Ile de France, Cours, séminaires et stages pour les internes en Médecine et en Pharmacie (DES, AFS et AFSA, DFMS et DFMSA).
- 2^{ème} Cycle des Etudes Médicales, DCEM1, Module 7 « Santé et environnement – Maladies transmissibles ».

5.3 Diffusion aux professionnels : conférences :

- Enseignement au personnel de laboratoire dans le cadre de l'Institut européen de Formation continue Bioformation : Les urgences en bactériologie.

5.4 Activités de conseil aux professionnels :

- Les laboratoires sont régulièrement appelés pour délivrer des conseils thérapeutiques aux médecins concernant le traitement des pathologies invasives à SGA. Ils diffusent également les recommandations concernant la prise en charge des invasives à *Streptocoques*.

6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR-Strep

6.1. Les activités de recherche ont été développées dans l'équipe INSERM de Claire Poyart à l'Institut Cochin.

Les principaux objectifs de notre activité de recherche vise à définir les bases moléculaires, à élucider les facteurs et les mécanismes impliqués dans la pathogenèse des infections à Streptocoques du groupe A (**SGA ; *Streptococcus pyogenes***) et du groupe B (**SGB ; *Streptococcus agalactiae***).

Streptococcus agalactiae Notre but est de comprendre pourquoi une bactérie commensale chez l'adulte est un pathogène redoutable chez le nouveau né. Le scénario physiopathologique probable des infections invasives à SGB, suggère qu'une fois dans le sang, il peut traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE), coloniser et se multiplier dans le système nerveux central (SNC) donnant lieu à une méningite.

Nos principaux objectifs visent à déterminer le rôle de certaines protéines de surface, de composants de la paroi comme les acides lipotéchoïques, du polysaccharide capsulaire, de protéines sécrétées dans le processus infectieux dans : l'adhésion aux différents épithelia et endothelia rencontrés au cours de l'infection et permettant le franchissement des barrières telles que la barrière intestinale, pulmonaire et la barrière hémato-encéphalique.; l'induction d'une réponse inflammatoire par les cellules immunitaires au niveau des différents organes infectés. Nous étudions également les mécanismes bactériens permettant de résister aux différents stress et notamment au stress oxydatif.

Streptococcus pyogenes Un premier projet vise à élucider les événements moléculaires génétiques contribuant aux infections épidémiques à SGA. En utilisant la collection de souches de SGA parfaitement bien caractérisées sur le plan des données cliniques grâce aux informations recueillies par le CNR-Strep, nous cherchons à identifier des polymorphismes génétiques et les circuits de régulation modulant la virulence et donc à l'origine des différences entre les manifestations cliniques observées, par exemple autour de cas groupés. Un deuxième projet vise à déchiffrer les composants bactériens et de l'hôte impliqués dans le tropisme urogénital et notamment endométrial de certaines souches.

Les objectifs sont assez semblables à ceux visés dans les études menées avec SGB. L'adhésion à l'endomètre, l'infection de l'endomètre, probablement lors de la présence de brèches, puis l'extension de cette infection aux tissus avoisinants la réponse inflammatoire accompagnant ces infections.

Pour répondre à ces questions, plusieurs approches expérimentales complémentaires sont utilisées. Elles sont brièvement listées ci dessous :

- Séquençage à haut débit pour la caractérisation des populations de SGB ou de SGA, mutagenèse par transposition ou remplacement allélique, pour la construction de mutants, approches biochimiques, pour la caractérisation des interactions avec les ligands potentiels, modèles de culture cellulaire, pour l'étude des capacités d'adhésion et d'invasion des différentes souches et mutants construits.
- Modèles murins pour étudier les effets des mutations spécifiques sur la capacité des streptocoques à coloniser différents tissus ou à provoquer une septicémie et une méningite, et d'échapper à la réponse immunitaire innée.

Cette recherche fondamentale et médicale devrait contribuer à une meilleure compréhension de la physiopathologie des infections streptococciques, mais également à la mise au point de nouvelles stratégies thérapeutiques (identification de nouvelles cibles vaccinales) ou d'outils innovants pour le traitement, la prévention et le contrôle des infections dues à ces streptocoques.

Nos principaux collaborateurs sont : P. Trieu-Cuot (I. Pasteur), M. Lecuit (I. Pasteur), P. Glaser (I. Pasteur), A. Gruss (INRA), E. Hanski (Jérusalem), A. Esfratiou (HPA, Collindale Royaume-Uni), E. Charpentier (Braunschweig, Allemagne), P. Kovarik (Vienne, Autriche).

6.2. Travaux d'évaluation des techniques 2012

1. **Identification par MaldiToF des «*Streptococcus bovis*»** Nous avons développé une base propre au CNR-strep permettant l'identification fiable et discriminante de toutes les espèces appartenant au groupe bovis. (Cochin, I. Pasteur)
2. **Identification par MaldiToF des «*Streptococcus* bêta-hémolytique A, B, C, G, F»**
3. **Identification par MaldiToF des Streptocoques viridans**
4. **Séquençage par NGS** de souches de SGA responsables de cas groupés (Institut Pasteur et Cochin)
5. Mise au point d'une technique permettant de s'affranchir du MLTypage basée sur le séquençage des gènes CRISPR (Cochin Pasteur)

6.3. Liste des Publications et Communications en 2012 en rapport avec l'activité du CNR

Publications dans des revues internationales

Claire POYART , > 120 publications dans des revues internationales à comité de lecture, Score SIGAPS 2002-2013 : 1212, H-index : 37

1. Bellais S, Six A, Fouet A, Longo M, Dmytruk N, Glaser P, Trieu-Cuot P, Poyart C. **Capsular switching in group B *Streptococcus* CC17 hypervirulent clone: a future challenge for polysaccharide vaccine development.** Bellais S, Six A, Fouet A, Longo M, Dmytruk N, Glaser P, Trieu-Cuot P, Poyart C. *J Infect Dis.* 2012 Dec 1;206(11):1745-52.
2. Patterson H, Saralahti A, Parikka M, Dramsi S, Trieu-Cuot P, Poyart C, Rounioja S, Rämetsä M. **Adult zebrafish model of bacterial meningitis in *Streptococcus agalactiae* infection.** *Dev Comp Immunol.* 2012 Nov;38(3):447-55.
3. Dramsi S, Morello E, Poyart C, Trieu-Cuot P. **Epidemiologically and clinically relevant Group B *Streptococcus* isolates do not bind collagen but display enhanced binding to human fibrinogen.** *Microbes Infect.* 2012 Oct;14(12):1044-8. doi: 10.1016/j.micinf.2012.07.004. Epub 2012 Jul 24.
4. Lopez-Sanchez MJ, Sauvage E, Da Cunha V, Clermont D, Ratsima Hariniaina E, Gonzalez-Zorn B, Poyart C, Rosinski-Chupin I, Glaser P. **The highly dynamic CRISPR1 system of *Streptococcus agalactiae* controls the diversity of its mobilome.** *Mol Microbiol.* 2012 Sep;85(6):1057-71.

5. Grohs P, Trieu-Cuot P, Podglajen I, Grondin S, Firon A, Poyart C, Varon E, Gutmann L. **Molecular basis for different levels of tet(M) expression in Streptococcus pneumoniae clinical isolates.** Antimicrob Agents Chemother. 2012 Oct;56(10):5040-5.
6. Duval X, Delahaye F, Alla F, Tattevin P, Obadia JF, Le Moing V, Doco-Lecompte T, Celard M, Poyart C, Strady C, Chirouze C, Bes M, Cambau E, lung B, Selton-Suty C, Hoen B; AEPEI Study Group. **Temporal trends in infective endocarditis in the context of prophylaxis guideline modifications: three successive population-based surveys.** J Am Coll Cardiol. 2012 May 29;59(22):1968-76.
7. Bidet P, Liguori S, Plainvert C, Bonacorsi S, Courroux C, d'Humières C, Poyart C, Efstratiou A, Bingen E. **Identification of group A streptococcal emm types commonly associated with invasive infections and antimicrobial resistance by the use of multiplex PCR and high-resolution melting analysis.** Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Oct;31(10):2817-26.
8. Dauwalder O, Venet F, Javouhey E, Badiou C, Gillet Y, Guignant C, Plainvert C, Etienne J, Poyart C, Vandenesch F, Lina G, Monneret G. **Assessment of cellular immune parameters in paediatric toxic shock syndrome: a report of five cases.** FEMS Immunol Med Microbiol. 2012 Oct;66(1):116-9.
9. Selton-Suty C, Célarde M, Le Moing V, Doco-Lecompte T, Chirouze C, lung B, Strady C, Revest M, Vandenesch F, Bouvet A, Delahaye F, Alla F, Duval X, Hoen B; AEPEI Study Group. **Preeminence of Staphylococcus aureus in infective endocarditis: a 1-year population-based survey.** Clin Infect Dis. 2012 May;54(9):1230-9.
10. Roriguez-Granger J, Alvargonzalez JC, Berardi A, Berner R, Kunze M, Hufnagel M, Melin P, Decheva A, Orefici G, Poyart C, Telford J, Efstratiou A, Killian M, Krizova P, Baldassarri L, Spellerberg B, Puertas A, Rosa-Fraile M **Prevention of group B streptococcal neonatal disease revisited. The DEVANI European project.** Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Sep;31(9):2097-104. Review.
11. Oliveira L, Madureira P, Andrade EB, Bouaboud A, Morello E, Ferreira P, Poyart C, Trieu-Cuot P, Dramsi S. **Group B streptococcus GAPDH is released upon cell lysis, associates with bacterial surface, and induces apoptosis in murine macrophages.** PLoS One. 2012;7(1):e29963. doi: 10.1371/journal.pone.0029963. Epub 2012 Jan 23.
12. Tazi A, Bellais S, Tardieux I, Dramsi S, Trieu-Cuot P, Poyart C. **Group B Streptococcus surface proteins as major determinants for meningeal tropism.** Curr Opin Microbiol. 2012 Feb;15(1):44-9.

Conférences invitées

1. **C. Poyart** : Paris Février 2012 ; Service de Gynécologie Obstétrique, Colombes, Pr Mandelbrot
2. **C. Poyart** : Paris Avril 2012 ; Service de Gynécologie Obstétrique, Le Kremlin Bicêtre, Pr Hernandez
3. **C. Poyart** : London, Septembre 2012; Health Protection Agency, Dr A. Esfratiou
4. **C. Poyart** : Warwick, SGM Gram positive bacteria, October, 2012.
5. **C. Poyart** : Sienna; June 2012 Novartis, Vaccine,
6. **C. Poyart** : Sienna, October 2012, Novartis Vaccine
7. **C. Poyart** : Contreverse Enfant /adulte : Streptococcus agalactiae, les données du CNR-Strep

Communications Internationales et Nationales dans des congrès en 2012.

1. A.Tazi, A.Firon, H. Poupert, N.Dmytruk, M. Longo, P.Trieu-Cuot and **C. Poyart**. Broad host range transferable high-level gentamicin resistance in Group B Streptococcus. ECCMID, April 2012, London, UK.
2. S. Bellais, A. Six, A. Fouet, P. Glaser, M. Longo, P. Trieu-Cuot and **C. Poyart**. Capsular Switching in Group B Streptococcus ST-17 hypervirulent clone. ECCMID, April 2012, London, UK.
3. S. Spinali, C. Plainvert, M. Saada, A.Billoët, G. Collobert, A. Bouvet, C. Alauzet and C. Poyart. Identification of *Streptococcus bovis* - *Streptococcus equinus* group endocarditis isolates by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. RICAI, Novembre 2012.
4. Naouale.Maataoui, Céline Plainvert, Gerald Touak, G. Collobert, J. Loubinoux, A. Bouvet, C. Poyart. *Streptococcus pyogenes* meningitis in adults: report of 42 cases occurred in France. RICAI, Novembre 2012.
5. A.Tazi, A.Firon, H. Poupert, N.Dmytruk, M. Longo, P.Trieu-Cuot and **C. Poyart**. Broad host range transferable high-level gentamicin resistance in Group B Streptococcus. RICAI novembre 2012, Paris.
6. S. Bellais, A. Six, A. Fouet, P. Glaser, M. Longo, P. Trieu-Cuot and **C. Poyart**. Capsular Switching in Group B Streptococcus ST-17 hypervirulent clone. ECCMID, RICAI novembre 2012, Paris.

7. Programme d'activité N+1 et N+2

L'ensemble des activités du CNR-*Strep* sera poursuivi suivant les grands axes qui ont été réalisés durant la période 2006-2011.

Le réseau s'appuie sur les correspondants du CNR-*Strep* les membres du réseau Epibac et les membres de l'observatoire régional des pneumocoques d'Ile de France dont le Dr J. Raymond, MCU-PH dans le service de bactériologie du GH Cochin est responsable et assure l'expertise.

Il est constitué de 290 laboratoires, dont 42 (14,5%) sont localisés dans des CHU (40,5% Ile de France et 59,5% hors Ile de France).

Expertise :

- **Contribution à la mise au point, à l'évaluation et aux recommandations concernant les techniques de diagnostic et/ou d'identification et de typage.**
 - Le CNR-*Strep* contribuera à l'évaluation et aux recommandations des nouveaux tests de diagnostic commercialisés ou en cours d'évaluation. Il contribuera à la mise au point des techniques moléculaires innovantes pour la caractérisation épidémiologique des souches et la détection des déterminants de virulence en fonction des avancés scientifiques réalisées et publiées.
 - Le CNR-*Strep* finalisera la constitution des bases de données de profils obtenus par spectrométrie de masse des souches de streptocoques
- **Maintenir et développer les collections de streptocoques :**
 - *Collection de souches type.* Les souches type, désignées comme telles par le comité international de nomenclature sont uniques pour une espèce ou une sous espèce donnée. Toutes les souches type des espèces des genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, et autres genres proches (*Abiotrophia*, *Gemella*) de cocci à Gram positif seront conservées au CNR-*Strep* et à la collection de l'Institut Pasteur (CIP). Les souches de références décrites pour une espèce ou une sous-espèce donnée seront également conservées au CNR-*Strep*.
 - *Collection de souches cliniques.* Le CNR-*Strep* dispose d'une collection importante de souches cliniques issues des souches collectées par le CNR-*Strep* et d'une collection personnelle de plus de 5000 souches répertoriées et représentatives des différentes espèces de streptocoques, d'entérocoques et de germes apparentés recueillies depuis 20 ans au cours de notre activité professionnelle. Toutes les souches sont congelées à -80°C dans un congélateur dédié soumis à une surveillance métrologique informatisée.
- **Travaux de recherche appliquée en lien avec les missions du CNR**
 - **SGB**
 - i. Poursuite de l'étude ColStrepto B, fin de l'étude Novembre 2014. Le premier résultat attendu de cette étude est de démontrer qu'en situation de pratique courante, le SGB ST-17 se maintient chez le nouveau-né en raison de sa propension à coloniser le tube digestif. Les résultats obtenus par cette étude clinique permettront également de : Recueillir pour la première fois, et 10 ans après les premières recommandations émises par l'ANAES pour le dépistage et la prévention des infections néonatales à SGB, des données cliniques nationales sur les femmes et leur nouveau-né colonisé à SGB.
 - ii. Promouvoir le développement commercial d'un test de dépistage du clone ST-17 , partenariat bioMérieux en cours.

- iii. Détermination du réservoir du clone hyper-virulent ST-17 chez les nouveaux-nés afin de comprendre les processus physiopathologiques des infections néonatales tardives. (Financement obtenu)
 - iv. Caractérisation moléculaire des souches de SGB responsables d'infections sur prothèses (en cours, fin d'étude 2012).
 - v. Caractérisation des souches de SGB et SGA isolées d'endocardites et de méningites de l'adulte (fin étude 2013)
 - vi. Biodiversité des souches de SGB appartenant au complexe clonal CC-17 (séquençage haut débit) en cours.
- **SGA**
 - Etudes sur les infections puerpérales : Analyse des facteurs de risque (accouchement par voie vaginale ou par césarienne, épisiotomie). Etude du portage vaginal au terme de la grossesse, Consortium Infect-Era
 - Constitution d'une collection des différents types *emm* de SGA pour la validation de PCR spécifiques des types les plus fréquents.

Contribution à la surveillance épidémiologique :

- **Contribution à la surveillance, en lien avec l'InVS**
 - Les résultats et les fichiers du CNR-*Strep* sont à la disposition de nos correspondants et collaborateurs du Département de maladies infectieuses de l'InVS (Dr A. Lepoutre, Dr Denise Antona, Dr Scarlett Georges).
- **Les modalités de surveillance de la résistance aux traitements anti-infectieux**
 - Les laboratoires disposent actuellement des techniques fiables, rapides permettant la détermination de la sensibilité des streptocoques aux antibiotiques. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) est également grandement facilitée par la technique de bandelettes de type E-test®. Le CNR-*Strep* répondra à toute demande d'étude de sensibilité aux antibiotiques des souches selon les techniques standardisées recommandées par le Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM), de l'EUCAST et du NCCLS. Le support génétique de la résistance par amplification génique des principaux déterminants connus est également réalisée en routine et rendue dans les résultats d'expertise communiqués. La mise en évidence d'un phénotype de résistance nouveau ou inhabituel chez une espèce donnée sera communiquée au CNR des Antibiotiques. La recherche et la caractérisation génotypique des principaux gènes de résistance aux antibiotiques identifiés chez les streptocoques pourra éventuellement être réalisée sur les souches recueillies et ce, en collaboration avec le CNR des Antibiotiques.
 - L'activité de nouveaux antibiotiques ou de nouvelles indications pour le traitement des infections streptococciques par des molécules anciennes fera également partie des missions du CNR-*Strep*. Là encore ces études se feront en concertation avec les autres CNR notamment celui des antibiotiques et celui des pneumocoques.
- **Contribution à la détection et à l'investigation des cas groupés ou de phénomènes inhabituels**
 - Le CNR-*Strep* répondra à toute demande d'investigation approfondie concernant des souches responsables d'infections nosocomiales ou de cas groupés (infections à SGA,

infections à SGB dans des maternités et dans les services de gynécologie). Les laboratoires possèdent l'expérience technique, l'infrastructure et le matériel nécessaire pour réaliser le typage moléculaire des souches isolées (analyse des profils de macrorestriction de l'ADN après électrophorèse en champ pulsé, analyse des profils de restrictions enzymatiques des gènes codant pour les ARN ribosomiaux, analyse des produits obtenus après amplification génique aléatoire Diversilab RAPD). Ces données, après numérisation, pourront être archivées afin d'étudier, pour une espèce donnée, les relations clonales pouvant exister entre des souches responsables d'infections nosocomiales dans des lieux et/ou des époques différentes.

- **Contribution aux réseaux de surveillance européens et internationaux**
 - Le CNR-*Strep* participera à tous les programmes mis en oeuvre pour la surveillance des infections streptococciques.
 - Les responsables des CNR participent d'ores et déjà à des réseaux européens.

Contribution à l'alerte :

Comme lors des années précédentes, toute augmentation anormale du nombre de cas d'infections streptococciques, la prévalence anormale d'un type, ou la dissémination brutale d'une souche fera l'objet d'un signalement qui sera effectué le plus rapidement possible aux autorités compétentes.

Contribution à l'information, la formation, et le conseil

- La mise en place d'un réseau national de surveillance permettra l'obtention de données épidémiologiques destinées à être utilisées par les représentants gouvernementaux lors de confrontations internationales. Ces données permettront également de répondre et de participer à des enquêtes réalisées à l'étranger.
- Les membres du CNR-*Strep* et des laboratoires associés participeront à la formation des biologistes et des cliniciens, de Paris et de Province.
 - Stage de formation sur demande (techniques de biologie moléculaire) pour les biologistes et les techniciens
 - Enseignement (Université, Hôpitaux, Organismes de formation continue)
 - Communication dans les congrès des Sociétés Savantes
 - Publications didactiques dans des revues médicales ou de biologie de langue française.

Mise en place de la démarche d'accréditation du CNR-*Strep*

- La démarche d'accréditation pour le CNR-*Strep* se fait en parallèle de l'ensemble des activités du Service et du Pôle. Celle-ci constitue l'une des priorités pour les deux prochaines années.

ANNEXES

Tableaux 8, 9

Tableau 8 : Episodes de cas groupés d'infections à SGA analysés en 2012

N° Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype <i>emm</i>	Pulsotype	Conclusion	
1	Index	F	23	Vagin	Endométrite post-partum	emm89.0	89-A	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°2 rétropectif	F	34	Vagin	Colonisation post-partum	emm89.0	89-A	
2	Index	M	43	Aspiration trachéale	Pneumopathie	emm3.1	3-D	Transmission familiale
	Malade n°2	M	15	Pharynx	Angine	emm3.1	3-D1	
3	Index	F	35	Endocol	Endométrite post-partum	emm89.0	89-A11	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°3	F	28	Vagin	Endométrite	emm89.0	89-A11	
	Malade n°2	F	28	Endocol	Endométrite	emm89.0	89-A11	
4	Index	F	64	Hémoculture	Bactériémie	emm28.0	28-B3	Transmission familiale
	Récidive chez le cas Index	F	65	Vagin	Vaginite	emm28.0	28-B3	
	Contact	M	66	Nez	Colonisation nasale	emm28.0	28-B3	
5	Index	M	74	Hémoculture	Septicémie post cure de hernie	emm75.0	75-A4	Transmission intra-hospitalière
	Contact	M	46	Pharynx	Portage pharyngé	emm75.0	75-A4	Portage soignant
6	Index	F	45	Hémoculture	Bactériémie + SCTS	emm1.0	Séquence <i>sic</i> A	Transmission intra-hospitalière
	Malade n°2	F	51	Expectoration	Pneumopathie + SCTS	emm1.0		
7	Index	M	80	Hémoculture	DHN + SCTS	emm3.1	3-A4	Transmission intra-hospitalière
	Contact	F	33	Pharynx	Portage pharyngé	emm3.1	3-A4	
8	Index	F	39	Vagin	Endométrite post-partum	emm28.0	28-B10	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°2	F	31	Vagin	Endométrite post-partum	emm28.0	28-B	
9	Index	F	39	Hémoculture	Endométrite post-partum	emm11.0	11-A10	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°2	F	39	Vagin	Vaginose post césarienne	emm11.0	11-F	
10	Index	F	36	Vagin	Endométrite post-partum	emm28.0	28-B5	Transmission familiale
	Contact	M	36	Pharynx	Portage pharyngé	emm28.0	28-B5	

SCTS : syndrome de choc toxique streptococcique

N°	Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype <i>emm</i>	Pulsotype	Conclusion
11	Index	M	58	Hémoculture	Bactériémie sans foyer identifié + SCTS	emm89.0	89-A4	
	Malade n°2	F	64	Hémoculture	Bactériémie sans foyer identifié	emm89.0	89-A4	
	Malade n°3	M	65	Hémoculture	Bactériémie sans foyer identifié	emm89.0	89-A4	
	Malade n°4	M	56	Hémoculture	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Contact	F	27	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Malade n°5	M	53	Orifice cutané de gastrostomie	Infection gastrostomie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°6	M	35	Pharynx	Angine (contexte epidémique 13è cas)	emm89.0	89-A	
	Contact	M	65	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	68	Expectoration	Colonisation bronchique	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	55	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Malade n°7	M	61	PDP	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	Transmission intra-hospitalière
	Contact	M	64	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A14	
	Contact	F	36	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.5	89-A4	
	Malade n°8	F	64	Cutané	Surinfection orifice de gastro-entéroplastie	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	61	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A21	
	Contact	F	38	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Malade n°9	F	27	Pharynx	Angine	emm89.0	89-A4	
	Malade n°10	M	38	Hémoculture	Bactériémie sans foyer identifié	emm89.0	89-A4	
	Contact	F	42	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	52	Aspiration trachéale	Colonisation trachéale	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	57	Trachéotomie	Colonisation trachéale	emm89.0	89-A4	
	Malade n°11	M	59	PDP	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	

N°	Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype emm	Pulsotype	Conclusion
11 suite	Malade n°12	F	38	Pharynx	Angine	emm2.0	2-A	Transmission familiale
	Malade n°13	M	38	Pharynx	Angine	emm2.0	2-A	
	Malade n°14	M	81	Plaie	Plaie	emm89.0	89-A4	Transmission intra-hospitalière
	Malade n°15	M	64	Hémoculture	Pneumopathie	emm89.0	89-A	
	Malade n°16	M	23	Aspiration bronchique	Pneumopathie	emm89.0	89-A	
12	Index	F	92	Hémoculture	Erysipèle + SCTS	emm89.0	89-A13	Transmission intra-hospitalière probable
	Malade n°2	M	57	Hémoculture	Septicémie porte d'entrée cutanée	emm89.0	89-A12	
13	Index	F	88	Hémoculture	DHN	emm1.0	Séquence <i>sic</i> B	Transmission intra-hospitalière
	Contact	NP	NP	Pharynx	Portage pharyngé	emm1.0		
14	Index	F	37	Vagin	Endométrite post-partum	emm1.0	Séquence <i>sic</i> C	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Contact	F	24	Gorge	Portage pharyngé	emm1.0		
15	Index	M	16	Pharynx	Angine	emm4.4		Episode communautaire
	Malade n°2	M	17	Pharynx	Angine	emm4.4		
	Malade n°3	M	25	Pharynx	Angine	emm4.4		
	Malade n°4	M	23	Pharynx	Angine	emm4.4		
	Malade n°5	M	15	Pharynx	Angine	emm4.4		
	Malade n°6	F	12	Pharynx	Angine	emm4.4		
	Malade n°7	F	35	Pharynx	Angine	emm4.4		
	Malade n°8	M	24	Pharynx	Angine	emm4.4		
	Contact	F	19	Pharynx	Portage pharyngé	emm4.4		
	Contact	M	20	Pharynx	Portage pharyngé	emm4.4		
Malade n°9	F	22	Pharynx	Angine	emm4.4			

NP : non précisé

N°	Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype <i>emm</i>	Pulsotype	Conclusion
16	Index	F	19	Hémoculture	Endométrite post-partum	emm28.0	28-B10	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°2	F	35	Liquide pleural	Pleurésie post-partum	emm28.0	28-B4	
17	Index	F	13	Hémoculture	Arthrite septique du genou	emm1.0	Séquence <i>sic</i> D	Transmission familiale
	Malade n°2	F	13	Cutané	Plaie d'orteil	emm1.0		
18	Index	F	25	Vagin	Endométrite post-partum	emm29.2	29-A	Transmission familiale
	Nouveau-né	F	<1 jour	Liquide gastrique	Colonisation	emm29.2	29-A	
	Contact	M	29	Pharynx	Portage pharyngé	emm29.2	29-A	
19	Index	F	32	Lochies	Endométrite post-partum	emm28.0	28-B18	Transmission familiale
	Malade n°2	M	Non précisé	Pharynx	Angine	emm28.0	28-B18	
20	Index	F	28	Hémoculture	Endométrite post-partum	emm89.0	89-A4	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°2	F	29	Vagin	Endométrite post-partum	emm89.0	89-A4	
21	Index	F	35	Vagin	Endométrite post-partum	emm28.0	28-B	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°2	F	26	Hémoculture	Endométrite post-partum	emm28.0	28-B19	
22	Index	F	26	Vagin	Chorio-amnionite	emm89.0	89-A	Infection materno-fœtale
	Nouveau-né	M	<1 jour	Liquide gastrique	Colonisation	emm89.0	89-A	
23	Index	F	34	Hémoculture	Nécrose utérine post-abortum + SCTS	emm89.0	89-A4	Transmission intra-hospitalière non exclue
	Malade n°2 rétropectif	M	75	Hémoculture	Bactériémie	emm89.0	89-A4	

Tableau 9 : Episode de cas groupés d'infections à *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* analysés en 2012

N° Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype <i>emm</i>	Pulsotype	Conclusion	
24	Index	F	27	Vagin	Endométrite post-partum	stG480.0	stG480-A	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°2	F	29	Vagin	Endométrite post-partum	stG480.0	stG480-A	