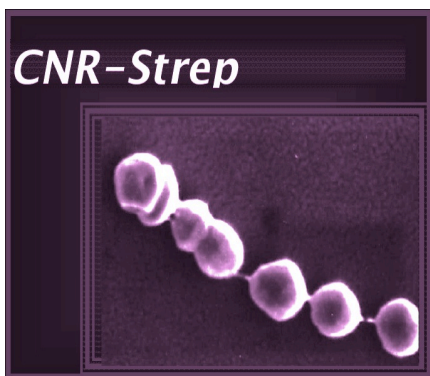


**Plan du rapport annuel
d'activité**

2014

**Centre de National de
Référence**



Hôpitaux Universitaires Paris Centre



Rédacteurs :

Dr Caroline JOUBREL

Dr Céline PLAINVERT

Pr Claire POYART

**Année
d'exercice
2013**

Table des matières

Résumé analytique	p. 2
1. Missions et organisation du CNR-Strep	p. 3
2. Activités d'expertise	p. 4
3. Activités de surveillance 2013	p. 4
3.1. A. Streptocoques du Groupe B (SGB ; <i>S. agalactiae</i>)	p. 5
3.1. B. Streptocoques du Groupe A (SGA ; <i>S. pyogenes</i>)	p. 13
3.1. C. Streptocoques du Groupe A,C,G	p. 33
3.1. D. Autres Streptocoques	p. 34
3.2. Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	p. 34
3.2. A. SGB et antibiotiques	p. 34
3.2. B. SGA et antibiotiques	p. 36
4. Alerte	p. 40
5. Activités d'information, de formation et de conseil	p. 40
6. Travaux de recherche en lien direct avec l'activité CNR	p. 40
7. Programme d'activité 2014-2015	p. 44
8. Annexes	p. 48

Résumé analytique des activités du CNR-Strep pour l'année 2013 : Faits marquants

1. Le CNR-Strep a réalisé selon la nomenclature officielle **30 502 actes** correspondant à une activité de **1, 49 M B**.
2. **Démarrage du projet ColStrepto B** permettant le suivi longitudinal de la colonisation des nouveaux nés par le SGB (Financement APHP-PASTEUR-Institut Mérieux). Fin du protocole janvier 2015
3. **Mise en place d'une plateforme de NGS** pour le séquençage des génomes complets de Streptocoques. (Demande de financement FRM).
4. **Financement du Projet PRTS** (ANR-DGOS) StrepB17. Ce projet exploitera les collections biologiques du projet ColStrepto B par des approches métagénomiques et immunologiques afin de déterminer s'il existe des facteurs prédisposant les nouveau-nés à l'acquisition d'une souche de *S. agalactiae* ST17 et au développement d'une infection.
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. **Poursuite de la démarche d'accréditation** (visite COFRAC Juin 2014)

1. Missions et organisation du CNR

La description détaillée est présentée en annexe 1.

L'organigramme du CNR-Strep a changé suite au départ du Pr Anne Bouvet Septembre 2013.

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-Strep	0,125
LOUBINOX Julien	MCU-PH, service de Bactériologie GH Cochin-Hôtel Dieu-Broca	0,125
JOUBREL Caroline	AHU, service de Bactériologie GH Cochin	0,5
PLAINVERT Céline	PATT service de Bactériologie GH Cochin-Hôtel Dieu-Broca, équipe « Barrières et Pathogènes », INSERM U1016, Institut COCHIN	0,125
FOUET Agnès	DR2 CNRS, équipe « Barrières et Pathogènes », INSERM U1016, Institut COCHIN	0,1
DMYTRUK Nicolas	Technicien (financement InVS)	1 ETP
TOUAK Gérald	Technicien (financement InVS)	1 ETP
ESSOMBE-MOUNE Agnès	Secrétaire Médicale, GH Cochin-Hôtel Dieu-Broca	0,25

Description de la démarche qualité du laboratoire :

Une démarche pour l'accréditation du CNR-strep a débuté en 2011 et s'est poursuivie depuis 2 ans 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 organisée 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).

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 Juin 2014 pour l'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.

2. Activités d'expertise

La description des techniques disponibles est présentée en annexe 2.

Modifications :

L'identification des streptocoques est dorénavant réalisée par Spectrométrie de masse, grâce à la validation d'une banque de plus de 400 souches référencées et plus de 2000 souches cliniques testées .

3. Activités de surveillance 2013

Entre Janvier 2013 et Décembre 2013, le CNR-Strep a reçu pour expertise 1442 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 des souches envoyées est indiquée dans la figure 1. Globalement, tout le territoire national est couvert, la répartition étant approximativement proportionnelle à la densité de population des différentes régions. L'envoi des souches est largement tributaire des correspondants, un effort doit être fait pour augmenter l'exhaustivité des régions PACA, Languedoc Roussillon, Rhône Alpes et Aquitaine.

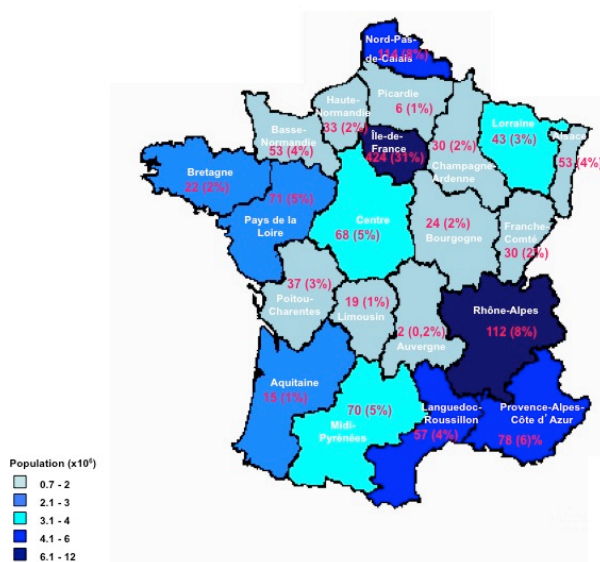


Figure 1. Répartition nationale des isolats envoyés au CNR-Strep en 2013

Le nombre de souches reçues par an depuis 2007, est en augmentation. Globalement, les souches de SGA représentent 61% (n= 806) des souches expertisées dont 85 % sont isolées chez les adultes (n=683) (Fig.2). Les SGB et les autres espèces de streptocoques et germes apparentés représentent, respectivement 22 % et 17% des isolats reçus. Enfin, il est à noter que le nombre de SGB reçus est en constante augmentation depuis 2008 passant de 280 en 2008 à 398 isolats en 2013. La description détaillée de l'ensemble des expertises réalisées sur les souches est exposée par la suite en fonction de l'espèce bactérienne.

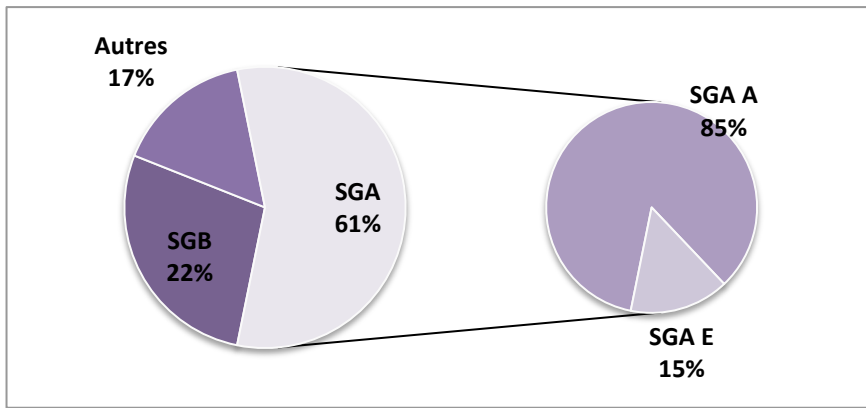


Figure 2. Répartition des souches en fonction des espèces expertisées par le CNR-Strep en 2013

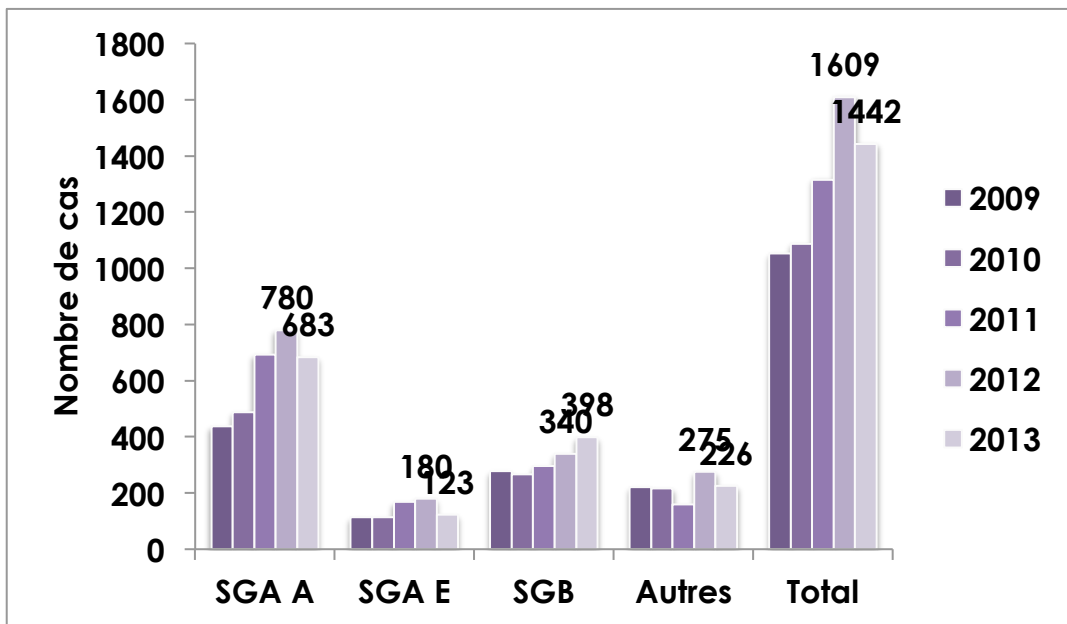


Figure 3. Evolution de la répartition des souches en fonction des espèces expertisées par CNR-Strep entre 2009-2013

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

Entre janvier 2013 et décembre 2013, 398 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 stable par rapport à celle observée en 2012. Les correspondants du CNR envoient régulièrement leurs souches sur la base du volontariat depuis 7 ans.

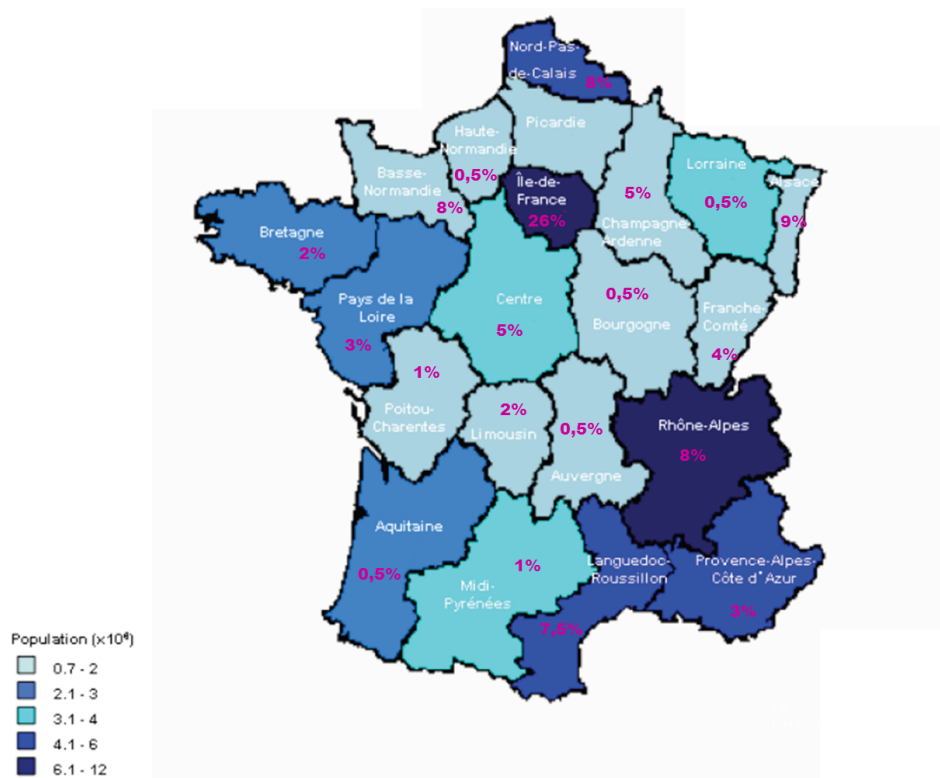


Figure 4 : Répartition des souches de SGB expertisées en 2013 en fonction de l'origine géographique

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 nouveaux-nés ; 2) les adultes ≥ 18 ans.

S. agalactiae et infections néonatales invasives

En 2013, 117 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 montre la diminution de la proportion des IP par rapport aux IT. 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 2013, les infections tardives représentaient 77 % des infections néonatales à SGB. **De plus, nous confirmons en 2013 que le nombre d'IP est en nette diminution et ce maintenant depuis 6 ans (Fig.6).** Par ailleurs, compte-tenu de l'incidence des bactériémies et méningites néonatales à SGB en France estimée par le réseau Epibac pour l'année 2012 (57.6/100.000 enfants de moins de 1 an, soit environ 444 infections), le CNR-Strep collige approximativement 26 % des souches responsables d'infections néonatales invasives prouvées en France, **chiffre en augmentation par rapport aux années précédentes** (16.5% en 2012), ce qui explique l'augmentation du nombre de cas que nous vous rapportons ici.

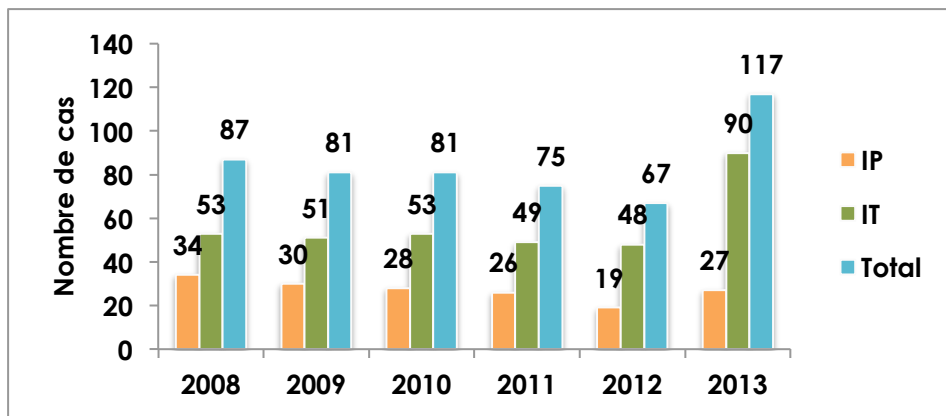


Figure 5 : Répartition des infections invasives néonatales à SGB en fonction du type d'infection (IP : infection précoce ; IT : infection tardive)

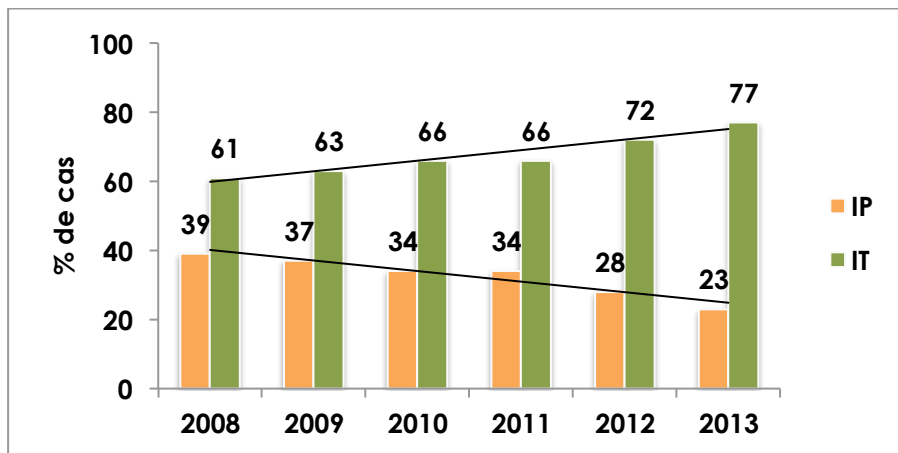


Figure 6 : Evolution de la répartition des infections invasives néonatales à SGB en fonction du type d'infection (IP : infection précoce ; IT : infection tardive)

Infections précoces à SGB

En 2013, 27 (23%) étaient responsables d'une infection précoce (IP, infection survenue avant la fin de la première semaine) et dans 93% des cas, l'infection était déclarée dans les 48 premières heures suivant la naissance. En 2013, dans 78% (n=21) l'IP se traduisait par une bactériémie, dans 22% (n=6) par une méningite. Cette répartition est restée stable au cours de la période 2008-2013 (Fig. 7).

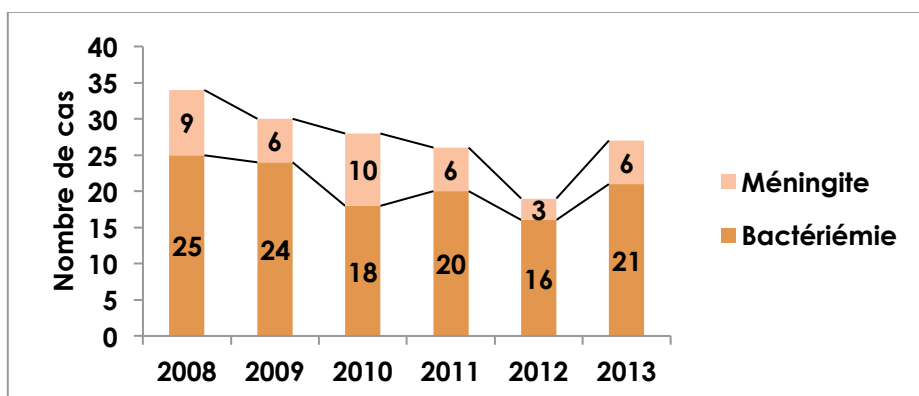


Figure 7 : Répartition 2008-2013 des infections invasives néonatales précoces (IP) à SGB en fonction de la symptomatologie clinique. Les chiffres dans les barres représentent le nombre de cas de méningite ou bactériémie ou autre infection pour l'année correspondante.

Le typage moléculaire de la capsule de ces souches a montré en 2013 que les sérotypes capsulaires (SC) se répartissent de la façon suivante par ordre de fréquence décroissante, III (63%), Ia (22%), II (4%) et V (4%). Cette répartition est parfaitement stable depuis 2007 et les données représentées dans la figure 8 correspondent à la distribution en % en fonction de la symptomatologie.

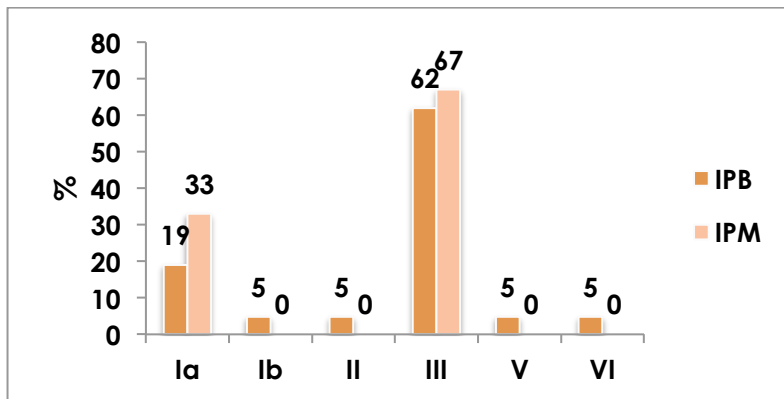


Figure 8 : Répartition des SC des souches de SGB responsables d'infections invasives néonatales précoces (IP) en fonction de la symptomatologie clinique (B : bactériémie, M : méningite)

La répartition des SC en fonction de la symptomatologie montre que les souches de SC III représentent la très grande majorité des souches isolées de méningites et 100% d'entre elles 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

Quatre-vingt-dix étaient isolées dans un contexte d'infection tardive (IT, infection survenant après la première semaine de vie). Dans 45 (50%) cas, l'infection se manifestait par une bactériémie isolée, 40 (44%) sous forme de méningite (LCR dont la culture était positive à SGB). Quatre cas d'infections ostéo-articulaires ont été répertoriés (Fig. 9). Il est à noter que l'on constate une tendance à la diminution des méningites par rapport aux bactériémies (Fig. 9).

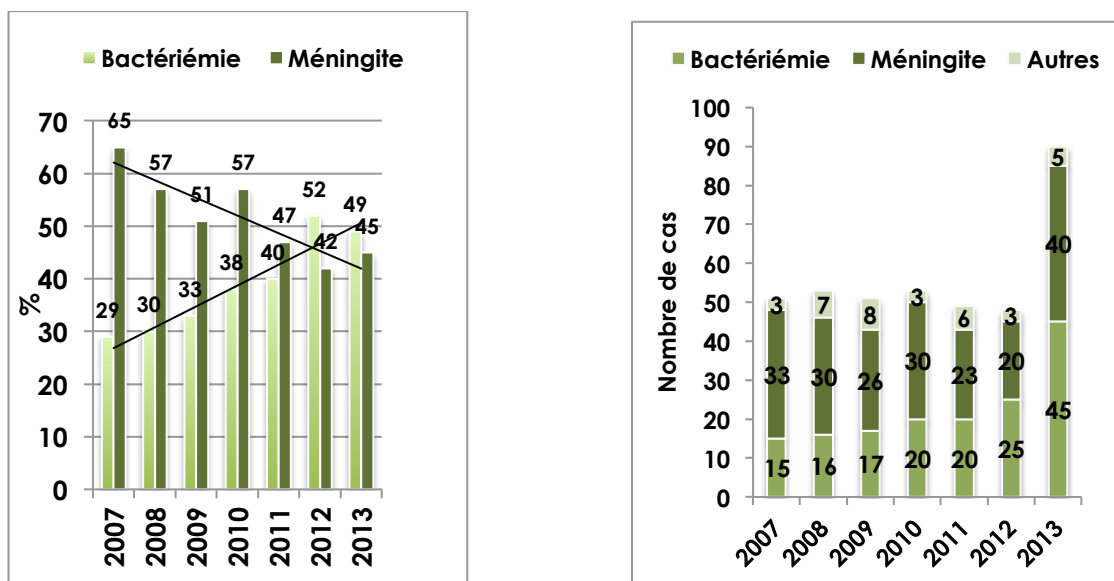


Figure 9 : Evolution de la répartition en % et en nombre de cas des infections invasives néonatales tardives (IT) à SGB en fonction de la symptomatologie clinique

La répartition des SC a montré que 81% des souches étaient de SC III, 12% de SC Ia, 3% de SC Ib, 2% du SC V et 1% du SC II. La répartition en fonction de la symptomatologie est sensiblement la même puisque le SC III représente 83% des isolats isolés de méningites et 85% appartenaient également au complexe clonal hypervirulent CC17 (Fig. 10 et 11). Tout comme en 2011, on observe l'émergence du SC Ia et Ib parmi les souches responsables de méningites (En 2012 il n'y avait pas de souche de SC Ia isolée dans un contexte de méningite). On observe 13% de souches de méningite de SC Ia. L'évolution de cette tendance sera intéressante à surveiller dans les années à venir.

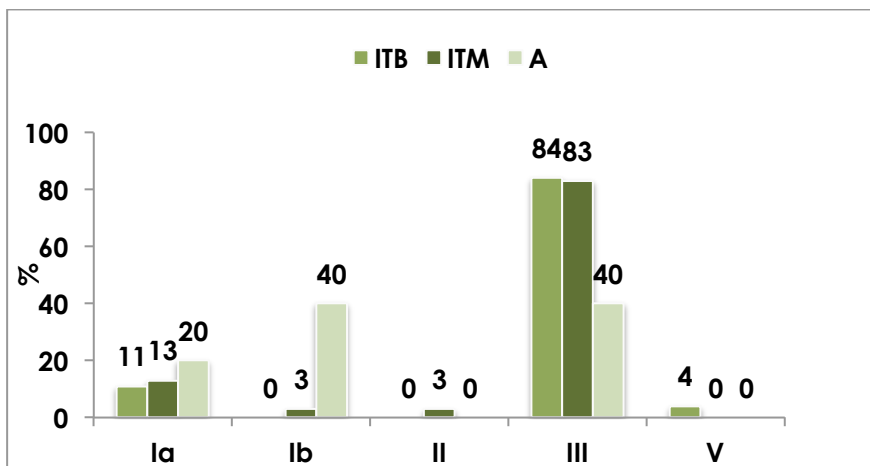


Figure 10: Répartition en 2013 des SC des souches de SGB responsables d'infections invasives néonatales tardives (IT) en fonction de la symptomatologie clinique (B: bactériémie; M: méningite; Autres: A).

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.

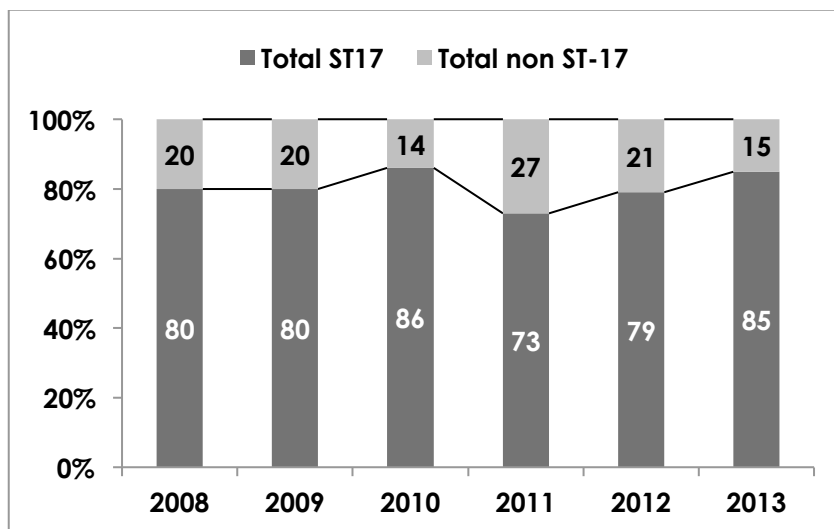


Figure 11: Répartition entre 2008-2013 des souches appartenant au CC-17 responsables d'infections tardives.

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 2013 confirment comme pour les années précédentes que le clone ST-17 représente plus de 80% des souches de SC-III responsables d'infections néonatales tardives (Fig. 11).

Epidémiologie des souches de SGB isolées de prélèvements vaginaux (PV) dans le cadre de dépistage de fin de grossesse.

Dans le cadre du protocole ColStrepto B nous avons collecté et analysé plus de 450 prélèvements vaginaux pour la présence de SGB. Le protocole ColStreptoB est un essai prospectif débuté fin 2012 qui a pour but d'étudier le mode de transmission des infections néonatales tardives à SGB. 900 couples mère-enfant sont inclus dans cet essai, le critère d'inclusion étant un PV positif à SGB durant la grossesse (PV de dépistage ou PV réalisé lors de l'accouchement).

Les résultats préliminaires concernant l'analyse des souches de SGB dans les PV montrent que les SC V et III représentent respectivement 28 et 30% des souches isolées, que le serotype capsulaire IV représente 7 % des souches ce qui confirme l'émergence de ce SC constaté dans d'autres pays comme les USA (Fig. 12).

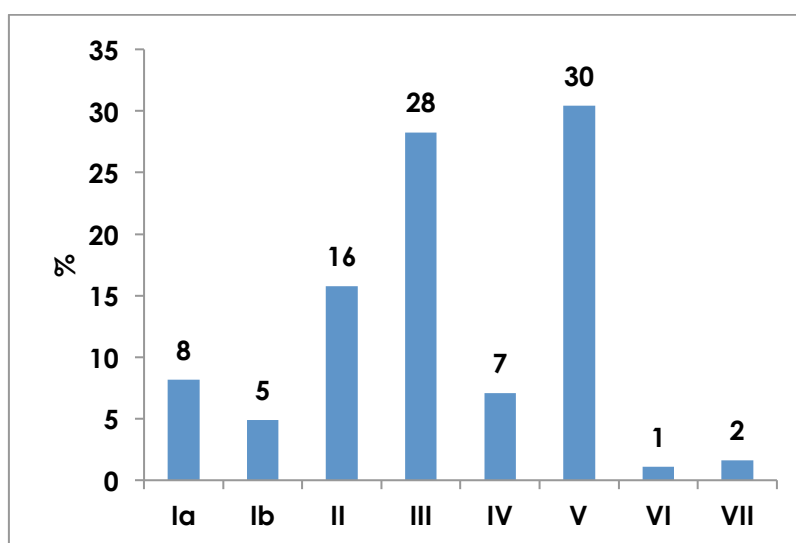


Figure 12 : Répartition des SC des souches de SGB isolées de PV dans le cadre du protocole ColStreptoB.

Les souches appartenant au CC17 représentent 12% de la totalité des souches isolées de PV et 42% des souches de SC III.

Les résultats du CNR-Strep en matière d'épidémiologie d'infections néonatales à SGB confirment les tendances observées depuis 7 ans :

1. Les infections précoces sont moins fréquentes que les infections tardives, représentant moins de 30%.
2. Les syndromes tardifs représentent 77% des cas.
3. Le SC III est majoritaire (81%) toutes infections confondues et le clone hypervirulent CC17 est retrouvé dans plus de 80% de souches responsables de méningites.

En 2013, nous confirmons les données Epibac 2012 qui constatent une augmentation des infections néonatales par rapport aux années précédentes, concernant principalement les infections tardives (Fig. 5, 6) en revanche le nombre de méningites dans le cadre des infections tardives semble être en diminution (Fig. 9). Ces résultats devront être confrontés aux données Epibac 2013.

***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 déterminée. En 2011 elle est de 4.0/100.000 habitants et similaire à celles des trois années précédentes. Les données Epibac 2012 confirment ce qui avait été observé en 2010 et 2011, 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 2013, nous avons analysé 170 souches dédoublonnées responsables d'infections invasives. Les souches étaient isolées principalement d'hémocultures (80%), de prélèvements ostéo-articulaires (os ou liquide articulaire, 11%), de liquide céphalorachidien (5%) ou d'autres prélèvements (4%).

Les caractéristiques cliniques des infections en fonction de l'âge et du sexe sont représentées dans le tableau 1. L'âge moyen était de 67 ans (écart 21-103 ans), et 54% étaient de sexe féminin. Les bactériémies isolées sans localisation secondaire et sans porte d'entrée apparente représentaient 79% des cas. Les autres infections invasives se répartissent de la façon suivante par ordre de fréquence décroissante : Infections ostéo-articulaires (12%) ; méningites (4.5%) ; infections de la peau et des tissus mous (0.5%) et infections urinaires (0.5%).

Variables	Total n = 170 (%)	Nombre de cas (%)		
		18-39 ans n = 22 (13 %)	40-64 ans n = 43 (25%)	> 65 ans n = 105 (62%)
Homme	78 (46)	5 (23%)	24 (56%)	49 (47%)
Femme	92 (54)	17 (77%)	19 (44%)	56 (53%)
Manifestations cliniques				
Bactériémie isolée	134 (79%)	11 (50%)	36 (84%)	87 (83%)
Infection de la peau et des tissus mous	1 (0.5%)	1 (4.5%)	0 (0%)	0 (0%)
Méningite	8 (4.5%)	3 (14%)	1 (2%)	4 (4%)
Endocardite	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Infection ostéo-articulaire	20 (12%)	3 (13.5%)	6 (14%)	11 (10%)
Infection urinaire	1 (0.5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1%)
Autre	6 (3,5%)	4 (18%)	0 (0%)	2 (2%)

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques des infections en fonction de l'âge

La répartition des sérotypes capsulaires (SC) en fonction de l'année d'isolement est représentée dans la figure 13. On constate une stabilité globale dans la répartition des SC, avec toujours en 2013 le SC Ia (17%), III (23%) et V (17%) représentant 57 % des souches (Fig. 13), la proportion de SC V se réduisant au profit du sérotype IV. Les autres SC se répartissent de la façon suivante : Ib (10%), II (14.5%), IV (14%), VI (1.5%), VII (0.5%) et 1.5% des souches étaient non typables. 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 15% de la totalité des souches de SGB responsables d'infections invasives de l'adulte et 54% des souches de SC III. On note également l'émergence de souches de sérotype IV ST17 (3 souches reçues en 2013).

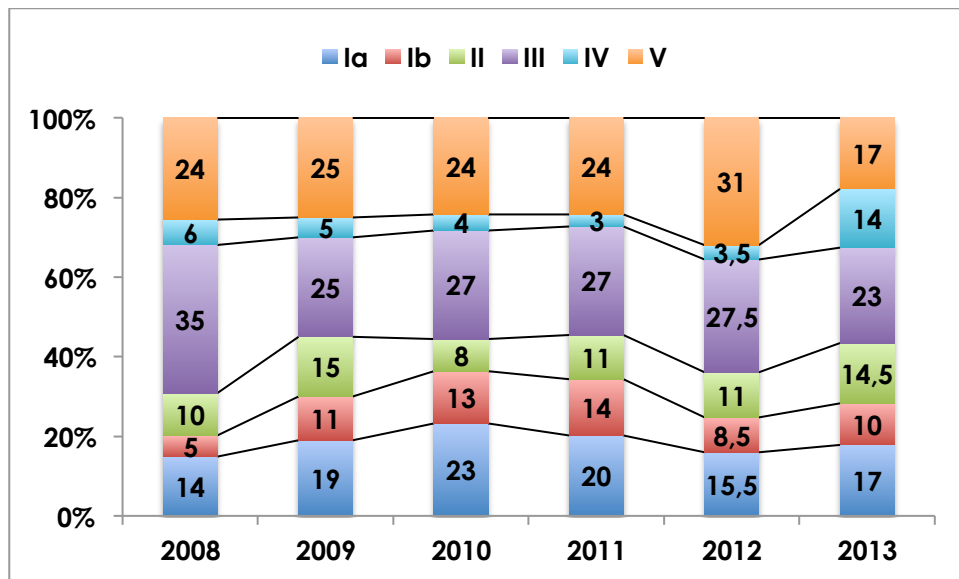


Figure 13 : Répartition des sérotypes capsulaires (SC) des souches de SGB responsables d'infections invasives chez l'adulte en fonction de l'année.

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

En 2013, **790 isolats de *Streptococcus pyogenes*** (ou Streptocoques du Groupe A, SGA) ont été reçus par le CNR-Strep (Fig. 14).

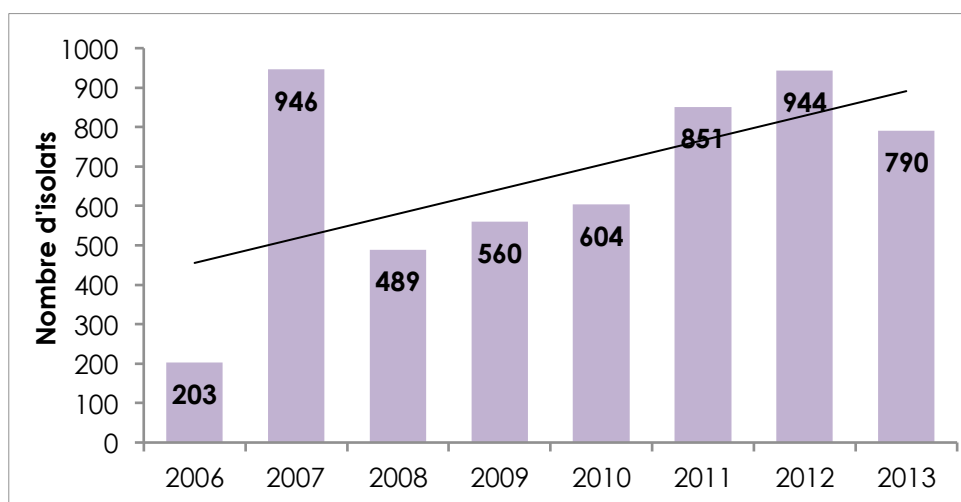


Figure 14. Répartition annuelle des isolats de *S. pyogenes* reçus par le CNR-Strep depuis 2006.

L'augmentation du nombre d'isolats de SGA décrite depuis 2008 s'infléchit légèrement en 2013 avec un recul de l'ordre de 16% par rapport à 2012. Néanmoins, le nombre d'isolats de SGA reçus par le CNR-Strep en 2013 reste élevé, correspondant à une augmentation supérieure à 60% depuis 2008. Il est à noter que le pic observé en 2007 est lié à l'enquête prospective nationale «CNR-Strep-InVS» qui s'est déroulée entre Novembre 2006 et Novembre 2007.

La répartition mensuelle des isolats de SGA reçus par le CNR-Strep depuis Janvier 2007 est représentée en fonction de la date d'isolement dans la figure 15.

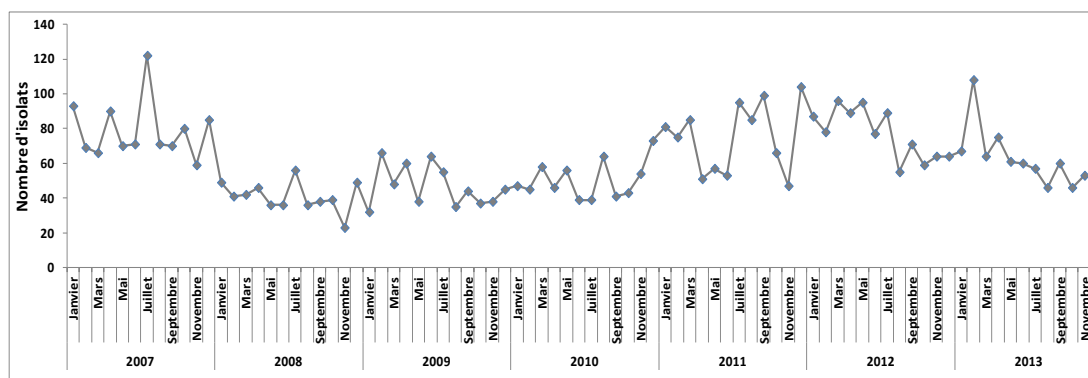


Figure 15. Distribution des isolats de *S. pyogenes* reçus par le CNR-Strep depuis Janvier 2007 en fonction de la date d'isolement.

La légère diminution du nombre d'isolats de SGA reçus par le CNR-Strep amorcée à la fin du second trimestre 2013, s'est confirmée au cours du deuxième semestre.

L'origine géographique des 790 isolats de SGA reçus par le CNR-Strep est représentée sur la figure 16.

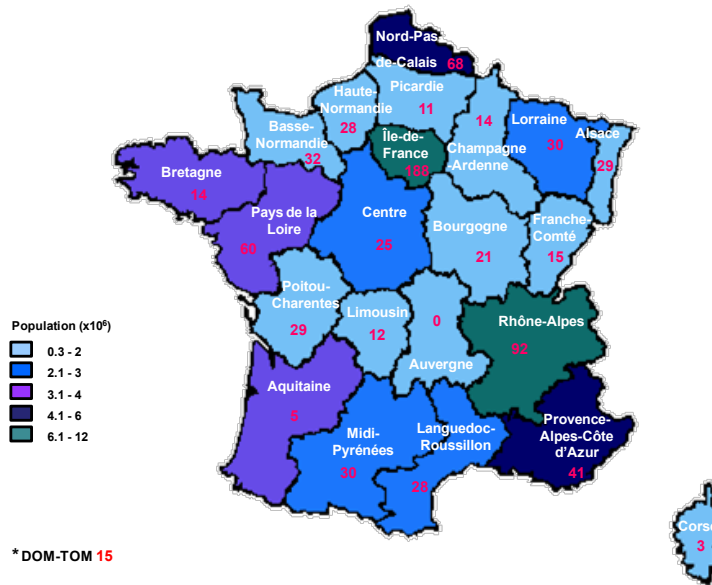


Figure 16. Répartition géographique des 790 isolats de *S. pyogenes* reçus par le CNR-Strep en 2013 par rapport à la population des régions en France (INSEE 1^{er} Janvier 2014)

1. En 2013, comme depuis 2007, les laboratoires situés en Ile-de-France sont les plus importants pourvoyeurs (N=188/790, soit 23,8%). Il est à noter que parmi les 790 isolats reçus par le CNR-Strep en 2013, 15 isolats provenaient des DOM-TOM (Guyane (n=1), La Réunion (n=13) et Mayotte (n=1)).
2. La légère diminution du nombre d'isolats de SGSA reçus par le CNR-Strep est harmonieuse géographiquement et concerne l'ensemble des régions.

Après dédoublement, les **758 souches** de SGA ont été expertisées. 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.

3. Parmi les **758 souches** de SGA reçues en 2013, **114 avaient été isolées chez des enfants (<18 ans) et 644 souches provenaient de patients adultes (≥18 ans)**. Les caractéristiques démographiques rattachées à ces 758 cas sont présentées dans la figure 17.

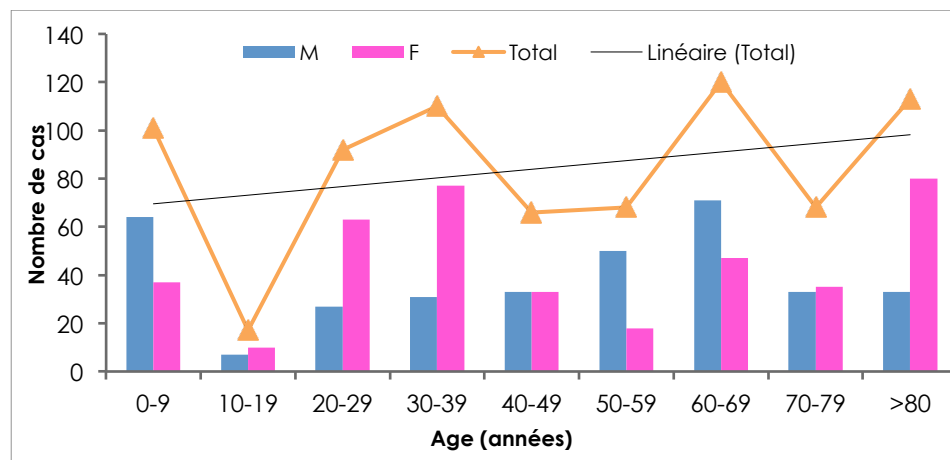


Figure 17. Distribution des 758 souches de *S. pyogenes* reçues par le CNR-Strep en 2013 en fonction des données démographiques des patients.

Parmi les **758 souches** de SGA expertisées en 2013, 47% provenaient d'un échantillon biologique prélevé chez un individu de sexe masculin et 53% chez un individu de sexe féminin. Plus précisément, chez les patients âgés de 20 à 39 ans et à partir de 80 ans, les souches de SGA provenaient principalement de femmes. En revanche chez les enfants de moins de 10 ans et chez les patients âgés de 50 à 69 ans, les souches de SGA avaient majoritairement une origine masculine. On peut noter que globalement le nombre de souches de SGA par tranche d'âges augmente avec l'âge des patients.

SGA et infections de l'adulte

Au cours de l'année 2013, 644 souches non redondantes de SGA isolées chez des adultes ont été expertisées dont **530** étaient responsables d'**infections invasives** et **114** isolées au cours d'**infections non-invasives** ou de **colonisations**.

Les sites d'isolement des 644 souches de SGA sont indiqués ci-dessous dans la Figure 18.

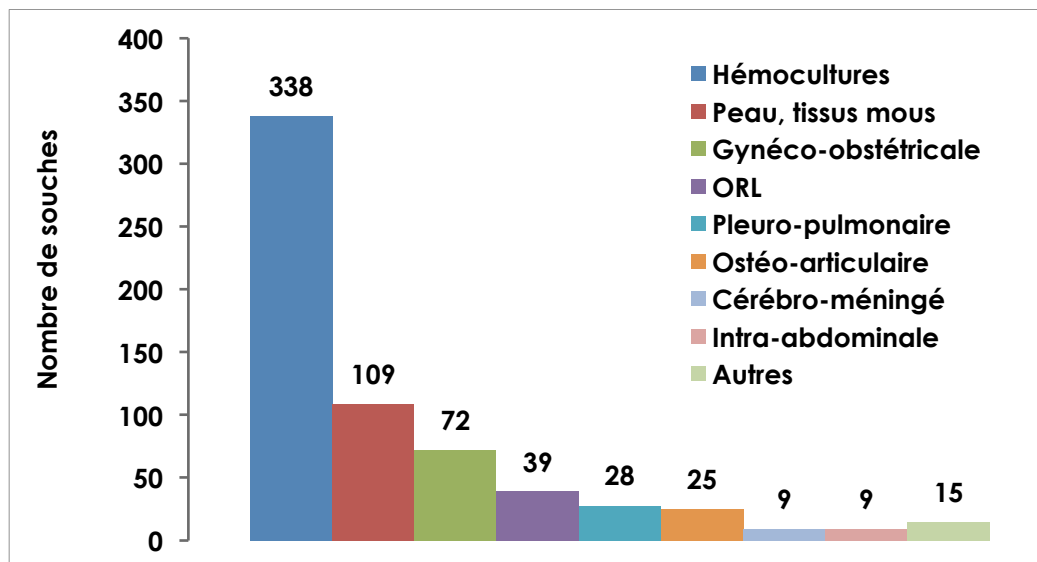


Figure 18. Répartition par type de prélèvement des 644 souches de *S. pyogenes* expertisées par le CNR-Strep en 2013.

La majorité des souches a été isolée par hémocultures (338/644 soit 52,5%). Les prélèvements dermatologiques (109/644 soit 17,1%) ont été réalisés au niveau d'infections profondes ou de lésions superficielles prélevées à l'occasion de cas groupés. Les prélèvements ORL comportent notamment des souches isolées du pharynx de sujets présentant une angine aiguë ou un portage, appartenant à l'entourage de malades atteints d'infections invasives. Les 15 souches de SGA isolées des autres sites anatomiques provenaient de cornée (n=1), hématome post-chirurgical (n=1), autopsie (n=1) et d'un site anatomique dont la nature n'était pas renseignée (n=12).

Le détail des 530 infections invasives est présenté dans le Tableau 2 et la figure 19.

Tableau 2. Infections invasives dues aux 530 souches de *S. pyogenes* expertisées par le CNR-Strep en 2013.

Type d'infection	Infections invasives		Hémocultures positives		SCTS*		Décès	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Septicémie sans foyer	93	17,5	93	100	22	23,7	17	18
Infections dermatologiques								
DHN	73	13,8	32	43,8	26	35,6	12	16,4
Erysipèle	76	14,3	68	89,5	9	11,8	4	5
Autres infections cutanées	60	11,3	41	68,3	11	18,3	5	8,3
Infections gynéco-obstétriques	95	17,9	37	38,9	9	9,5	3	3,2
Infections pleuro-pulmonaires	55	10,4	27	49,1	15	27,3	13	24
Infections ostéo-articulaires	39	7,4	14	35,9	6	15,4	3	7,7
ORL	12	2,3	10	83,3	1	8,3	2	16,7
Infections intra-abdominales	11	2,1	7	63,6	1	9	2	18
Méningites	8	1,5	2	25	2	25	2	25
Infections endo-vasculaires	4	0,8	4	100	3	75	0	0
Autres	4	0,8	3	75	0	0	0	0

*Syndrome de choc toxique streptococcique

Quatre-vingt deux pour cent des souches étudiées étaient responsables d'infections invasives (530/644). Parmi celles-ci, les septicémies sans foyer infectieux identifié représentaient 17,5% des cas. Les manifestations dermatologiques représentaient 39,4% des cas incluant 73 cas de dermo-hypodermite nécrosante (DHN), 76 cas d'érysipèle et 60 autres types d'infections cutanées. Parmi les 95 infections gynéco-obstétricales, qui représentent 17,9% des cas d'infections invasives, la majorité était des infections du post-partum reconnues dans les quelques heures ou jours suivant l'accouchement (n=50). 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 du 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 de ces cas survenus en post-partum, les autres infections gynéco-obstétricales comprenaient 7 infections liées à un dispositif intra-utérin, 3 cas d'infections post interruption médicale de grossesse, 3 chorioamniotites, 2 infections post abortum, 7 péritonites pelviennes dont une survenue post insémination, 2 salpingites dont une liée à un DIU et 21 infections survenues en dehors de tout contexte obstétrical dont 11 septicémies.

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

Les différents types de manifestations cliniques des infections invasives à SGA décrites en 2013, sont présentés selon les données démographiques des patients dans la figure 19.

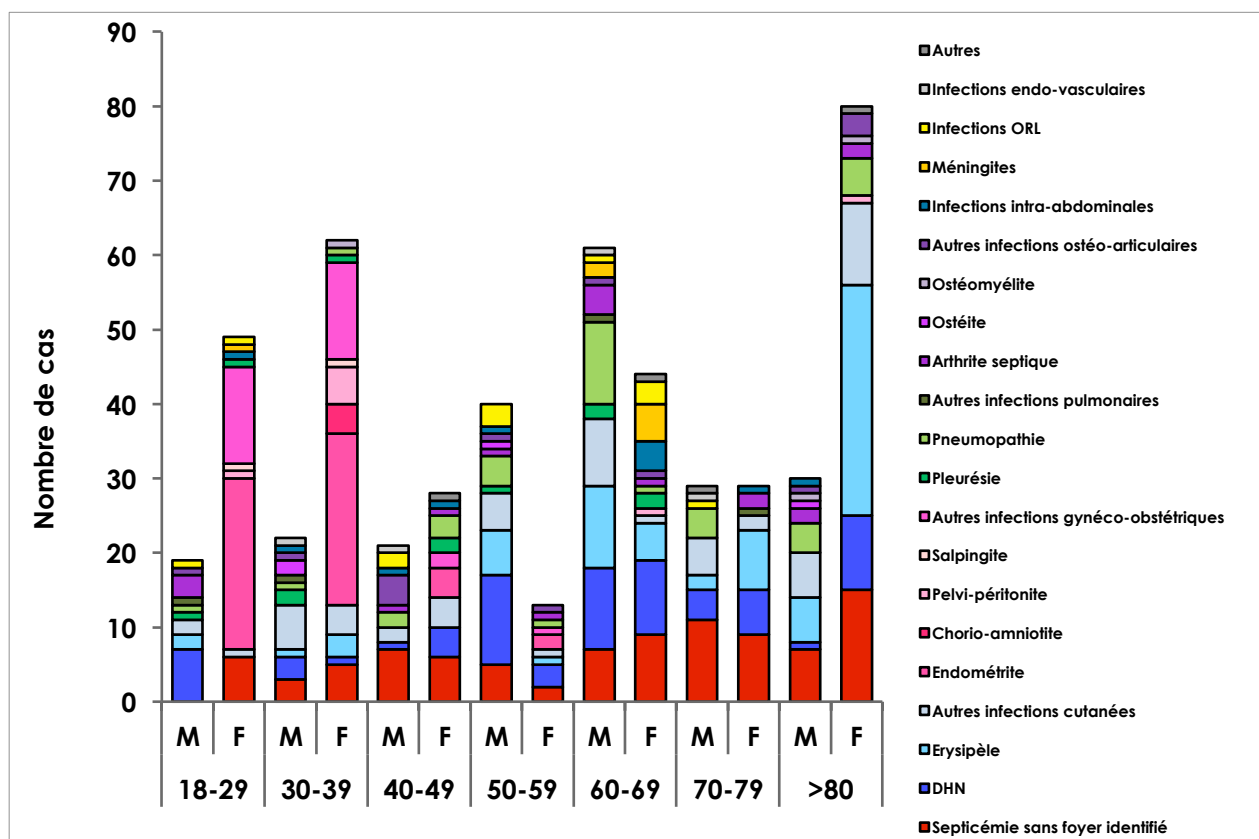


Figure 19. Distribution des différents types de manifestations cliniques des 530 cas d'infections invasives à *S.pyogenes* décrites par le CNR-Strep en 2013.

Les infections de la peau et des tissus mous, les infections ostéo-articulaires et pulmonaires surviennent plus fréquemment chez les patients de plus de 50 ans. Les infections gynéco-obstétricales représentent la plus fréquente des manifestations cliniques d'infections invasives à SGA survenant chez les femmes avant 40 ans. En revanche, chez les patients de sexe masculin ce sont les infections ostéo-articulaires et pulmonaires qui prédominent.

Un syndrome de choc toxique streptococcique (SCTS) a été identifié chez 105 patients (19,8% des infections invasives) pour lesquels le décès est survenu dans 32,4% des cas (34 patients). Les DHN, les infections pleuro-pulmonaires et les méningites ont été associées dans respectivement 35,6%, 27,3% et 25% des cas à un syndrome de choc toxique. Sur l'ensemble des infections invasives, 63 décès intra-hospitaliers ont été signalés lors de l'envoi de la souche, soit dans 11,9% des cas. Les taux les plus élevés de mortalité concernaient les septicémies sans foyer identifié (18%). La relation entre syndrome de choc toxique streptococcique et génotype *emm* est analysée plus loin.

Les 114 infections non invasives incluaient : 61 cas d'infections ou de colonisations dermatologiques, 16 infections ou portages vaginaux, 34 infections (angines, phlegmon amygdalien, otite) ou colonisations de la sphère ORL et 3 colonisations trachéo-bronchiques.

Les caractéristiques phénotypiques et moléculaires des souches sont détaillées dans les figures ci-dessous (Fig. 20 et 21).

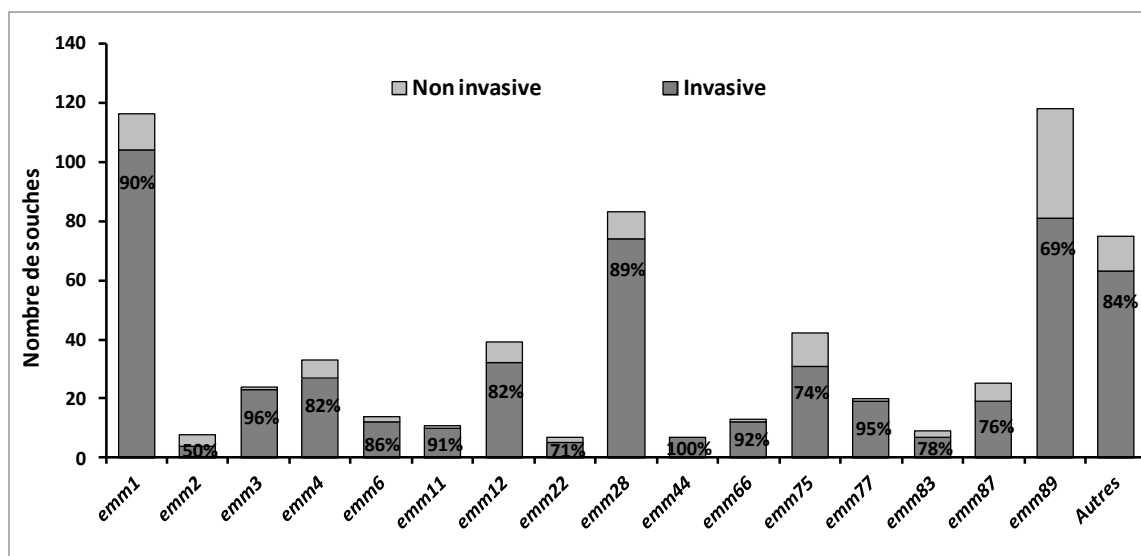


Figure 20. Distribution des différents génotypes *emm* des 644 souches de *S. pyogenes* expertisées en 2013 selon leur caractère invasif ou non invasif.

En 2013, 57 génotypes *emm* différents ont été identifiés parmi les 530 souches invasives de SGA expertisées par le CNR-Strep. La répartition des 15 génotypes *emm* les plus fréquemment identifiés dans les infections invasives est représentée (Fig. 21).

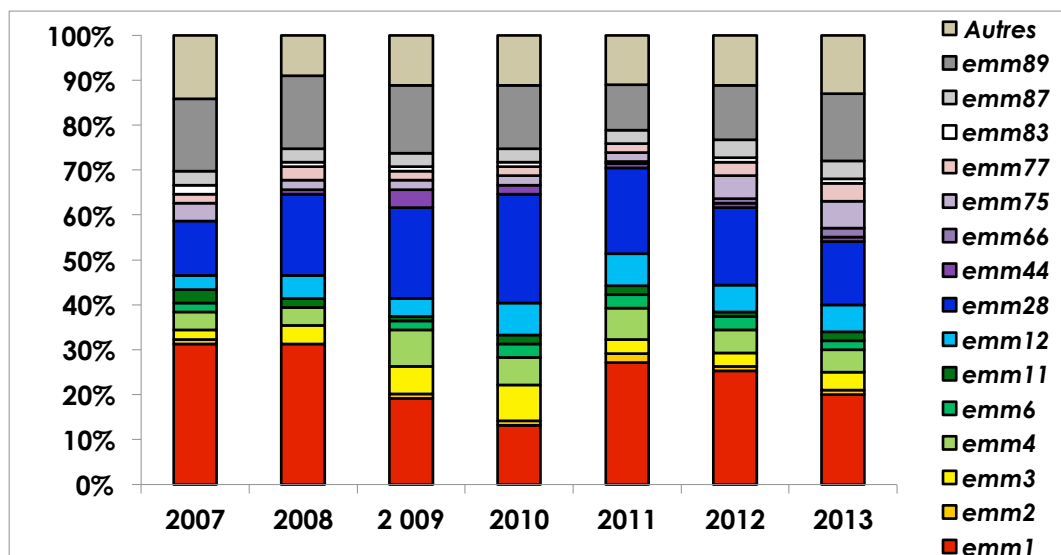


Figure 21. Evolution de la fréquence des principaux génotypes emm responsables d'infections invasives entre 2007 et 2013.

Parmi les 15 génotypes les plus fréquents, les trois génotypes prédominants sont : *emm1* (20%), *emm28* (14%), et *emm89* (15%), représentant 49% des souches invasives (n=259).

- Le génotype *emm1*, réputé le plus virulent, représente 20% des souches invasives (n=104). La diminution de la fréquence des souches *emm1* se confirme, passant respectivement de 27% en 2011, 25% en 2012 à 20% en 2013. Néanmoins, le génotype *emm1* reste majoritaire.
- Le génotype *emm28* représente 14% des souches invasives (n=74). 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 2013 atteignant 14% des souches invasives. Cependant, le génotype *emm28* reste dominant et constitue le troisième génotype en termes de fréquence.
- Les souches *emm89* représentent 15% des souches invasives (n=81). Depuis 2011 la fréquence de ce génotype est en constante augmentation représentant respectivement 10%, 12% et 15% des souches invasives en 2011, 2012 et 2013. Il atteint la deuxième place en termes de fréquence de génotype en 2013. Ce phénomène est lié en partie à l'émergence d'un clone circulant au sein d'un service d'un établissement de soin, qui représente 22% des souches invasives *emm89* expertisées en 2013.

Les 9 génotypes suivants : *emm3*, *emm4*, *emm6*, *emm11*, *emm12*, *emm66*, *emm75*, *emm77* et *emm87* représentent chacun 2 à 6% des souches invasives expertisées en 2013. Parmi eux, les souches de génotype *emm3* responsables d'infections sévères étaient en augmentation depuis 2007 atteignant 8% en 2010, ont diminué depuis 2011 pour se stabiliser à 4% des souches invasives en 2013. De la même façon, la fréquence des souches de génotype *emm4* et *emm87* reste stable, s'élevant à respectivement 5% et 4% en 2013 comme en 2012. La fréquence des souches *emm12* en augmentation depuis 2007 se stabilise à 6% en 2013. En revanche, l'augmentation de fréquence des souches de génotype *emm75* observée en 2012 se confirme, atteignant 6% en 2013. De la même façon, la fréquence des souches *emm77* stable à 3% depuis 2008 passe à 6% en 2013. Au contraire la fréquence du génotype *emm6* stable à 3% depuis 2010, passe à 2% en 2013.

Les 3 génotypes *emm2*, *emm44* et *emm83* représentent chacun 1% du total des souches invasives.

Les 42 autres génotypes identifiés en 2013, regroupent 68 souches correspondant à 12,8% des souches invasives. Ils incluent chacun 1 à 5 souches et représentent chacun moins de 1% des souches.

Associations entre génotypes emm et manifestations cliniques.

Les souches de génotype *emm1* sont associées dans 31% 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 20 et 7% des cas. Les souches de génotype *emm3* sont également associées à une fréquence élevée de SCTS, à savoir 39% en 2013, alors que pour l'ensemble des infections invasives, tout génotype confondu, ce syndrome survient en moyenne dans 20% des cas (Fig. 22).

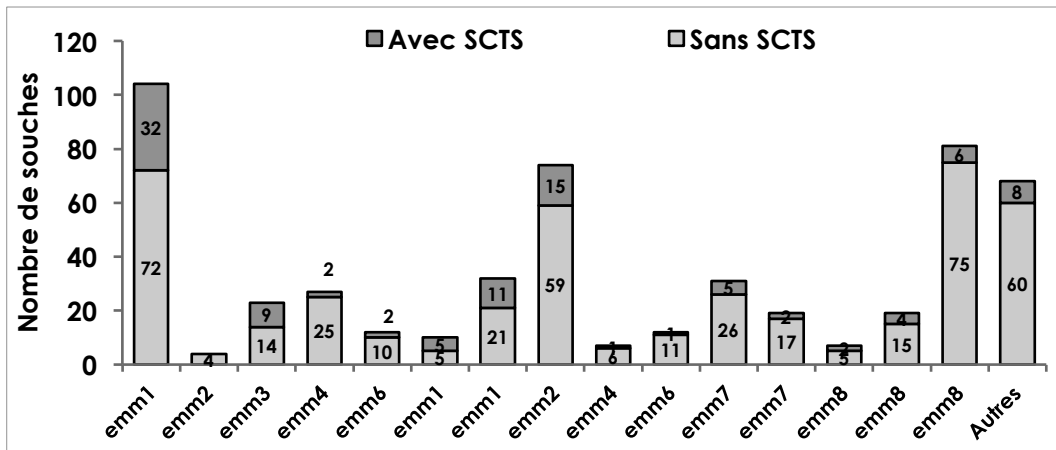


Figure 22. Répartition des 15 génotypes les plus fréquents parmi les souches invasives responsables d'un syndrome de choc toxique streptococcique (SCTS)

La distribution des 15 génotypes *emm* les répandus parmi les différents types de manifestations cliniques invasives est présentée dans la figure 23.

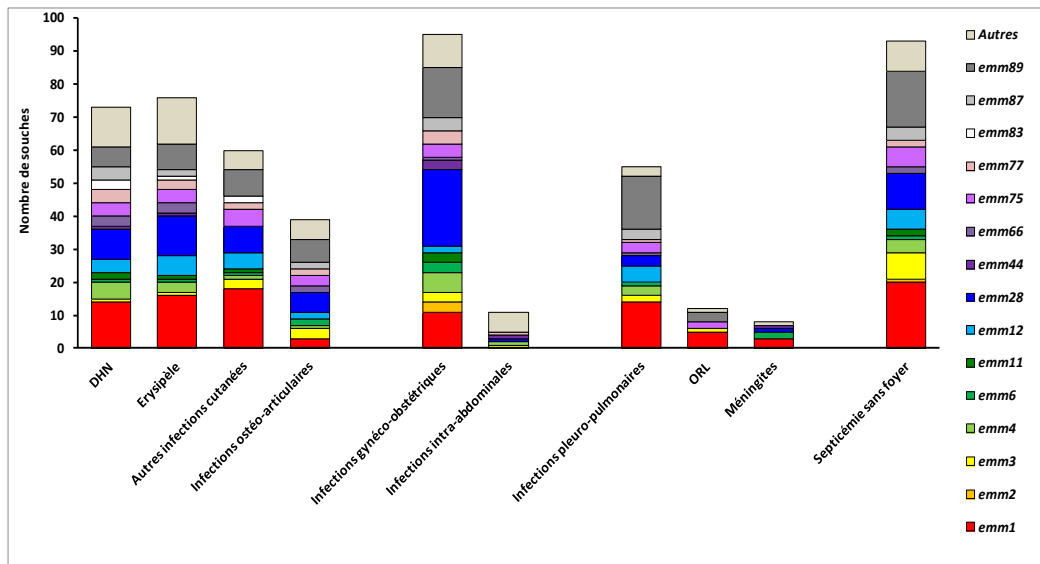


Figure 23. Répartition des 15 génotypes les plus fréquents parmi les principales manifestations cliniques invasives décrites en 2013 par le CNR-Strep

En 2013, parmi les souches invasives de SGA décrites par le CNR-Strep, les **infections de la peau et des tissus mous** impliquaient majoritairement des souches de génotype *emm1* responsables de respectivement 19%, 21% et 30% des DHN, érysipèles et autres types d'infections de la peau et des tissus mous. Au contraire les **infections ostéo-articulaires** étaient principalement

provoquées par des souches de génotype **emm89**. Les **infections gynéco-obstétricales** impliquaient dans 24% des cas des souches de génotype **emm28** et dans 16% des cas des souches de génotype **emm89**, les souches de génotype **emm1** ne représentant que 12% de ce type de manifestation clinique. Les **infections pleuro-pulmonaires** étaient principalement provoquées par des souches de génotype **emm89** et **emm1** dont la fréquence s'élevait respectivement à 29% et 25%. Parmi les 16 souches de génotype **emm89** responsables d'infections pleuropulmonaires, 11 souches (69%) provenaient d'un clone circulant au sein d'un service d'un établissement de soin. Les **infections ORL** impliquaient dans respectivement 42% et 25% des cas des souches **emm1** et **emm89** alors que les **méningites** étaient liées à des souches **emm1** (38%) et **emm6** (25%). Enfin les **septicémies sans foyer identifié** impliquaient principalement des souches de génotypes **emm1** (22%), **emm89** (18%) et **emm28** (12%).

Les gènes **speA**, **speC**, **Ssa** et **SmeZ** codant les toxines ou superantigènes streptococciques sont présents respectivement dans 26%, 55%, 16% et 95% des souches de SGA responsables d'infections invasives (Figure 24). Le gène chromosomique **speB**, codant la cystéine protéase, a été détecté chez toutes les souches expertisées.

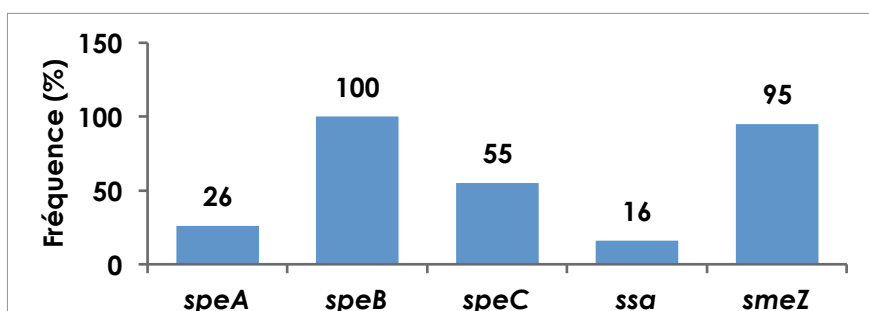


Figure 24. Fréquence des gènes codant les exotoxines ou superantigènes des 530 souches invasives de *S. pyogenes* expertisées en 2013.

La diversité des associations des différents gènes de toxines ou superantigènes en fonction des principaux génotypes **emm** identifiés en 2013 est représentée dans la figure 25.

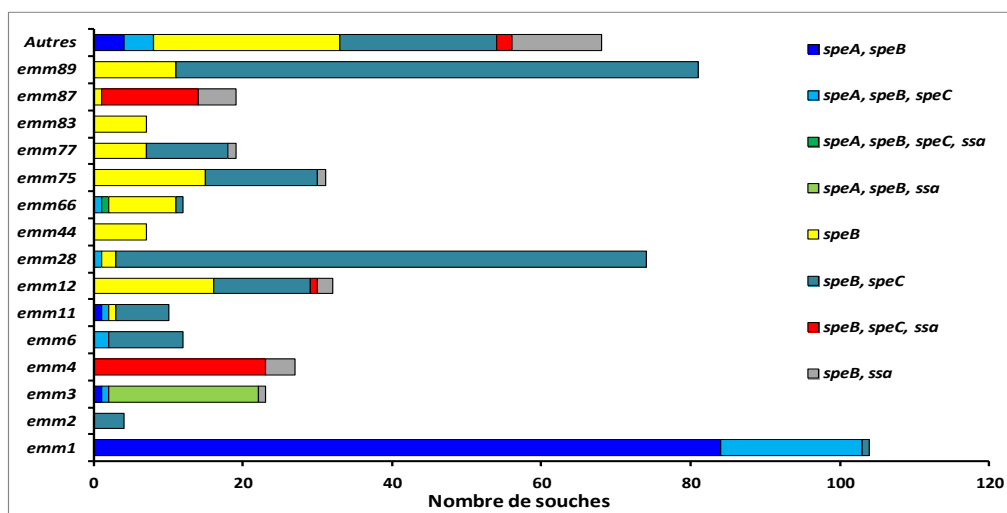


Figure 25. Corrélation entre les gènes codant les exotoxines ou superantigènes et les 15 génotypes majeurs des 530 souches invasives de *S. pyogenes* expertisées en 2013.

speA localisé sur un prophage a été détecté chez 140 souches, en particulier de génotype **emm1** (n=103 ; 74%) et **emm3** (n=22; 16%). Les autres souches porteuses de **speA** (15; 10%) se répartissaient 11 génotypes différents. **speC** a été retrouvé parmi les 15 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**. Seize 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**.

SGA et infections de l'enfant

Au cours de l'année 2013, 114 souches non redondantes de SGA isolées chez des enfants (<18 ans) ont été expertisées dont **88** étaient responsables d'**infections invasives** et **26** isolées au cours d'**infections non-invasives** ou de **colonisations**.

Les sites d'isolement des 114 souches pédiatriques de SGA sont indiqués ci-dessous dans la figure 26.

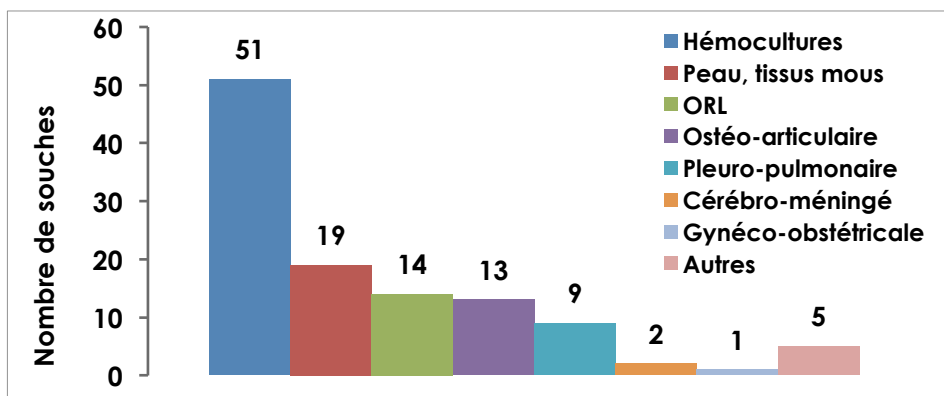


Figure 26. Répartition par type de prélèvement des 114 souches pédiatriques de *S. pyogenes* expertisées par le CNR-Strep en 2013.

La majorité des souches a été isolée dans des hémocultures (51/114 soit 44,8%) puis de prélèvements dermatologiques superficiels ou profonds (19/114 soit 16,7%) et de prélèvements ORL (14/114 soit 12,3%). Les 5 souches de SGA isolées des autres sites anatomiques provenaient de conjonctive (n=1), liquide gastrique (n=1), ponction ganglionnaire (n=1), autopsie (n=1) et d'un site anatomique dont la nature n'était pas renseignée (n=1).

Le détail des 88 infections invasives pédiatriques est présenté dans le Tableau 3.

Tableau 3. Infections invasives dues aux 88 souches pédiatriques de *S. pyogenes* expertisées par le CNR-Strep en 2013.

Type d'infection	Infections invasives		Hémocultures positives		SCTS		Décès	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Septicémie sans foyer	14	15,9	14	100	3	21,4	0	0
Infections dermatologiques								
DHN	4	4,5	2	48,1	2	50	0	0
Erysipèle	2	2,3	1	92,3	1	50	0	0
Autres infections cutanées	15	17	10	45,8	1	6,7	0	0
Infections ostéo-articulaires	21	23,9	5	22	1	4,8	1	4,8
Infections pleuro-pulmonaires	13	14,8	4	68,8	5	38,5	5	38,5
ORL	10	11,4	9	66,6	2	20	3	30
Infections intra-abdominales	2	2,3	2	66,7	1	50	0	0
Méningites	2	2,3	0	7,1	0	0	0	0
Infections gynéco-obstétriques	2	2,3	1	42,3	1	50	1	50
Autres	3	3,4	3	100	2	66,7	1	33,3

Soixante-dix sept pour cent des souches étudiées étaient responsables d'infections invasives (88/114). Les septicémies sans foyer infectieux identifié représentaient 15,9% des cas. Les infections dermatologiques représentaient 23,8% des cas incluant 4 cas de DHN, 2 cas d'érysipèle et 15 autres types d'infections cutanées. Les infections ostéo-articulaires représentaient 23,9% des cas, incluant 17 arthrites simples et 4 infections osseuses. Les infections

pleuro-pulmonaires représentaient le troisième grand type d'infections invasives (14,8%), accompagnées d'une pleurésie dans plus de 50% des cas.

Un SCTS a été identifié chez 19 patients (21,6%) dont 6 cas (31,6%) ont évolué défavorablement et sont décédés. Parmi l'ensemble des infections invasives pédiatriques, 11 décès (12,5%) ont été signalés.

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

Les différents types de manifestations cliniques pédiatriques des infections invasives à SGA décrites en 2013, sont présentés selon les données démographiques des patients dans la figure 27.

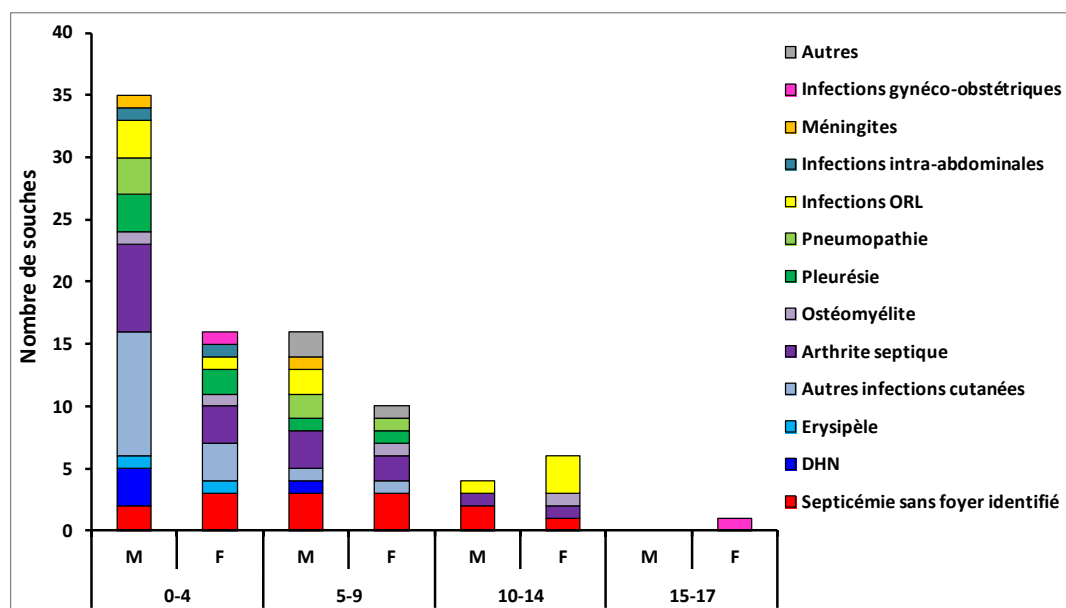


Figure 27. Distribution des différents types de manifestations cliniques des 88 cas d'infections invasives pédiatriques à *S.pyogenes* décrites par le CNR-Strep en 2013.

Les souches de SGA responsables d'infections invasives pédiatriques provenaient dans 88% des cas d'enfants âgés de moins de 10 ans dont deux tiers de garçons. Au contraire, parmi les souches isolées chez des enfants entre 10 et 17 ans, 60% provenaient de filles. Les infections de la peau et des tissus mous étaient prédominantes chez les enfants avant 5 ans. Au contraire chez les enfants entre 5 et 9 ans, les infections ostéo-articulaires et les septicémies sans foyer identifié étaient majoritaires et chez les enfants âgés de 10 à 14 ans les infections ORL prédominaient. En 2013, une seule infection invasive à SGA a été décrite pour la tranche d'âge 15-17 ans, il s'agissait d'une bactériémie consécutive à une interruption thérapeutique de grossesse.

Les **26 infections non invasives** comportaient : 15 infections (angines, scarlatine, otite) ou colonisations de la sphère ORL, 7 infections dermatologiques, 2 anites, une vulvo-vaginite et un cas de colonisation du liquide gastrique.

Les caractéristiques phénotypiques et moléculaires des 88 souches pédiatriques invasives de SGA sont détaillées dans les figures et tableau ci-dessous (Fig. 28, 29, 30, 31 et 32).

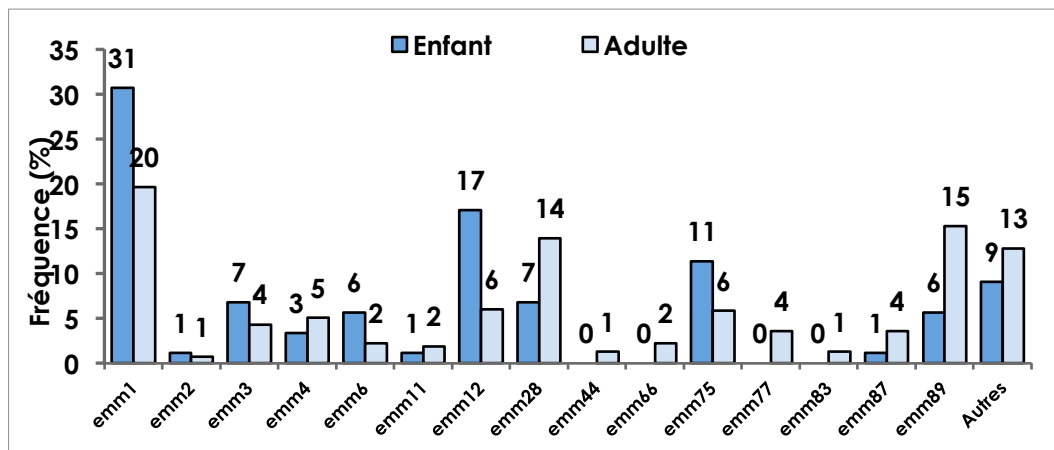


Figure 28. Comparaison adulte/enfant de la distribution des 15 génotypes emm les plus fréquents dans les infections invasives.

Chez l'enfant 17 génotypes emm différents ont été identifiés parmi les souches de SGA responsables d'infections invasives dont les trois génotypes prédominants sont : emm1 (31%), emm12 (17%), et emm75 (11%), représentant 59% des souches invasives (n=52).

- Le génotype emm1, réputé le plus virulent, représente 31% des souches invasives (n=27).
- Les souches emm12 représentent 17% des souches invasives (n=15). Ce génotype est beaucoup fréquent dans les infections invasives pédiatriques que parmi les infections invasives de l'adulte.
- Le génotype emm75 représente 11% des souches invasives pédiatriques (n=10), se situant en troisième position alors que dans les infections invasives adultes il ne représente que 6%.

Les 5 génotypes suivants : emm3, emm4, emm6, emm28 et emm89 représentent chacun 3 à 7% des souches pédiatriques invasives expertisées en 2013. Parmi eux, les souches de génotype emm28 et emm89 sont 2 fois moins fréquentes dans les invasives pédiatriques que chez l'adulte ne représentant respectivement que 7% et 6% des souches. Au contraire, les génotypes emm3 et emm6 représentant chacun 7% et 6% des infections invasives pédiatriques, sont plus fréquents que chez l'adulte où ils représentent respectivement 4% et 2%.

Les génotypes emm2, emm11 et emm87 représentent chacun 1% des souches invasives pédiatriques.

Les génotypes emm44, emm66, emm77 et emm83 n'ont pas été identifiés dans les souches invasives pédiatriques.

Associations entre génotypes emm et manifestations cliniques.

Un syndrome de choc toxique streptococcique a été décrit dans 22% des infections invasives pédiatriques (Fig. 28). Les souches responsables de SCTS se répartissaient parmi 6 génotypes différents ; emm1, emm2, emm4, emm12, emm28 et emm89. Comme au cours des infections invasives de l'adulte, les souches pédiatriques de génotype emm1 sont associées dans 26% des cas à un SCTS. Cependant alors que les deux autres génotypes les plus fréquents chez l'adulte, emm28 et emm89 ne sont associés à un SCTS que dans respectivement 20 et 7% des cas, chez l'enfant les taux de SCTS atteignent respectivement 67% et 40%. Aucun SCTS n'a été décrit avec une souche pédiatrique de génotype emm3 alors que ce génotype est associé à une fréquence élevée de SCTS (39%) au cours des infections invasives de l'adulte.

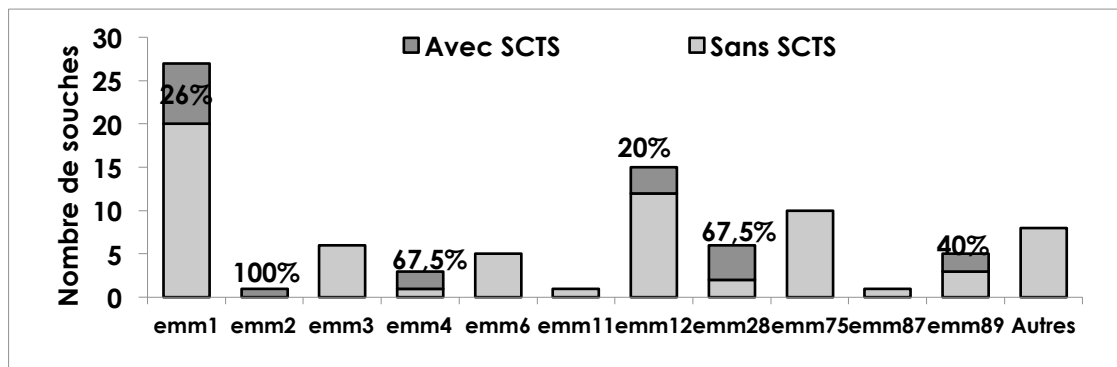


Figure 29. Répartition des souches invasives pédiatriques responsables d'un syndrome de choc toxique streptococcique (SCTS) en fonction du génotype

La distribution des génotypes les répandus parmi les différents types de manifestations cliniques invasives est présentée dans la Figure 30.

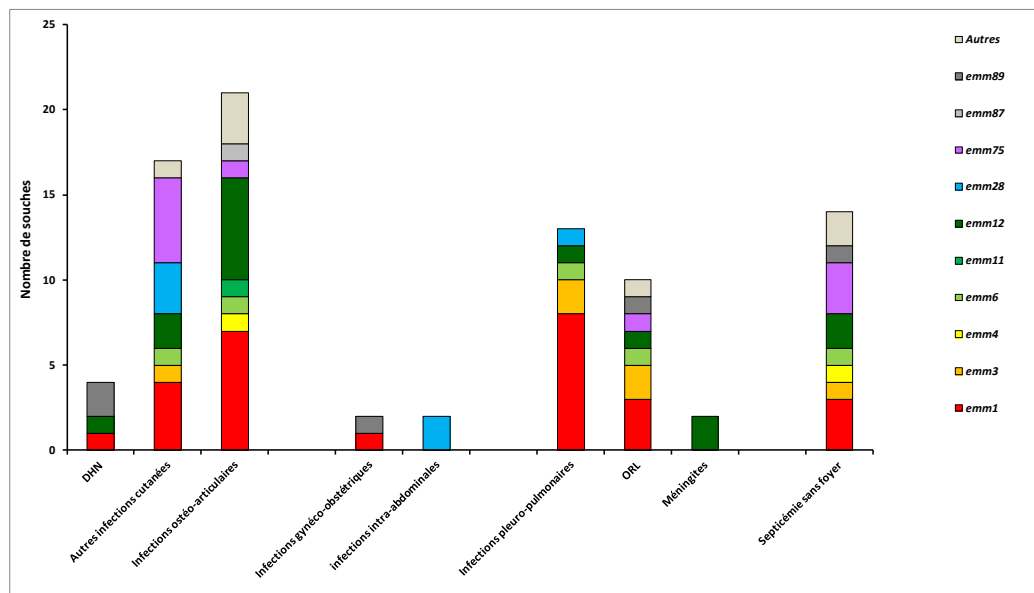


Figure 30. Répartition des génotypes plus fréquents parmi les principales manifestations cliniques invasives pédiatriques décrites en 2013 par le CNR-Strep

Les infections pédiatriques de la **peau et des tissus mous** décrites en 2013 par le CNR-Strep, impliquaient majoritairement des souches de génotypes **emm1** (24%) et **emm75** (24%). Les souches de génotype **emm1** étaient également les plus fréquentes parmi les **infections pédiatriques pleuro-pulmonaires** atteignant un taux de 62%. Les infections pédiatriques **ostéo-articulaires** étaient principalement provoquées par des souches de génotypes **emm1** (33%) et **emm12** (29%). Les **infections ORL** impliquaient dans respectivement 30% et 20% des cas des souches **emm1** et **emm3**. Enfin les **septicémies sans foyer identifié** impliquaient principalement des souches de génotypes **emm1** (21%) et **emm75** (21%).

Les gènes **speA**, **speC**, **Ssa** et **SmeZ** codant les toxines ou superantigènes streptococciques sont présents respectivement dans 42%, 47%, 16% et 83% des souches pédiatriques de SGA responsables d'infections invasives (Fig. 31). Le gène chromosomique **speB**, codant la cystéine protéase, a été détecté chez toutes les souches expertisées.

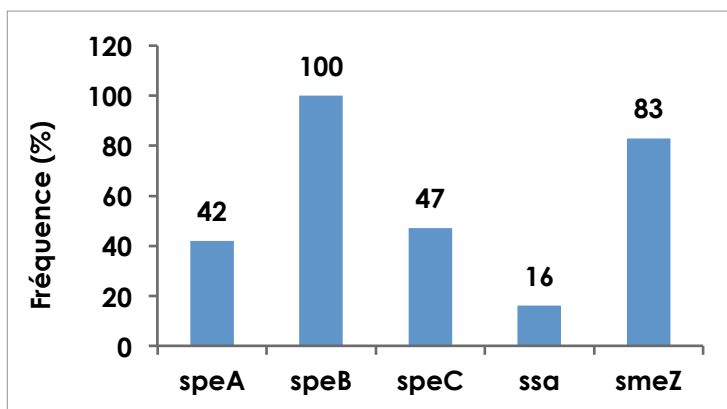


Figure 31. Fréquence des gènes codant les exotoxines ou superantigènes des 88 souches pédiatriques invasives de *S. pyogenes* expertisées en 2013.

La diversité des associations des différents gènes de toxines ou superantigènes en fonction des principaux génotypes emm identifiés en 2013 parmi les souches pédiatriques invasives, est représentée dans la figure 32.

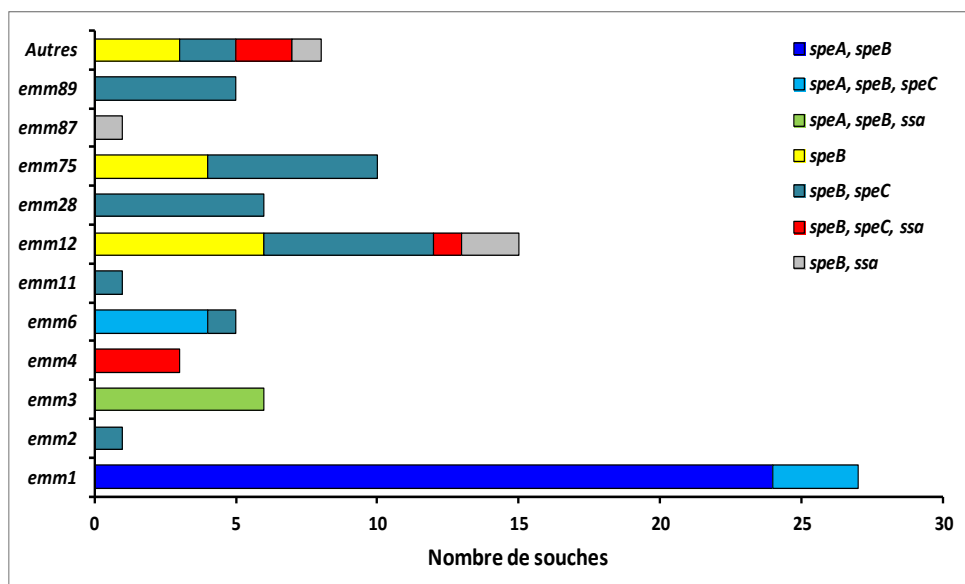


Figure 32. Corrélation entre les gènes codant les exotoxines ou superantigènes et les génotypes majoritaires des 88 souches pédiatriques invasives de *S. pyogenes* expertisées en 2013.

La corrélation observée entre les différentes associations de gène de toxine et les génotypes est identique pour les souches pédiatriques à celle observée avec les souches invasives de l'adulte.

Investigation des cas groupés à SGA

En 2013, 83 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 85 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. 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 2013. Les épisodes de cas groupés pour lesquels les souches ont été expertisées par le CNR-Strep sont regroupés dans les Tableaux 4 et 5.

Détail des 15 épisodes de cas groupés analysés en 2013 (Tableaux 4 et 5)

Quatorze 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 15 cas groupés ont concernés 85 personnes (55 malades, 28 contacts porteurs de SGA au niveau bronchique, cutané, pharyngé, trachéal ou vaginal et 2 nouveau-nés colonisés). Ces épisodes ont eu lieu dans 13 agglomérations métropolitaines distinctes.

Les 15 épisodes, incluant de 2 à 51 isolats chacun, ont concerné :

- 9 épisodes d'infections du post-partum, dont 3 avec transmission intra-familiale et 2 épisodes d'infections materno-foetales.
- 5 cas groupés nosocomiaux incluant 2 cas groupés dont la source de contamination probable a pu être identifiée et un cas groupé impliquant une souche de *Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis* responsable d'infections ostéo-articulaires
- 1 épisode d'infections nosocomiales évoluant depuis plus d'une année dans un service de soins de suite incluant 51 personnes dont 32 malades (patient et personnel soignant) et 19 contacts asymptomatiques (patient et personnel soignant). Afin de caractériser les déterminants responsables de la persistance inhabituelle de ce clone particulier, le séquençage complet d'un échantillon représentatif de ces souches est en cours.

Sur un total de 55 malades, 5 SCTS ont été signalés chez des femmes entre 32 et 68 ans. Cinq décès ont été rapportés, survenant chez 2 femmes âgées de 68 et 30 ans atteintes respectivement d'un DHN et d'une infection materno-foetale avec enfant de sexe féminin mort-né, chacun de ces cas étant associé à un SCTS. Les 2 derniers décès sont survenus chez des hommes âgés de 60 ans et 61 ans atteints respectivement d'une septicémie sans foyer identifié associé et d'une infection sur cathéter. Une DHN a été décrite au cours de 4 épisodes de cas groupés survenant chez un homme de 61 ans et 4 femmes entre 45 et 83 ans.

Les isolats de SGA des 53 malades et 30 contacts liés aux épisodes survenus en 2013 appartiennent à 13 génotypes *emm* différents. Parmi les génotypes *emm* impliqués dans ces cas groupés, 8 appartiennent à l'un des 15 génotypes *emm* majoritaires en 2013. Le cas groupé d'infections nosocomiales survenu dans un service de soins de suite incluant 51 personnes, concernait un clone de souches de génotype *emm89*.

Tableau 4 : Episodes de cas groupés d'infections à SGA analysés en 2013

N°	Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype emm	Pulsotype	Conclusion
1	Index	M	64	PDP	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°2	NP	66	Brosse pulmonaire	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°3	M	49	Adénopathie	Surinfection adénopathie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°4	F	74	Hémoculture	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°5	M	50	Brosse pulmonaire	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°6	M	64	Orifice gastrostomie	Infection post-gastrostomie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°7	M	50	Brosse pulmonaire	NP	emm89.0	89-A4	
	Malade n°8	M	60	Hémoculture	Bactériémie sans foyer identifié	emm89.0	89-A4	
	Malade n°9	F	83	Cutané	Escarre	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	58	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Malade n°10	M	68	PDP	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	Transmission intra-hospitalière
	Contact	M	84	Cutané	Colonisation cutanée	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	49	Cutané	Colonisation cutanée	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	54	Cutané	Colonisation cutanée	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	65	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Contact	F	66	Trachéotomie	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Malade n°11	M	59	Trachéotomie	Surinfection trachéotomie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°12	M	69	PDP	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°13	M	72	PDP	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	

N°	Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype emm	Pulsotype	Conclusion
1 (suite)	Contact	M	24	Pharynx	Portage pharyngé	emm75.0		Souche non reliée
	Malade n°18	M	87	PDP	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Contact	F	21	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	22	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Malade n°19	M	78	Hémoculture	Bactériémie sans foyer identifié	emm89.0	89-A4	Transmission intra-hospitalière
	Malade n°20	M	53	PDP	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°21	M	61	NP	Infection sur cathéter	emm89.0	89-A4	
	Malade n°22	M	69	Cutané	Escarre	emm4.0		Souche non reliée
	Contact	M	65	Aspiration bronchique	Colonisation	emm89.0	89-A4	
	Malade n°23	F	28	Pharynx	Angine	emm89.0	89-A4	
	Malade n°24	M	80	Orifice gastrostomie	Infection post-gastrostomie	emm89.0	89-A	
	Contact	M	60	Expectoration	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Malade n°25	M	74	Hémoculture	Pneumopathie	emm89.0	89-A4	
	Malade n°26	M	NP	Orifice gastrostomie	Infection post-gastrostomie	emm89.0	89-A4	
	Contact	F	56	Cutané	Colonisation	emm89.0	89-A4	Transmission intra-hospitalière
	Contact	M	75	Cutané	Colonisation	emm89.0	89-A	
	Malade n°27	M	65	Cutané	Surinfection	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	73	Orifice gastrostomie	Colonisation	emm89.0	89-A4	
	Malade n°28	F	26	Pharynx	Angine	emm89.0	89-A4	
	Malade n°29	M	61	Hémoculture	Bactériémie sans foyer identifié	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	63	Aspiration bronchique	Colonisation	emm89.0	89-A4	
	Contact	M	54	Pharynx	Portage pharyngé	emm89.0	89-A4	
	Contact	F	36	Pharynx	Portage pharyngé	emm87		Souche non reliée
	Malade n°30	F	74	Hémoculture	Bactériémie sans foyer identifié	emm89.0	89-A4	Transmission intra-hospitalière

N°	Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype emm	Pulsotype	Conclusion
1 (suite)	Malade n°31	M	54	Orifice gastrostomie	Infection post-gastrostomie	<i>emm89.0</i>	89-A4	Transmission intra-hospitalière
	Malade n°32	M	55	Hémoculture	Pneumopathie	<i>emm89.0</i>	89-A4	
	Contact	F	73	Aspiration bronchique	Colonisation	<i>emm89.0</i>		
	Contact	M	41	Trachéotomie	Portage pharyngé	<i>emm89.0</i>		
2	Index	F	65	Cutané	DHN	<i>emm104.0</i>	104-A	Transmission intra-hospitalière
	Contact	F	52	Pharynx	Portage pharyngé	<i>emm104.0</i>	104-A	
3	Index	F	19	Vagin	Endométrite post-partum	<i>emm223.0</i>	223-A	Transmission intra-hospitalière
	Malade n°2	F	22	Vagin	Endométrite post-partum	<i>emm223.0</i>	223-A	
4	Index	F	36	Vagin	Infection post-partum	<i>emm1.0</i>	1-A7	Transmission familiale
	Nouveau-né	M	<1 jour	Liquide gastrique	Colonisation	<i>emm1.0</i>	1-A7	
	Contact	M	38	Pharynx	Portage pharyngé du père	<i>emm1.0</i>	1-A7	
	Contact	M	5	Pharynx	Portage pharyngé du fils	<i>emm1.0</i>	1-A7	
5	Index	F	32	Hémoculture	Bactériémie isolée	<i>emm90.2</i>	90-A3	Transmission intra-hospitalière
	Contact	F	21	NP	Colonisation	<i>emm90.2</i>	90-A3	
6	Index	F	68	Post-opératoire	DHN + SCTS	<i>emm77.0</i>	77-B8	Transmission intra-hospitalière
	Malade n°2	F	45	Liquide de redon	DHN	<i>emm77.0</i>	77-B8	
7	Index	H	61	Tissus	DHN	<i>emm22.0</i>	22-A2	Transmission intra-hospitalière
	Malade n°2	F	49	Abcès	Abcès	<i>emm22.0</i>	22-A2	
8	Index	F	23	Hémoculture	Endométrite post-partum	<i>emm89.0</i>	89-A4	Post-partum, Nosocomial non exclu
	Malade n°2	F	33	Lochies	Endométrite post-partum	<i>emm89.0</i>	89-A4	
9	Index	F	32	Vagin	Infection post-partum	<i>emm28.0</i>	28-B	Transmission materno-fœtale
	Nouveau-né	M	<1 jour	Cutané	Colonisation	<i>emm28.0</i>	28-B	

N°	Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype emm	Pulsotype	Conclusion
10	Index	F	33	Vaginal	Chorio-amnionite	emm89.0	89-A4	<i>Souche non reliée</i>
	Malade n°2	F	27	Hémoculture	Bactériémie post-partum	emm4.0	4-G	Transmission familiale
	Contact	M	25	Pharynx	Portage pharyngé du mari	emm4.0	4-G	
11	Index	F	36	Vagin	Endométrite post-partum	emm87.0	87-A	Transmission familiale
	Contact	H	39	Pharynx	Portage pharyngé du mari	emm87.0	87-A	
12	Index	F	28	Stérilet	Infection sur stérilet	emm28.0		<i>Souche non reliée</i>
	Contact	F	27	Vagin	Portage post-partum	emm75.0	75-G	Transmission intra-hospitalière
	Contact	F	30	Vagin	Portage post-partum	emm75.0	75-G	
	Contact	F	36	Vagin	Portage per partum	emm87.0		<i>Souche non reliée</i>
13	Index	F	32	Placenta	Chorio-amnionite + SCTS	emm1.0	90-A3	Infection materno-foetale
	Nouveau-né	F	<1 jour	Biopsie	Enfant mort-né	emm1.0	90-A3	
14	Index	F	29	Vaginal	Endométrite post-partum + SCTS	emm113.0	113-A	Transmission intra-hospitalière
	Malade n°2	F	24	Vaginal	Endométrite post-partum + SCTS	emm113.0	113-A	
	Malade n°3	F	27	Vaginal	Endométrite post-partum + SCTS	emm44.0		<i>Souche non reliée</i>

NP : non précisé, SCTS : syndrome de choc toxique streptococcique, DHN : dermohypodermite nécrosante

Tableau 5 : Episode de cas groupés d'infections à *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* analysés en 2013

N° Cas	Sexe	Age	Prélèvement	Diagnostic	Génotype emm	Pulsotype	Conclusion	
15	Index	M	35	Liquide articulaire	Infection ostéo-articulaire	stG62647.0	stG62647-A	Transmission intra hospitalière
	Malade n°2	F	84	Liquide articulaire	Infection ostéo-articulaire	stG62647.0	stG62647-A3	

3.1. C. 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 2013, le nombre d'isolats de *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* s'est élevé à 74 (Tableau 4).

Tableau 6 : Répartition annuelle des souches de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* reçues au CNR-Strep depuis Janvier 2007.

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	17	38	45	54	37	68	74

Soixante-quatorze souches dédoublonnées de *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* ont été expertisées au CNR-Strep en 2013 (Fig. 33 et 34).

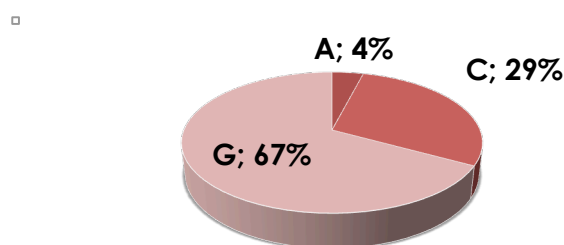


Figure 33. Distribution du groupe de Lancefield des 74 souches de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* expertisées en 2013.

Comme pour *S. pyogenes* le typage du gène *emm* de la protéine M a été réalisé. Vingt-trois génotypes *emm* distincts ont été identifiés en 2013 (Fig. 34).

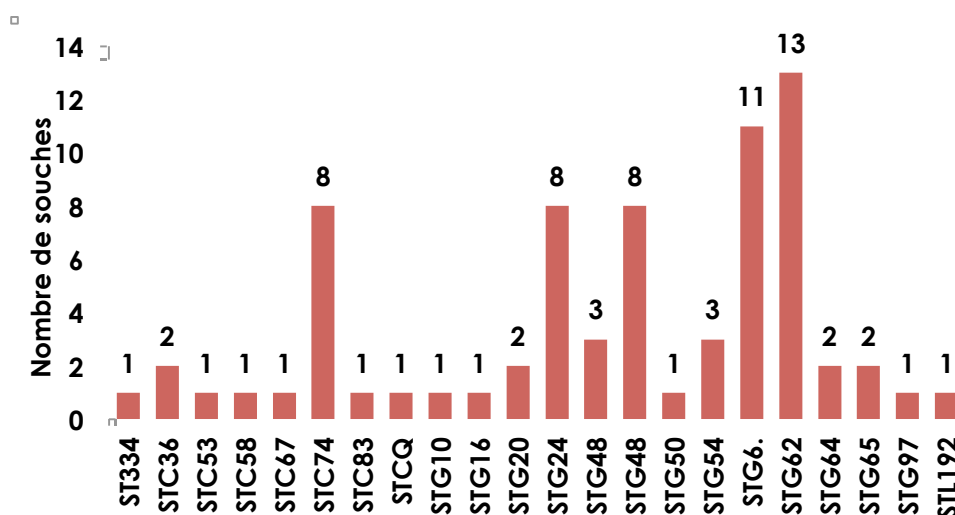


Figure 34. Distribution des génotypes *emm* des 74 souches de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* expertisées en 2013.

Les génotypes prépondérants stG6 et stG62647 représentent respectivement 15% et 17.5% des souches. D'autres génotypes semblent se démarquer en 2013 : stC74A, stG245 et stG485. Cette tendance sera à confirmer dans les années à venir.

La majorité des souches étudiées a été isolée d'infections invasives (57/74, soit 77%).

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

1282 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 2013. En 2012, la constitution d'une base de données fiable de profils de spectres pour l'ensemble des espèces de cocci à gram positif catalase négative a été réalisée. Cette base a été validée 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 en France.

Macrolides

Les données obtenues confirment que l'incidence de la résistance à l'érythromycine est supérieure à 20% des souches isolées (Fig. 35). Cette résistance est significativement plus élevée chez les souches responsables d'infections invasives de l'adulte. En 2012 on pouvait observer une nette diminution de l'incidence de la résistance à l'érythromycine pour les souches isolées d'infections invasives aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant. Il semblerait que cette incidence se stabilise en 2013.

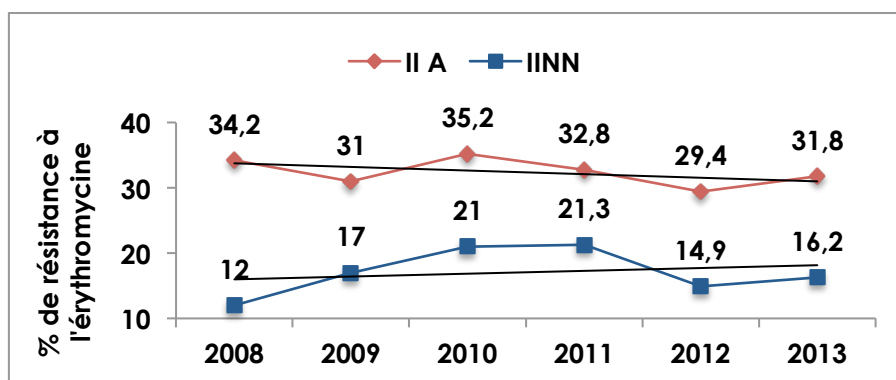


Figure 35. Evolution de la résistance à l'érythromycine des souches de SGB responsables d'infections invasives chez l'adulte (II A) et chez l'enfant (II NN).

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 2013 plus de 50% chez les souches de l'adulte, 33% chez celles de l'enfant.

La répartition des gènes de résistance aux macrolides entre 2008 et 2013 est représenté dans la figure 36. Le principal déterminant qui rend compte pour plus de 40% de la résistance à l'érythromycine est le gène *erm(B)* dont la fréquence, relativement stable de 2008 à 2012, semble diminuer légèrement en 2013. L'augmentation observée en 2012 du déterminant *mef(A)* au détriment du déterminant *erm(A)* ne semble pas se confirmer en 2013.

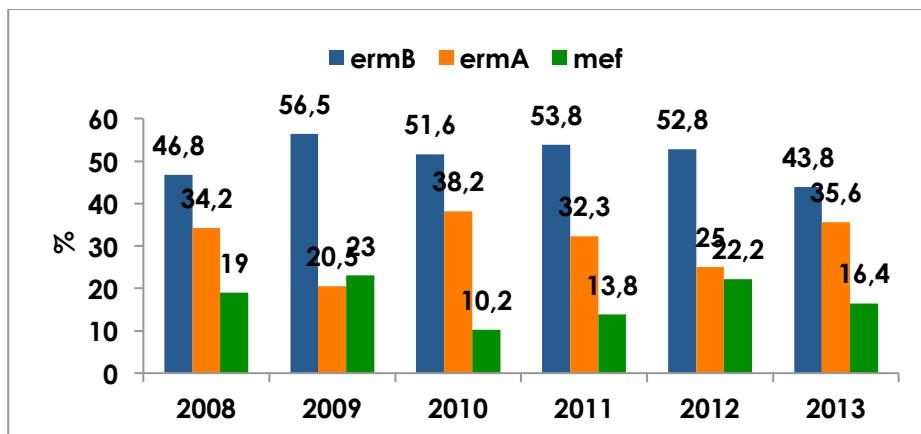


Figure 36. Distribution des gènes de résistance à l'érythromycine en fonction de l'année d'isolement chez les souches de SGB responsables d'infections invasives.

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 88% des souches responsables d'infections invasives néo-natales et 81% des souches isolées chez l'adulte (Fig. 37). L'incidence de cette résistance reste très élevée depuis de nombreuses années. Le déterminant *tet(M)* est retrouvé dans 95% des cas en 2013.

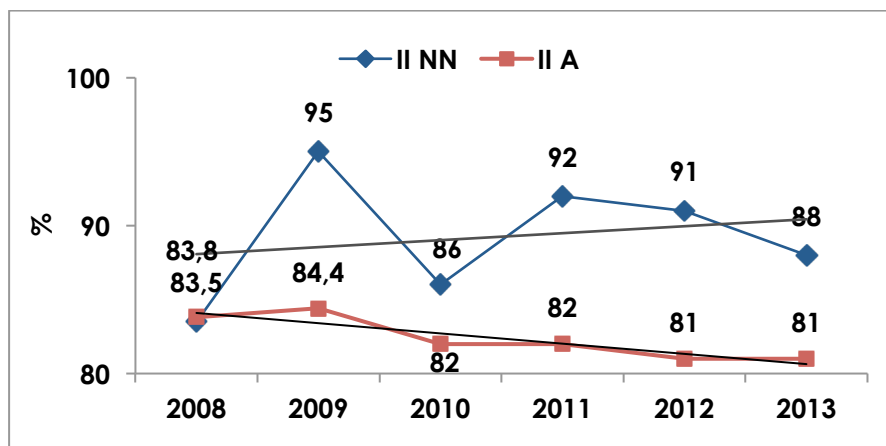


Figure 37. Evolution de la résistance à la tétracycline des souches de SGB responsables d'infections invasives chez l'adulte (II A) et chez l'enfant (II E).

Aminosides

Les SGB, sont naturellement résistants à bas niveau aux aminosides. Au cours de l'année 2013, douze souches (7 isolées d'infections invasives et 5 souches de colonisation), présentaient un haut niveau de résistance à 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 2013, douze souches (2 invasives et 10 de colonisation) présentaient une résistance acquise aux FQs avec des CMI à la lévofloxacine et à la ciprofloxacine > 32mg/L. Six étaient de SC III (5 non ST17 et une ST17), cinq de SC V et une de SC Ia, résistantes à la tétracycline pour dix d'entre elles, résistantes aux macrolides à l'exception de la souche ST17, huit de haut niveau de résistance à la gentamicine et quatre de bas niveau de résistance aux aminosides. Elles ont été isolées chez neuf adultes et trois enfants, deux d'une hémoculture, six de prélèvements vaginaux, deux de selles, une d'un ECBU et une de prélèvements périphériques de naissance d'un enfant. Le support génétique est en cours de caractérisation.

3.2. B. SGA et antibiotiques

SGA adultes

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 et se stabilise en 2013 avec un taux de résistance à l'érythromycine s'élevant à 4,5% (Fig. 38).

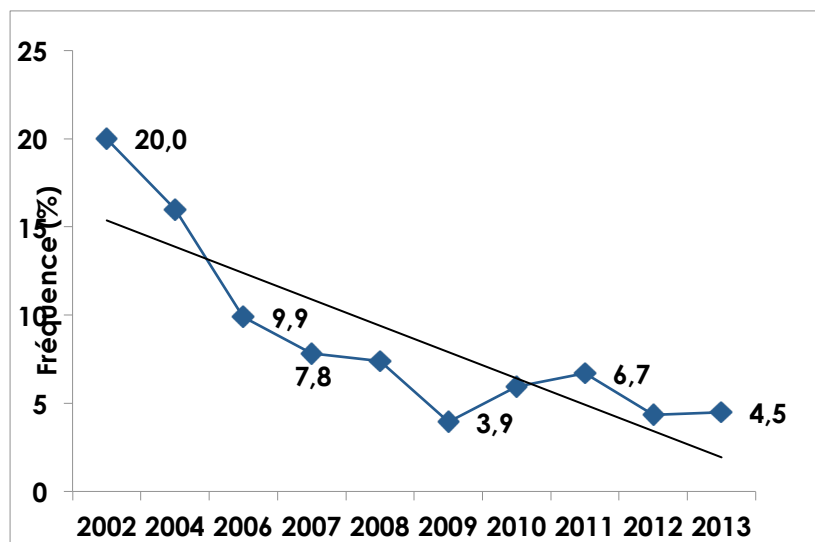


Figure 38. Evolution de la résistance à l'érythromycine des souches de *S. pyogenes* isolées chez l'adulte de 2002 à 2013.

Parmi les 29 souches de SGA résistantes à l'érythromycine en 2013, les phénotypes de résistance observés étaient de type MLS_B constitutif pour 12 souches, MLS_B inducible pour 11 souches et 6 souches présentaient un phénotype M. La caractérisation des déterminants génétiques de la résistance aux macrolides et apparentés est représentée Tableau 7 et Figure 39.

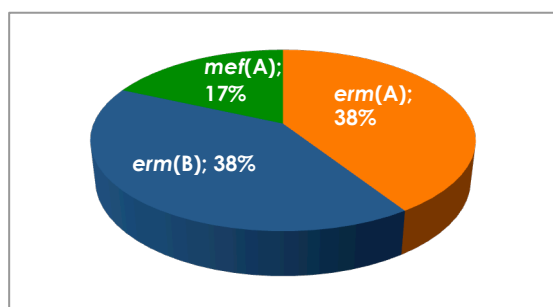


Figure 39. Fréquence des gènes de résistance à l'érythromycine chez les souches de *S. pyogenes* expertisées en 2013.

Tableau 7. Corrélation entre le génotype *emm* et les gènes de résistance à l'érythromycine chez les souches de *S. pyogenes* expertisées en 2013.

	<i>erm(A)</i>	<i>erm(B)</i>	<i>mef(A)</i>
<i>emm1</i>		1	
<i>emm9</i>		1	
<i>emm11</i>		3	1
<i>emm12</i>		1	
<i>emm22</i>		1	
<i>emm28</i>	1	1	
<i>emm58</i>		1	
<i>emm75</i>	1		1
<i>emm77</i>	8		
<i>emm87</i>		1	
<i>emm89</i>		1	
<i>emm92</i>	1		
<i>emm113</i>			2
<i>emm221</i>			1

La caractérisation des gènes de résistance aux macrolides et apparentés des 29 souches de SGA résistantes à l'érythromycine en 2013, a permis de mettre en évidence 11 souches porteuses du gène *erm(A)*, 11 souches porteuses du gène *erm(B)* et 5 souches porteuses du gène *mef(A)*. Il est à noter que la recherche des gènes de résistance était négative pour deux souches résistantes à l'érythromycine de génotype *emm6* et *emm75*. Le phénotype M caractéristique du mécanisme d'efflux codé par le gène *mef(A)*, a été identifié chez des souches résistantes à l'érythromycine appartenant aux génotypes *emm11* (n=1), *emm75* (n=1), *emm113* (n=2) et *emm221* (n=1). Le phénotype MLS_B constitutif identifié chez 11 souches, était lié à *erm(A)* dans une souche de génotype *emm28* et *erm(B)* pour les 10 autres souches (*emm1* (n=1), *emm9* (n=1), *emm11* (n=3), *emm12* (n=1), *emm22* (n=1), *emm28* (n=1), *emm87* (n=1) et *emm89* (n=1)). Le support génétique de la résistance à l'érythromycine de type MLS_B inducible était représentée par *erm(A)* pour 10 souches appartenant aux génotypes *emm75* (n=1), *emm77* (n=8) et *emm92* (n=1) ainsi qu'une souche *emm58* porteuse du gène *erm(B)*.

Parmi ces 29 souches, 4 présentaient également un haut niveau de résistance à la kanamycine dont 2 d'entre elles étaient de génotype *emm11*.

Tableau 8. Résistance à l'érythromycine et à la tétracycline des souches expertisées en 2013.

Infections invasives (n=530)		Infections non-invasives (n=114)	
Ery-R (%)	Tétra-R (%)	Ery-R	Tétra-R
23 (4,3%)	86 (16,2%)	6 (5,3%)	16 (14%)

La **résistance à la tétracycline** a été observée pour 102 souches, soit 15,8% (18% en 2006, 15% en 2007, 13% en 2008, 19% en 2009, 18% en 2010 et 12% en 2011 et 2012). Dix d'entre elles présentaient une résistance associée à l'érythromycine et à la clindamycine et dix autres souches présentaient une résistance associée à l'érythromycine seule. Les gènes de résistance à la tétracycline ont été recherchés chez les 102 souches résistantes. Leur répartition était la suivante : 82 souches étaient porteuses du gène *tet(M)*, 11 souches possédaient le gène *tet(O)* et 6 souches avaient à la fois les gènes *tet(M)* et *tet(L)* (Fig. 40). Le support génétique de résistance à la tétracycline n'a pas été objectivé pour trois souches ; la recherche des gènes de résistance *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(L)*, *tet(K)*, *tet(D)*, *tet(S)* et *tet(T)* étant négative. Les 102 souches résistantes à la tétracycline se répartissent parmi 40 génotypes *emm* différents.

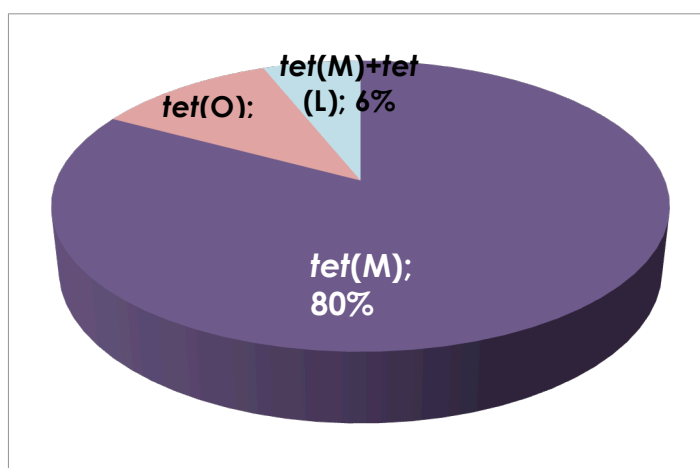


Figure 40. Fréquence des gènes de résistance à la tétracycline chez les souches de *S. pyogenes* expertisées en 2013.

Une diminution de sensibilité aux **fluoroquinolones** a été observée pour 22 souches, soit 3,4%. Dix-neuf d'entre elles appartiennent à 2 génotypes majoritaires : *emm6* (n=5) et *emm75* (n=14).

SGA pédiatriques et antibiotiques

Toutes les souches de SGA pédiatriques expertisées en 2013 étaient sensibles à l'érythromycine, confirmant la décroissance de la résistance à l'érythromycine observée depuis 2007 (Fig. 41).

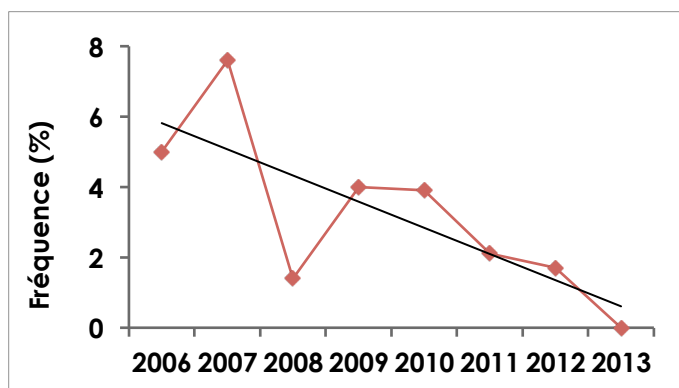


Figure 41. Evolution de la résistance à l'érythromycine des souches pédiatriques de *S. pyogenes* isolées entre 2006 et 2013.

Une résistance à la tétracycline a été observée pour 4 souches invasives pédiatriques de SGA (Tableau 9).

Tableau 9. Profil de résistance des 4 souches pédiatriques résistantes à la tétracycline expertisées en 2013.

	KAN	GEN	ERY	CLI	TET	LVX	BAC	Gène de résistance
<i>emm5</i>	BNR	BNR	S	S	R	S	S	<i>tet(M)</i>
<i>emm68</i>	BNR	BNR	S	S	R	S	S	<i>tet(M)+ tet(L)</i>
<i>emm86</i>	BNR	BNR	S	S	R	S	S	<i>tet(M)</i>
<i>emm95</i>	BNR	BNR	S	S	R	S	S	<i>tet(M)</i>

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

Une diminution de sensibilité aux fluoroquinolones a été observée pour 6 souches pédiatriques appartenant aux génotypes *emm6* (n=2) et *emm75* (n=4) responsables de 5 infections invasives et d'une infection non-invasive.

3.2. B. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* et antibiotiques

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 20 souches (27%). La répartition des gènes de résistance aux macrolides et apparentés est la suivante *erm(A)* 45%, *erm(B)* 35%, *mef(A)* 15% et *erm(T)* 5%.

La résistance à la tétracycline a été observée chez 24 souches (32%) dont 19 d'entre elles possèdent le gène de résistance *tet(M)* et quatre le gène de résistance *tet(O)*. 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 24 souches résistantes à la tétracycline, 9 souches présentent également une résistance associée à l'érythromycine.

4. Alerte (cf. cas groupé de SGA)

- Tous les cas groupés d'infections à SGA sont signalés en temps réel à la cellule des maladies infectieuses de l'InVS.
- Tout phénomène inhabituel est également signalé.
- Le CNR a été particulièrement sollicité par l'InVS, l'ARS, et le C-Clin Paris Nord dans le cadre de l'épidémie de souches de SGA dans un centre medico-chirurgical de la région parisienne. Plusieurs réunions téléphoniques et sur place ont été organisées.
- Le CNR a été sollicité par l'InVS en Juillet 2013, suite à des cas de décès survenus dans la région Rhône Alpes à la suite d'épiglotites aiguës chez des adultes jeunes où des streptocoques étaient potentiellement impliqués.

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

- 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.
- **Sur le 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.
- **Activités d'enseignement :**
 - Cours, séminaires et stages pour le Diplôme d'Enseignement Spécialisé de Biologie d'Ile 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.
- **Activités de conseil aux professionnels :**
 - Le laboratoire est régulièrement appelé 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

6A. Les activités de recherche ont été développées dans l'équipe INSERM de Claire Poyart à l'Institut Cochin. (Evaluation AERES 2013 A+)

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 épithélia et endothélia 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.
- Mutagénèse 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.

En 2013 : Projet ColStreptoB (Financement APHP, Institut Mérieux, I. Pasteur).

Le projet de recherche translationnelle Col-Strepto B, a été mis en place dans le cadre du DHU « Risques et Grossesse » labelisé en 2013, pour lequel C. Poyart est Directeur du Comité Recherche. Il a pour but de déterminer si, en effet, les souches ST17 colonisent mieux le tube digestif que les souches non ST17 chez le nouveau-né. L'essai débuté en octobre 2012 permettra l'inclusion de 900 couples mère-enfant et la constitution d'une banque biologique majeure, incluant des prélèvements sanguins et vaginaux maternels, des prélèvements de sang de cordon et des prélèvements de selles.

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).

6B. Travaux d'évaluation des techniques 2013

- Evaluation des Milieux sélectifs pour la détection des SGB (Communication RICAI, article en préparation)
- Evaluation des TDR pour la détection des SGA (Communication RICAI, article en préparation)

- Consolidation de la base CNR-StreptaldiTof (Communication ECCMID, article en préparation)
- Séquençage par NGS de souches de SGA responsables de cas groupés (Institut Pasteur et Cochin) (article en préparation)

6C. Les publications et communications réalisées ou prévues en lien avec les activités du CNR

(ii) Publications internationales,

- Bergeron JD, Deslauriers J, Grignon S, Fortier LC, Lepage M, Stroh T, **Poyart C**, Sébire G. White matter injury and autistic-like behavior predominantly affecting male rat offspring exposed to group B streptococcal maternal inflammation. **Dev Neurosci.** 2013;**35(6):504-15.**
- Papasergi S, Galbo R, Lanza-Cariccio V, Domina M, Signorino G, Biondo C, Pernice I, **Poyart C**, Trieu-Cuot P, Teti G, Beninati C. Analysis of the Streptococcus agalactiae exoproteome. **J Proteomics.** 2013 Aug **26;89:154-64.**
- **Loubinoux J, Plainvert C, Collobert G, Touak G, Bouvet A, Poyart C**; CNR-Strep Network. Adult invasive and noninvasive infections due to Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis in France from 2006 to 2010. **J Clin Microbiol.** 2013 Aug;**51(8):2724-7.**
- Firon A, **Tazi A**, Da Cunha V, Brinster S, Sauvage E, Dramsi S, Golenbock DT, Glaser P, **Poyart C, Trieu-Cuot P**. The Abi-domain protein Abx1 interacts with the CovS histidine kinase to control virulence gene expression in group B Streptococcus. **PLoS Pathog.** 2013 Feb;**9(2):e1003179.**

(iii) Communications nationales,

- **Celine Plainvert, Gérald Touak, Nicolas Dmytruk, Claire Poyart**
In vitro evaluation and comparison of 3 rapid antigen diagnostic tests for the detection of group A beta-haemolytic Streptococci in pharyngitis. **RICAI 21-22 Nov. 2013.**
- **Céline Plainvert**, Marcia Dinis, **Anne Bouvet**, Ilia Belotserkovsky, Emanuel Hanski, **Claire Poyart**. Prevalence of *sil* locus in group A streptococcus. **RICAI 21-22 Nov. 2013.**
- Nicolas Gendron, **Caroline Joubrel**, Nicolas Czarna, **Nicolas Dmytruk, Gérald Touak, Claire Poyart, Héléne Poupet**. Comparative evaluation of different selective chromogenic media and granada media for screening of Group B streptococcus in pregnant women. **RICAI 21-22 Nov. 2013.**
- **Marcia Dinis, Céline Plainvert, Magalie Longo, Claire Poyart** and **Agnès Fouet**. The innate immune response elicited by Streptococcus pyogenes is highly variable among clinical strains and correlated to the emm type. **RICAI 21-22 Nov. 2013.**

(iv) Communications internationales

- V. Dacunha, M. Davies, P. Douarre, I. Margarit, I. Rosinski-Chupin, T. Perkins, P. Lechat, E. Sauvage, L. Ma, M. Tichit, M.J. Lopez-Sanchez, P. Trieu-Cuot, I. Moszer, C. Bouchier, M. Walker, . The Devani Consortium, M. Holden, **C. Poyart**, P. Glaser.
The intensive use of tetracycline has shaped the structure of human *Streptococcus agalactiae* population. **10th international meeting on microbial epidemiological markers, october 2-5, 2013.**
- Philippe Glaser, Maria-José Lopez-Sanchez, **Ludovic Treluyer, Caroline Joubrel**, Elisabeth Sauvage, and **Claire Poyart**.
CRISPR sequencing is a cost effective method for accurate typing and subtyping Group B streptococcus isolates. **10th International Meeting on Microbial Epidemiological Markers, Oct. 2-5, 2013.**
- **C. Joubrel, C. Plainvert, A. Tazi, N. Dmytruk, G. Touak**, J. Raymond, P. Trieu-Cuot, **C. Poyart**.
Group B streptococcal invasive disease: a five-year survey (2007-2011) by the French national reference center for streptococci. **ECCMID, Berlin, Germany / 27 – 30 April 2013.**
- **Plainvert, P. Bidet, A. Doloy, G. Collobert, G. Touak, E. Bingen, A. Bouvet, C. Poyart**. Group A streptococcal invasive disease: a five-year survey by the French national reference center for streptococci. **ECCMID, Berlin, Germany / 27 – 30 April 2013**
- **S. Spinali, C. Plainvert, G. Collobert, A. Billoet**, G. Pondemme, P. Grohs, L. Gutmann, **C. Poyart**.
A matrix-assisted laser desorption/ionisation-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)-database enabling accurate identification of viridans streptococci. **ECCMID, Berlin, Germany / 27 – 30 April 2013.**
- **C. Plainvert, A. Doloy, N. Maataoui, N. Dmytruk, G. Touak, G. Collobert, J. Loubinoux, P. Trieu-Cuot, A. Bouvet, C. Poyart**.
Streptococcus pyogenes meningitis in adults: report of 41 cases from the French National Center for Streptococci. **Current Diagnostic and therapeutic dilemmas in the clinical management of GAS infections. Roma, Italy 21-23 June, 2013**

(v) Conférences sur invitations.

C. Poyart.

Deciphering the molecular basis of Group B Streptococcus hypervirulence.

Microbial Evolution and Molecular Epidemiology, Lyon Fevrier 2013.

C. Poyart.

Les streptocoques du Groupe A. Centre Hospitalier Forcilles, Ferroles Atilly Nov. 2013.

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 depuis 2006.

Le réseau s'appuie sur les correspondants du CNR-*Strep* les membres du réseau Epibac. 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* fera évoluer sa base de données de profils obtenus par spectrométrie de masse des souches de streptocoques et les modalités de mise à disposition pour les utilisateurs sont en cours d'étude.
- **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. 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 en partenariat avec BioAster le développement commercial d'un test immunoenzymatique de dépistage du clone ST-17.

- iii. Détermination du réservoir du clone hyper-virulent ST-17 chez les nouveau-nés afin de comprendre les processus physiopathologiques des infections néonatales tardives. (Financement obtenu)
- iv. Caractérisation des souches de SGB et SGA isolées d'endocardites et de méningites de l'adulte (mi 2014)
- v. Biodiversité des souches de SGB appartenant au complexe clonal CC---17 (séquençage haut débit) (papier en révision à Nature communication).
- vi. Démarrage du projet PRTS StrepB17 (Financement obtenu DGOS-ANR, 2013).

Ce projet est coordonné par le CNR-Strep et associe, quatre équipes qui mettront leurs expertises en commun pour déterminer si des interactions réciproques entre le microbiote intestinal et le système immunitaire facilitent spécifiquement la colonisation du nouveau-né par le clone hypervirulent ST17. Ce projet exploitera les collections biologiques du projet ColStrepto B par des approches métagénomiques et immunologiques afin de déterminer s'il existe des facteurs prédisposant les nouveau-nés à l'acquisition d'une souche de *S. agalactiae* ST17 et au développement d'une infection.

Quatre tâches seront réalisées :

- ✓ Caractérisation par métagénomique du microbiote intestinal des nouveau-nés colonisés par *S. agalactiae* afin de déterminer si la composition de la flore intestinale influence les capacités de colonisation des différentes souches (INRA);
- ✓ Caractérisation dans des modèles animaux des facteurs immunologiques qui prédisposent à ou protègent contre la colonisation et la dissémination de *S. agalactiae* ST17 (Institut Pasteur Lille);
- ✓ Analyse de la réponse immunitaire induite par les différents ST de *S. agalactiae* chez les mères colonisées et leurs nouveau-nés (APHP);
- ✓ Génomique et transcriptomique comparative des souches de *S. agalactiae* isolées des couples mère-enfant (Institut Pasteur Paris).

Le CNR-Strep sera plus particulièrement en charge de l'analyse de la réponse immunitaire induite par la colonisation à *S. agalactiae*. Des tests ELISA spécifiques des principaux ST de *S. agalactiae* et des tests d'opsonophagocytose basés sur la cytométrie en flux seront développés et permettront de mesurer les concentrations et la fonctionnalité des IgA et IgG dans le sang maternel, le sang de cordon et les prélèvements vaginaux.

Ainsi, nous espérons apporter des éléments qui permettront de mieux comprendre la relation particulière entre le clone hypervirulent ST17 et son hôte spécifique, le nouveau-né. Outre ces aspects fondamentaux, ce projet pourrait aboutir à l'identification de biomarqueurs (flore microbienne intestinale, réponse immunitaire) permettant de dépister les nouveau-nés à risque d'infection et le développement de nouveaux outils diagnostiques et thérapeutiques, en particulier dans le domaine de la vaccinologie.

o **SGA**

- i. Etudes sur les infections puerpérales : Analyse des facteurs de risque (accouchement par voie vaginale ou par césarienne, épisiotomie). (article en cours de rédaction).
- ii. Caractérisation des souches émergentes de SGA de génotype emm89 et ayant un fort potentiel épidémique. (Exploitation des données clinico-biologiques du cas groupé N°1, et corrélation avec des approches génomiques et expérimentales).

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). Le laboratoire possède 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, sont 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.

Important+++ : Ces techniques seront remplacées dans un avenir proche (échéance maximum 5 ans) par le séquençage de génome complet par des techniques de séquençage à haut débit de nouvelle génération (NGS). D'ores et déjà nous avons en collaboration avec la plateforme de génomique de l'Institut Pasteur, séquencé plusieurs génomes de SGB et de SGA. L'accès privilégié à la plateforme de NGS implantée récemment à l'Hôpital Cochin devrait permettre l'implantation rapide de ces technologies pour améliorer l'expertise des souches de

Streptocoques reçues par le CNR-*Strep*. Les techniciens seront formés à ces nouvelles technologies. Dans ce cadre, en collaboration avec le CNR-pneumo et la plateforme de bioinformatique de Paris Descartes, le CNR-*Strep* coordonne une demande de financement auprès de la FRM pour la mise en place d'une plateforme d'analyse de génomes bactériens, avec en premier lieu le financement d'un ingénieur bio-informaticien dévolu au développement des analyses (réponse attendue au financement fin 2014).

- **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. La première visite du Cofrac sur site a lieu le 3-4 juin 2014.

ANNEXES

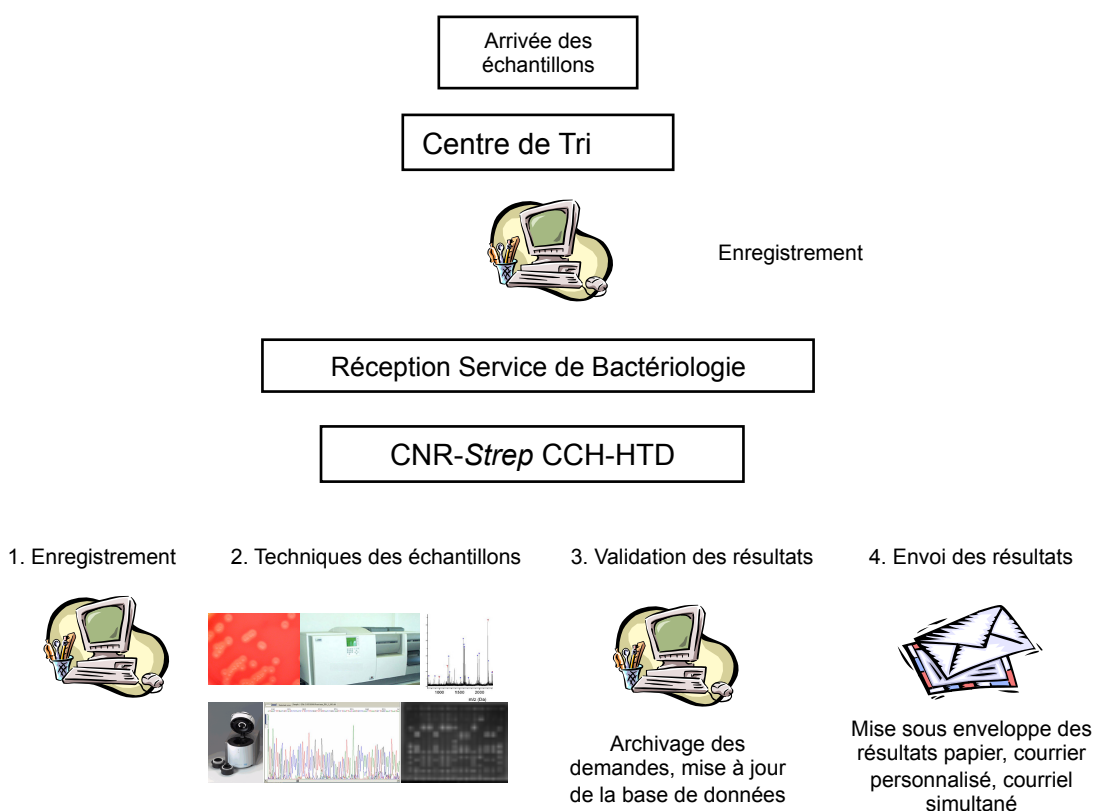
1. Missions et organisation du CNR-Strep

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.



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 Site Cochin.

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.

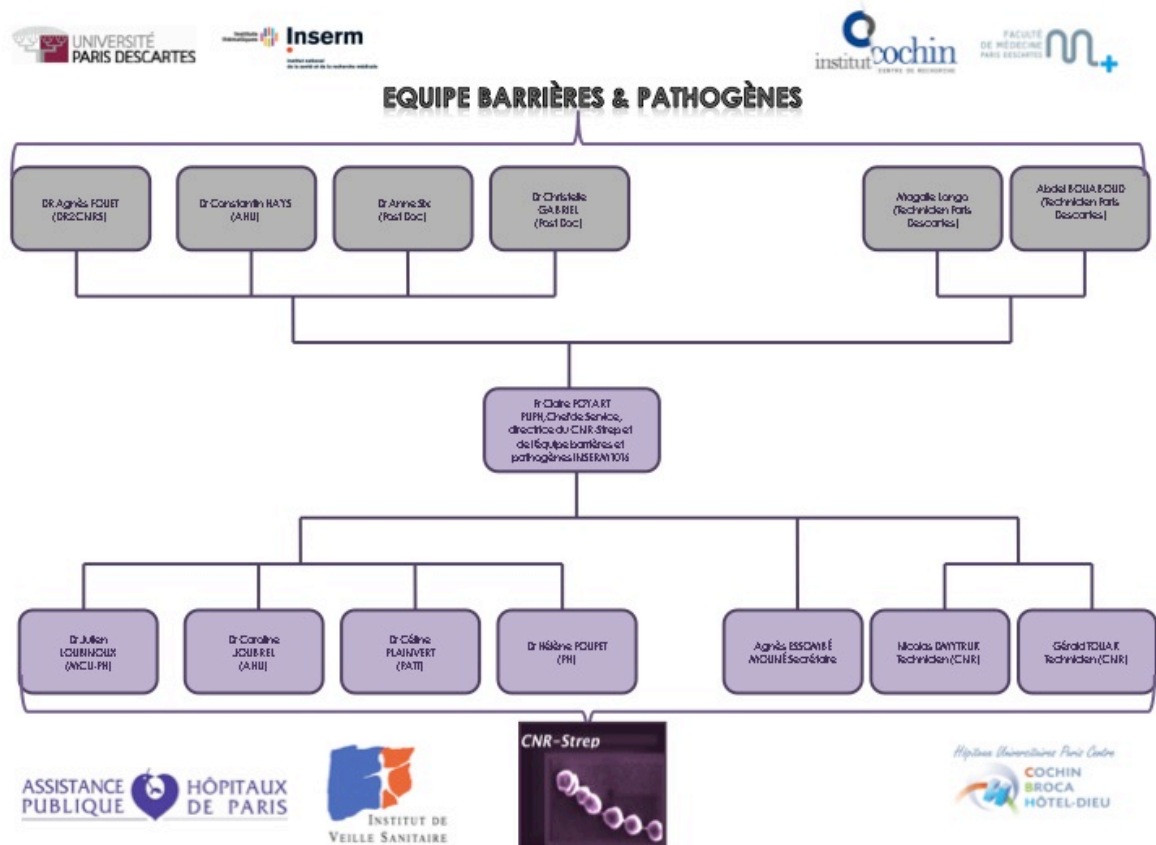
Equipe

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

Courriel : claire.poyart@cch.aphp.fr ; celine.plainvert@inserm.fr ;

julien.loubinoux@htd.aphp.fr ; caroline.joubrel@cch.aphp.fr

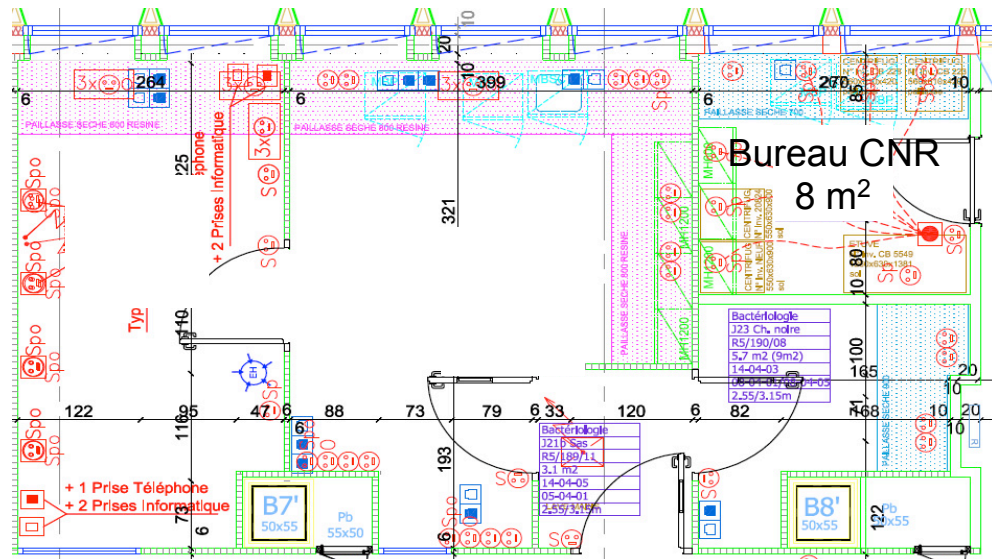


Locaux et Equipements

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.

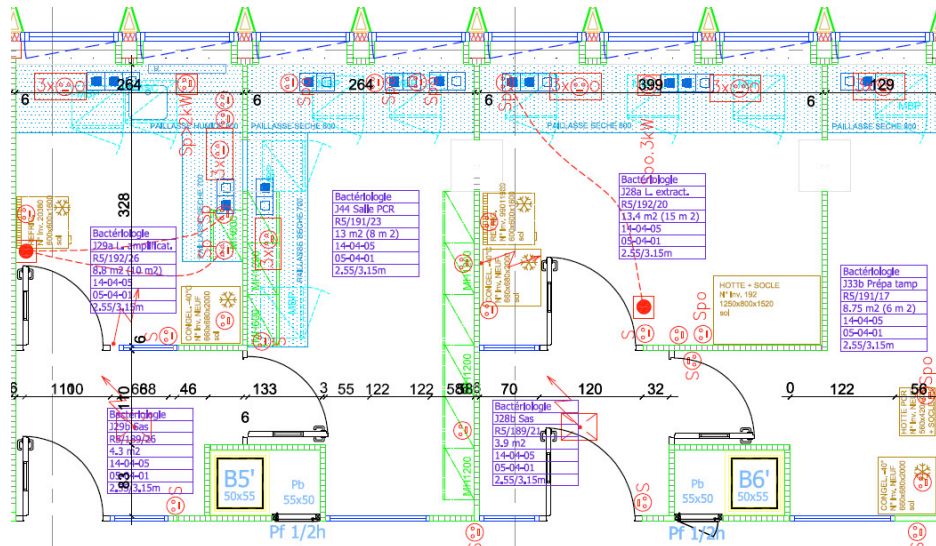
L'équipement mutualisé avec le laboratoire hospitalier et l'équipe INSERM :

Techniques de microbiologie phénotypique

- 1 Spectromètre de Masse Maldi-Tof (depuis Février 2011, Brucker)
- 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.

2.1 Capacités Techniques du CNR-*Strep*

Les techniques réalisées par le CNR-*Strep*

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	+	+	+
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 soucier 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 résolées, vérifiées quant à leur identification, congelées à -80°C en bouillon BHI glycérolé. L'ensemble des congélateurs sont placés 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.